



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GEOQUÍMICA:  
PETRÓLEO E MEIO AMBIENTE

MARIANA CRUZ RIOS

**BIOPROCESSO PARA REMEDIAÇÃO DE SEDIMENTO DE MANGUEZAL  
CONTAMINADO PELO ÓLEO DA BACIA DE CAMPOS**

Salvador  
2017

MARIANA CRUZ RIOS

BIOPROCESSO PARA REMEDIAÇÃO DE SEDIMENTO DE MANGUEZAL  
CONTAMINADO PELO ÓLEO DA BACIA DE CAMPOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente, na Universidade Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Geoquímica do Petróleo e Meio Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Ícaro Thiago Andrade Moreira

Salvador  
2017

**BIOPROCESSO PARA REMEDIAÇÃO DE SEDIMENTO DE  
MANGUEZAL CONTAMINADO PELO PETRÓLEO DA BACIA DE  
CAMPOS BRASIL**

por

**Mariana Cruz Rios**

(Oceanógrafa - Universidade Federal da Bahia – UFBA - 2015, Salvador - BA)

**Orientadora: Profa. Dra. Vera Lucia Cancio Souza Santos**

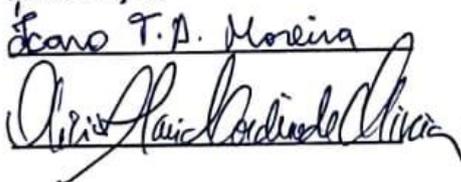
**Orientador: Prof. Dr. Ícaro Thiago Andrade Moreira**

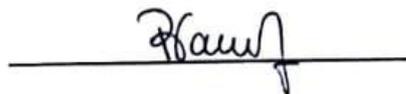
**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Submetida em satisfação parcial dos requisitos do grau de  
MESTRE EM GEOQUÍMICA DO PETRÓLEO E AMBIENTAL**

À Câmara de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Federal da Bahia

APROVAÇÃO





BANCA EXAMINADORA

*Prof. Dr. Ícaro Thiago Andrade Moreira (NEA/IGEO/UFBA)*

*Profa. Dra. Olívia Maria Cordeiro de Oliveira (IGEO- UFBA)*

*Profa. Dra. Rita Maria Weste Nano (IFBA)*

**Data da Defesa Pública: 06/02/2018**

SALVADOR-BAHIA  
FEVEREIRO/2018

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.

Ao meu pai, à minha mãe e à minha irmã por serem minha base mais sólida, minhas maiores inspirações, minha maior torcida. Por serem o motivo pelo qual eu tento todos os dias superar os desafios da vida e os meus medos. Por acreditarem nos meus sonhos e sonhá-los junto comigo.

Ao meu amigo e orientador Ícaro pela paciência, confiança, disponibilidade, respeito, oportunidade, auxílio e ensinamentos.

Aos amigos que seguiram comigo nesse longo e tortuoso caminho da pesquisa: Carlito, Cíntia, Clarinha, Deco, Jel, Lucas e Marcão. Sem o apoio, a compreensão, as risadas, os estudos, as dicas e a ajuda de cada um de vocês eu não conseguiria finalizar mais essa etapa da minha vida. Agradeço em especial a Eve, por ter sido minha dupla de mestrado! Com certeza, se você não tivesse ao meu lado, esse experimento não teria saído do papel.

Aos melhores estudantes de iniciação científica que eu poderia ter sonhado: Juliana, Verônica, Ricardo e Trajano. Obrigada pela ajuda, pela proatividade, pelos momentos de descontração, pela responsabilidade e por terem abraçado e acreditado nesse projeto desde o início.

A toda equipe do NEA/Lepetro: Adriana, Alex, Gisele, Ilene, Jorginho, Juci, Karina, Regina, Ruy e Sarah.

A todos os colegas e amigos da Pospetro: Iasmine, Isana, Lauro, Luis, Rodrigo e Rodolfo.

Aos professores do programa pelos conhecimentos compartilhados ao longo desses dois anos.

A Capes pela bolsa concedida e ao CNPq pelo financiamento do projeto BIOTEC.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Muito obrigada a todos!

Se as coisas são inatingíveis... ora!  
Não é motivo para não querê-las...  
Que triste os caminhos, se não fora  
A presença distante das estrelas!  
Mário Quintana

RIOS, Mariana Cruz. **Bioprocesso para remediação de sedimento de manguezal contaminado pelo óleo da Bacia de Campos**. 75f. il. 2017. Dissertação (Mestrado em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente) – Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2017.

## RESUMO

Grandes quantidades de petróleo são lançadas acidentalmente no ambiente marinho anualmente, colocando em risco todo um ecossistema associado ao ambiente afetado. Se esse óleo alcançar locais mais sensíveis da costa, como é o caso dos manguezais, pode acarretar em grandes perdas ecológicas, econômicas e sociais. Por conta disso, inúmeras pesquisas são necessárias - e vêm sendo realizadas - para que seja possível encontrar métodos de limpeza que sejam eficazes, de baixo custo e que, ao mesmo tempo, não sejam danosos ao meio ambiente. Como uma forma de contribuir para solução deste problema, o presente trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de um bioprocesso de remediação, que consistiu na aplicação sequenciada das técnicas de biorremediação e de fitorremediação. O experimento para o teste do bioprocesso ocorreu em tanques de vidro, que foram monitorados periodicamente a partir de uma avaliação dos parâmetros biogeoquímicos que afetam a remediação. Além disso, foi realizada a quantificação de bactérias presentes no sedimento do sistema, bem como foi avaliada a resposta morfológica da espécie de mangue *Rhizophora mangle* na presença de um sedimento contaminado por petróleo. Cerca de 70% do total de HTPs adicionados ao sedimento do experimento foi removido a partir do bioprocesso e uma média de 81% dos HPAs foram degradados. Esses resultados indicam que o bioprocesso é, de fato, uma tecnologia eficiente na remediação de sedimentos de manguezal contaminados por petróleo. A espécie *Rhizophora mangle* mostrou-se tolerante ao óleo presente no sedimento. Porém a quantificação das bactérias presentes no sedimento não foi conclusiva, mas não podendo excluir a contribuição destes microrganismos na degradação do óleo adicionado ao sedimento. O Núcleo de Estudos Ambientais (NEA) forneceu toda a infraestrutura necessária para o desenvolvimento do experimento.

Palavras-Chave: biorremediação, fitorremediação, petróleo, sedimento e manguezais.

RIOS, Mariana Cruz. **Bioprocesso para remediação de sedimento de manguezal contaminado pelo óleo da Bacia de Campos**. 75f. il. 2017. Dissertação (Mestrado em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente) – Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2017.

## ABSTRACT

Large amounts of oil are accidentally dumped into the marine environment annually, putting an entire ecosystem related to the affected environment in risk. If this oil reaches more sensitive places on the coast, like mangroves, it can lead to great ecological, economic and social losses. Because of this, numerous researches are needed - and have been carried out - so that cleaning methods can be found. This new methods must be effective and low cost and at the same time not harmful to the environment. As a way to contribute to the solution of this problem, the present work aimed the development of a bioprocess remediation, which consists in the sequenced application of bioremediation and phytoremediation techniques. The experiment to test the bioprocess occurred in glass tanks, which was monitored periodically to evaluate of the biogeochemical parameters that affect the remediation. In addition, the quantification of bacteria present in the sediment of the system was carried out, as well as the morphological response of the *Rhizophora mangle* mangrove species in the presence of sediment contaminated by oil. About 70% of the total TPHs added to the sediment was removed through the bioprocess and an average of 81% of the PAHs was degraded. These results indicate that the bioprocess is, in fact, an efficient technology for remediation of oil-contaminated mangrove sediments. *Rhizophora mangle* was tolerant to the oil present in the sediment. However the quantification of the bacteria present in the sediment was not conclusive, but could not exclude the contribution of these microorganisms in the degradation of the oil added to the sediment. The Center for Environmental Studies (NEA) provided the entire infrastructure for the development of the experiment.

Key word: bioremediation, phytoremediation, oil, sediment and mangrove.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>7</b>
1.1	JUSTIFICATIVA .....	8
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>9</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	9
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	9
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>10</b>
<b>4</b>	<b>EFICIÊNCIA DO BIOPROCESSO NA REMEDIAÇÃO DE SEDIMENTO DE MANGUEZAL CONTAMINADO PELO ÓLEO DA BACIA DE CAMPOS</b> .....	<b>13</b>
4.1	INTRODUÇÃO .....	14
4.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
4.2.1	Área de estudo .....	18
4.2.2	Óleo de Campos .....	20
4.2.3	Procedimentos de amostragem em campo.....	21
4.2.4	Montagem do sistema de remediação .....	21
4.2.5	Métodos analíticos .....	27
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.3.1	Caracterização da água do Rio São Paulo .....	28
4.3.2	Parâmetros físico-químicos do sistema de remediação.....	29
4.3.3	Caracterização dos sedimentos do sistema de remediação .....	33
4.3.4	Quantificação de unidades formadoras de colônias (UFCs).....	36
4.3.5	Análise temporal da degradação de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTPs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) presentes no sedimento .....	37
4.3.6	Modificações morfológicas da espécie <i>Rhizophora mangle</i> na presença de sedimento contaminado por óleo .....	59
4.4	CONCLUSÕES .....	63
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO GERAL</b> .....	<b>65</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>66</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O petróleo é a principal fonte de energia mundial, cujos processos referentes ao mesmo geralmente envolvem o ambiente marinho. Por conta disso, há uma maior probabilidade de acidentes ocorrendo no mar, tais como derramamentos de óleo dos navios petroleiros, acidentes em plataformas, explosão de poço durante a exploração e lançamento pontual de óleo por algum oleoduto (ITOPF, 2017). Esses acidentes podem levar a grandes prejuízos ecológicos, sociais e econômicos. Por conta desse cenário, muitas pesquisas têm sido realizadas no intuito de desenvolver técnicas de remediação que sejam ao mesmo tempo eficazes e que não tragam danos secundários ao meio ambiente (CARVALHO, 2003; SUN et al., 2010).

Os processos biológicos, denominados de biorremediação, têm se destacado ao longo dos últimos anos como uma solução efetiva para limpeza de ambientes que foram contaminados pelos produtos do petróleo. Esses métodos são favorecidos por serem de baixo custo e de fácil aplicação em grande escala e consistem basicamente em um processo natural onde os organismos degradam os contaminantes ambientais em formas menos tóxicas. Além disso, se aplicados de maneira correta, os métodos de biorremediação não vão alterar o equilíbrio dos ecossistemas (YEUNG et al., 1997; VIDALI, 2001; AZUBUIKE et al., 2016).

Inserida no contexto da biorremediação, a fitorremediação é uma técnica que tem sido também muito estudada para possível utilização na descontaminação de áreas contaminadas por petróleo. Ela é definida como a aplicação de sistemas vegetais (árvores, arbustos, plantas rasteiras e aquáticas) e de sua microbiota, com fim de remover, degradar, mitigar ou isolar substâncias tóxicas do ambiente (PLETSCH et al., 2004; AZUBUIKE et al., 2016).

Tendo em vista que nenhuma tecnologia de remediação é apropriada para todos os tipos de contaminantes e que cada ambiente impactado possui características específicas, na maioria das vezes, mais do que um método de limpeza deve ser utilizado para tratar eficazmente o local contaminado (TRUU, 2015).

Desta forma, alguns pesquisadores começaram a estudar a possibilidade da aplicação simultânea dos métodos de fitorremediação e biorremediação para a limpeza de ambientes de manguezal contaminados, já que estes métodos têm sido reconhecidos como sendo menos invasivos e têm se mostrado ferramentas eficientes para o tratamento de ambientes contaminados por petróleo (HUANG et al., 2004; GREENBERG, 2006; TAM; WONG, 2008; WANG et al., 2014; CHEN et al., 2016).

Os pesquisadores acreditam que, se essas duas técnicas forem aplicadas de forma sequenciada, será possível potencializar as capacidades degradativas com relação às

diferentes concentrações e composições do petróleo, já que os microrganismos têm mais facilidade em degradar os compostos mais leves do petróleo e as espécies vegetais conseguem degradar as frações mais pesadas e recalcitrantes (HUANG et al., 2004; CHEN et al., 2016; CAI et al., 2016).

## 1.1 JUSTIFICATIVA

Por conta do ecossistema de manguezal ser extremamente sensível a contaminação por petróleo e por ele está distribuído em boa parte do litoral brasileiro, faz-se necessário constantes pesquisas por técnicas de remediação que, ao serem aplicadas, não alterem, de forma significativa, o equilíbrio deste ambiente. Desta forma, esse trabalho é importante, pois promoveu o desenvolvimento de uma tecnologia que consiste na aplicação sequenciada dos métodos de biorremediação e fitorremediação (o qual foi dado o nome de bioprocessos) com o intuito de gerar um produto tecnológico eficiente, economicamente viável e de fácil aplicação em áreas de manguezal impactadas por atividades petrolíferas. O bioprocessos pode ser uma alternativa às técnicas clássicas de remediação, que, na maioria das vezes, não são indicadas para aplicação no manguezal, já que os danos secundários causados por elas podem ser maiores do que a contaminação em si.

## 2 OBJETIVOS

Esse tópico está dividido em objetivo geral e objetivos específicos.

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o sistema de remediação, desenvolvido a partir do uso de biotecnologias (biorremediação e fitorremediação), a fim de recuperar sedimentos de manguezal impactados pelo óleo proveniente da bacia de Campos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Monitorar o crescimento de microrganismos presentes no sedimento de manguezal e na rizosfera da espécie de mangue selecionada;
- ii. realizar um biomonitoramento, avaliando a resposta morfológica da espécie de mangue *Rhizophora mangle* na presença de sedimento de manguezal contaminado por petróleo;
- iii. verificar a eficiência do sistema de remediação proposto na degradação do petróleo presente no sedimento de manguezal coletado na porção nordeste da Baía de Todos os Santos, a partir da determinação de hidrocarbonetos totais de petróleo e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho de campo foi realizado no dia 08 de agosto de 2016. A estação de amostragem escolhida para a coleta de sedimento e água possui coordenadas de 12° 44' 26,0" (S) e 38° 31' 53,9" (W), e localiza-se às margens do rio São Paulo, na porção nordeste da BTS. A principal via de acesso à região, a partir de Salvador, é através da BR 324, próximo à Refinaria Landolfo Alves de Mataripe (RLAM). A amostragem foi realizada neste ponto pelo fato de ele ser considerado uma área livre de contaminação por petróleo (LIMA, 2010; MOREIRA, 2011; SILVA, 2016). A coleta de sedimento foi feita na baixa-mar, na parte do manguezal mais próxima às zonas marginais, em locais geralmente inundáveis. As amostras foram coletadas com auxílio de um testemunhador, que consta de um tubo de aço inoxidável de 10 cm de diâmetro e capacidade para coletar testemunhos de até 30 cm. Estas amostras foram armazenadas em recipientes de alumínio previamente descontaminados e foram acondicionadas em caixas de isopor até a chegada ao Núcleo de Estudos Ambientais (NEA). Noventa recipientes de alumínio foram utilizados na coleta, o que contabilizou, aproximadamente, 90 kg de sedimento coletado para utilização no sistema de remediação proposto.

As amostras de água foram armazenadas em galões, previamente descontaminados, com capacidade de 20 L. Foram coletados 10 galões, totalizando 200 L de água estuarina coletada. As amostras de água também foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo até a montagem do experimento, que aconteceu no dia posterior ao da coleta.

Os parâmetros físico-químicos (pH, Eh, salinidade, oxigênio dissolvido) foram mensurados *in situ* com uma sonda multiparâmetro da marca Horiba, modelo D-54.

O sistema de remediação foi montado no laboratório de experimentos do Núcleo de Estudos Ambientais no dia 09 de agosto de 2016. Ele foi constituído por seis tanques de vidro, dos quais três representam um ambiente livre de contaminação por petróleo (unidades controles) e três representam um ambiente contaminado por petróleo (unidades contaminadas).

Em cada um desses tanques foi simulada a subida e a descida da maré através de um sistema montado com bombas, canos, torneiras e um timer que ligava e desligava as bombas de acordo com a maré programada. Quando a maré atingia o pico da maré baixa, a bomba ligava, fazendo com que a água, que se encontrava armazenada em um galão de 20 L, subisse por um cano, inundando das cubetas, e desta forma, simulando a maré alta. Quando a maré atingia o pico da maré alta, a bomba desligava, e a água começava a descer por outro cano, pela ação da gravidade, voltando a ser armazenada nos galões de 20 L, e desta forma, simulando a maré baixa.

Dentro dos tanques foram colocadas seis cubetas de vidro revestidas com tecido, para que o sedimento depositado em cada uma dessas cubetas fosse percolado pela água quando a maré subisse e descesse. Em todas as cubetas foram adicionados aproximadamente 2,3 kg de sedimento de manguezal. Nas unidades contaminadas, também foi adicionado óleo proveniente da Bacia de Campos, cuja densidade é de  $0,881423 \text{ g.cm}^{-3}$ . A massa de óleo que foi adicionada às cubetas das unidades contaminadas foi de 1% do total da massa de sedimento de cada cubeta. Usando a relação  $v = \frac{m}{d}$  ( $v$ =volume,  $m$ =massa,  $d$ =densidade), foi possível determinar o volume de óleo que deveria ser adicionado, que foi medido em uma proveta.

O sistema de remediação foi dividido em duas etapas. A primeira etapa diz respeito à biorremediação, onde foi feita uma avaliação de como as comunidades de microrganismos presentes no sedimento de manguezal coletado se comportaram na presença de óleo e qual a contribuição dessa atenuação natural nas taxas de degradação do óleo. A primeira etapa teve duração de 90 dias.

A segunda etapa ocorreu uma semana após o fim da primeira etapa e consistiu na adição de mudas de mangue da espécie *Rhizophora mangle*, tanto nas unidades controles quanto nas unidades contaminadas. A segunda etapa também teve duração de 90 dias, o que totalizou 180 dias de experimento para avaliar a eficiência do bioprocessamento na remediação do sedimento de manguezal contaminado por petróleo.

As mudas utilizadas na etapa da fitorremediação foram cedidas pela ONG Vovó do Mangue, localizada na cidade de Maragogipe/BA. Essas mudas vieram para o laboratório com aproximadamente três meses de idade e chegaram um mês antes do início da segunda etapa, para que elas pudessem se aclimatar ao novo ambiente. Segundo as informações da ONG, as mudas foram cultivadas em sedimento de praia e de manguezal e foram regadas com água da torneira a cada dois dias, metodologia que foi repetida com a chegada das mudas ao laboratório, até que elas fossem replantadas nas cubetas do experimento.

Durante todo o experimento foi feito o monitoramento dos parâmetros físico-químicos, utilizando a sonda multiparâmetros da marca Horiba, modelo D-54, para que se pudesse ter um controle dos parâmetros que influenciam o desenvolvimento tanto dos microrganismos quanto das espécies vegetais.

Em intervalos periódicos, foram realizadas coletas de sedimento e de água para que fosse feito o monitoramento biogeoquímico e microbiológico e também fosse realizada a avaliação da resposta morfológica das plantas na presença do óleo, para o caso da segunda etapa. Na primeira etapa, a coleta de sedimento foi feita a partir da homogeneização de todo o sedimento presente em cada tanque de vidro. Na segunda etapa, em cada tempo de

coleta foi retirada uma das cubetas de cada tanque e a coleta de sedimento foi realizada a partir da homogeneização do sedimento desta cubeta.

Os resíduos que foram gerados ao longo do experimento foram separados em recipientes identificados como controle ou contaminado. Os resíduos do controle foram descartados em lixo comum ou na pia. Os resíduos sólidos do contaminado foram encaminhados para incineração na Central de Tratamento de Efluentes Líquidos (CETREL). E a água contaminada foi filtrada com lã de vidro e carvão ativado, para que fossem retidos os possíveis compostos orgânicos, e, por fim, foi descartada na rede de esgoto. Os resíduos gerados nas análises geoquímicas e microbiológicas foram tratados e descartados de acordo com protocolos presentes no laboratório, específicos para cada análise.

## 4 EFICIÊNCIA DO BIOPROCESSO NA REMEDIAÇÃO DE SEDIMENTO DE MANGUEZAL CONTAMINADO PELO ÓLEO DA BACIA DE CAMPOS

### RESUMO

Grandes quantidades de petróleo são lançadas acidentalmente no ambiente marinho anualmente, colocando em risco todo um ecossistema associado ao ambiente afetado. Se esse óleo alcançar locais mais sensíveis da costa, como é o caso dos manguezais, pode acarretar em grandes perdas ecológicas, econômicas e sociais. Por conta disso, inúmeras pesquisas são necessárias - e vêm sendo realizadas - para que seja possível encontrar métodos de limpeza que sejam eficazes, de baixo custo e que, ao mesmo tempo, não sejam danosos ao meio ambiente. Como uma forma de contribuir para solução deste problema, o presente trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de um bioprocessamento de remediação, que consistiu na aplicação sequenciada das técnicas de biorremediação e de fitorremediação. O experimento para o teste do bioprocessamento ocorreu em tanques de vidro, que foram monitorados periodicamente a partir de uma avaliação dos parâmetros biogeoquímicos que afetam a remediação. Além disso, foi realizada a quantificação de bactérias presentes no sedimento do sistema, bem como foi avaliada a resposta morfológica da espécie de mangue *Rhizophora mangle* na presença de um sedimento contaminado por petróleo. Cerca de 70% do total de HTPs adicionados ao sedimento do experimento foi removido a partir do bioprocessamento e uma média de 81% dos HPAs foram degradados. Esses resultados indicam que o bioprocessamento é, de fato, uma tecnologia eficiente na remediação de sedimentos de manguezal contaminados por petróleo. A espécie *Rhizophora mangle* mostrou-se tolerante ao óleo presente no sedimento. Porém a quantificação das bactérias presentes no sedimento não foi conclusiva, mas não podendo excluir a contribuição destes microrganismos na degradação do óleo adicionado ao sedimento. O Núcleo de Estudos Ambientais (NEA) forneceu toda a infraestrutura necessária para o desenvolvimento do experimento.

Palavras-Chave: biorremediação, fitorremediação, petróleo, sedimento e manguezais.

### ABSTRACT

Large amounts of oil are accidentally dumped into the marine environment annually, putting an entire ecosystem related to the affected environment in risk. If this oil reaches more sensitive places on the coast, like mangroves, it can lead to great ecological, economic and social losses. Because of this, numerous researches are needed - and have been carried out - so that cleaning methods can be found. This new methods must be effective and low cost and at the same time not harmful to the environment. As a way to contribute to the solution of this problem, the present work aimed the development of a bioprocess remediation, which consists in the sequenced application of bioremediation and phytoremediation techniques. The experiment to test the bioprocess occurred in glass tanks, which was monitored periodically to evaluate of the biogeochemical parameters that affect the remediation. In addition, the quantification of bacteria present in the sediment of the system was carried out, as well as the morphological response of the *Rhizophora mangle* mangrove species in the presence of sediment contaminated by oil. About 70% of the total TPHs added to the sediment was removed through the bioprocess and an average of 81% of the PAHs was degraded. These results indicate that the bioprocess is, in fact, an efficient technology for remediation of oil-contaminated mangrove sediments. *Rhizophora mangle* was tolerant to the oil present in the sediment. However the quantification of the bacteria present in the sediment was not conclusive, but could not exclude the contribution of these microorganisms

in the degradation of the oil added to the sediment. The Center for Environmental Studies (NEA) provided the entire infrastructure for the development of the experiment.

Key word: bioremediation, phytoremediation, oil, sediment and mangrove.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

Apesar de alguns esforços na utilização de fontes de energias limpas e renováveis, o petróleo ainda é visto como a principal matriz energética mundial. Essa visão traz grandes riscos ao meio ambiente, principalmente o marinho, pois podem ocorrer acidentes com o petróleo desde o processo de extração até o transporte, passando pelo processo de produção e pelo de refino. A etapa do transporte é onde ocorrem os maiores danos, por conta de vazamentos de oleodutos e navios petroleiros (CETESB, 2005; KANJILAL, 2015; ITOPI, 2017).

O petróleo é composto, em sua maior parte, por hidrocarbonetos em quantidades variáveis e a parte restante composta por substâncias mais solúveis e tóxicas (não-hidrocarbonetos), variando a composição de acordo com o tipo de óleo (OVERSTREET; GALT, 1995; MCCARTHY et al., 2011). Ele é dividido em quatro frações: alifáticos, aromáticos, resinas e asfaltenos. A fração dos compostos alifáticos inclui os alcanos, alcenos e cicloalcanos. A fração dos compostos aromáticos compreende os hidrocarbonetos mono aromáticos voláteis e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Já as resinas e os asfaltenos são constituídos por moléculas polares contendo nitrogênio, enxofre e oxigênio (BALBA et al., 1998; DOUGLAS et al., 2002; PRINCE; CLARK, 2004; FAKSNESS; BRANDVIK, 2008; REYES, 2015).

As características químicas do petróleo envolvem sua estrutura e composição. Os compostos orgânicos do petróleo são geralmente substâncias apolares devido a pouca diferença na eletronegatividade do hidrogênio e do carbono. Por conta destas características apolares, a grande parte dos hidrocarbonetos é hidrofóbica, ou seja, não possui afinidade com a água, diminuindo sua capacidade de solubilização neste solvente (SILVA, 2002; SANTOS et al., 2005). Desta forma, esses compostos químicos, quando são lançados no ambiente aquático, tendem a se acumular nos sedimentos (principalmente aqueles com grandes quantidades de matéria orgânica) e nos organismos, aumentando a persistência e o impacto gerados por esses compostos (BENTO, 2005; OUVRARD et al., 2014; REN et al., 2017).

Para a avaliação do grau de contaminação de um determinado ambiente, as análises prioritárias a serem realizadas são as de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTPs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). HTP é a mistura complexa de hidrocarbonetos que constituem o petróleo cru. Devido a predominância de hidrocarbonetos

no petróleo, eles são os compostos utilizados como indicadores deste tipo de poluição. No entanto, deve-se ressaltar que os hidrocarbonetos não existem apenas no petróleo, eles também ocorrem naturalmente como produtos de biossíntese das plantas e animais (COIMBRA, 2006). Inseridos nos HTPs, os HPAs são os compostos constituídos por dois ou mais anéis aromáticos condensados, e que são estudados por conta do seu potencial tóxico, com efeitos carcinogênicos e mutagênicos e por apresentarem persistência no meio (IARC, 2010; SONG et al., 2012; FLORES-SERRANO et al., 2014).

A contaminação por derramamento de óleo é mundialmente reconhecida como uma ameaça a zona costeira por causar grave desequilíbrio químico e biológico. Os ecossistemas costeiros possuem grande riqueza biológica e elevada complexidade trófica, onde eles interagem entre si através de transferência de energia, nutrientes, migração de espécies e através do ciclo reprodutivo de espécies que podem ocorrer em diferentes ecossistemas ao longo da vida. Desta forma, qualquer mudança na dinâmica desses ambientes pode causar grandes perdas na diversidade local.

As regiões da costa mais sensíveis ao óleo – não só biologicamente, mas também socialmente – são os manguezais. Essa característica é por conta destes serem ambientes de baixa energia, o que dificulta a remoção natural do contaminante; por possuírem um substrato saturando por água, limitando a penetração do óleo, fazendo com que haja a cobertura direta, e conseqüentemente, asfixia e/ou intoxicação da vegetação e de organismos bentônicos. Outro aspecto é o fato de possuírem substrato mole e estarem geralmente localizados em regiões de difícil acesso, dificultando a remoção do contaminante (MMA, 2007).

Assim que o óleo é lançado em ecossistemas aquáticos, ele sofre grandes modificações em sua composição por conta de processos naturais físicos, químicos e biológicos, que vão determinar a velocidade de degradação do óleo e a sua persistência no meio (KHELIFA et al., 2002; WANG et al., 2013; MULABAGAL et al., 2013).

Entre essas modificações destaca-se a biodegradação, que é um processo onde se observa a degradação do óleo por bactérias e fungos que estão naturalmente presentes no ambiente marinho. A taxa com que a biodegradação ocorre está diretamente ligada à presença de nutrientes (principalmente nitrogênio e fósforo) a disponibilidade de oxigênio e a temperatura do local (DASHTI et al., 2015). Cada microrganismo tende a degradar um hidrocarboneto específico (CALIXTO, 2011).

Pensando nesta propriedade intrínseca ao ambiente, métodos biológicos de remediação, também denominados de biorremediação, têm se destacado ao longo dos últimos anos como uma solução efetiva para limpeza de ambientes que foram contaminados pelos produtos do petróleo. Esses métodos são favorecidos por serem de custos baixos e

de fácil aplicação em grande escala. Além disso, se aplicados de maneira correta, os métodos de biorremediação não vão alterar o equilíbrio dos ecossistemas (YEUNG et al., 1997; CALIXTO, 2011; DASHTI et al., 2016).

A biorremediação consiste basicamente em um processo natural onde os organismos (bactérias, fungos, plantas) degradam os contaminantes ambientais em formas menos tóxicas (VIDALI, 2001). O sucesso da biorremediação em derramamentos de petróleo depende da capacidade de estabelecer e manter as condições que beneficiam a maior biodegradação do óleo no ambiente contaminado, através do monitoramento geoquímico (VENOSA; ZHU, 2006).

Esta técnica parte da premissa de que grande quantidade dos componentes do petróleo é biodegradável na natureza, onde os organismos utilizam os hidrocarbonetos como principal fonte de carbono em seus processos metabólicos, podendo ocorrer em condições anaeróbicas e aeróbicas (ATLAS, 1981; ROSA, 2001; MARIANO, 2006; DASHTI et al., 2015).

Inserida no contexto da biorremediação, a fitorremediação consiste na utilização de sistemas vegetais e sua microbiota associada para remoção de contaminantes presentes em algum ambiente (PLETSCH et al., 2004). Entre as vantagens do emprego da fitorremediação estão as grandes áreas que podem ser recuperadas, o baixo custo, possibilidades de remediar, simultaneamente, águas contaminadas, solo, subsolo, ar e, além disso, a fitorremediação pode embelezar o ambiente. Porém, o tempo para se obter resultados satisfatórios pode ser longo, o que configura uma limitação da técnica, que deve ser levada em conta na hora de escolher o método ideal de limpeza. Outro fator limitante é que a concentração do contaminante e a presença de toxinas devem estar dentro dos limites de tolerância da planta usada para não comprometer o tratamento (MOREIRA, 2011).

Alguns estudos conseguiram traçar uma relação entre a eficiência da degradação de um contaminante por microrganismos e a presença de plantas. Observou-se que a quantidade de microrganismos presentes na rizosfera de uma planta era uma ordem de grandeza mais elevada do que os microrganismos presentes em sedimentos que não estavam associados a uma espécie vegetal. Além disso, observou-se que a rizosfera continha uma comunidade microbiana mais diversificada, ativa e sinérgica do que outras comunidades de microrganismos sem associação com vegetais e que, por conta disso, as taxas de degradação microbiana de compostos orgânicos na zona de raiz eram maiores quando comparadas com as dos outros microrganismos (HUANG et al., 2004; CHAUDHRY et al., 2005; OUVRARD et. al., 2014; REN, et. al., 2017).

Os resultados destes estudos sugeriram que a associação da vegetação com microrganismos poderia ser uma técnica de limpeza em potencial, que facilitaria a remediação biológica de depósitos de resíduos, aumentando a degradação microbiana.

A partir dessas ideias iniciais, as pesquisas começaram a se aprofundar para entender como acontecia a interação entre as plantas e os microrganismos, que fazia com que a degradação de um contaminante fosse mais rápida. Foi visto que a rizorremediação (também conhecida como rizodegradação, fitorremediação assistida por microrganismo ou biorremediação da rizosfera) utiliza as interações complexas que envolvem as raízes, os exsudatos radiculares, o sedimento da rizosfera e os microrganismos. Essas interações resultam na degradação de contaminantes em compostos não tóxicos ou menos tóxicos para o ambiente. As raízes das plantas estimulam as comunidades microbianas da rizosfera pela aeração do sedimento e pela liberação de exoenzimas, bem como nutrientes através exsudato de raiz. Ao mesmo tempo, as raízes das plantas proporcionam uma superfície para a colonização dos microrganismos e nichos para protegê-las contra dessecação e outros estresses bióticos e abióticos (KUIPER et al., 2004; GEHARDT et al. 2009; TRUU et al, 2015).

Os microrganismos da rizosfera, por sua vez, promovem o crescimento das plantas, a fixação do nitrogênio, a mobilização de nutriente, a produção de reguladores de crescimento, diminuindo os níveis de hormônio do estresse na planta, fornecendo uma maior proteção contra patógenos e, por fim, promovem a degradação de poluentes antes que eles afetem negativamente a espécie (CHAUDHRY et al, 2005; SEGURA et al, 2009; GERHARDT et al. 2009).

A convergência das técnicas de fitorremediação e de biorremediação tem possibilitado uma abordagem mais bem-sucedida para a remediação de contaminantes, especialmente compostos orgânicos. Esse bioprocessos, como alguns pesquisadores têm chamado atualmente, vem sendo estudado em laboratório, em estufas e em campo (KUIPER et al, 2004; HUANG et al., 2004; CHAUDHRY et al., 2005; GREENBERG, 2006; REN, et al., 2017).

Apesar de o bioprocessos ser considerado uma técnica de baixo custo, sustentável e favorável ao meio ambiente, ele, assim como toda técnica de remediação, possui limitações. O sucesso de sua aplicação *in situ* está significativamente ligado aos fatores ambientais e as características particulares de cada ecossistema. O teor de matéria orgânica, a quantidade de nutrientes, a quantidade de água e a temperatura são exemplos de limitantes a aplicação do bioprocessos (OLIVEIRA et al., 2014).

Outra grande limitação é o tempo, considerando que uma fitorremediação bem sucedida é um processo determinado pelo crescimento e pelo ciclo fenológico da planta (OLIVEIRA et al., 2014).

Apesar das limitações, o bioprocesso tem vantagens inegáveis, e, por conta disso, um número maior de pesquisas deve começar a abordar os aspectos que podem permitir o aumento da escala de laboratório para o campo para a aplicação dessa técnica.

Outra consideração importante é que existem poucos estudos relacionando o bioprocesso e a sua aplicação na remediação de ambientes de manguezais contaminados por petróleo. A pouca quantidade de estudos realizados nesse ambiente é compreensível pelo fato de o manguezal ser um ambiente bastante dinâmico, com muitas variáveis ambientais que podem dificultar o trabalho. Porém, este é um ambiente extremamente sensível e possui uma grande importância ecológica, econômica e social e, por conta disso, se faz necessário constantes pesquisas que visem a preservação desses ambientes e, quando ele já estiverem impactados, estudos que desenvolvam técnicas para mitigar ou remediar a contaminação desses ecossistemas.

## 4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia empregada durante as etapas de campo e de laboratório está descrita a seguir.

### 4.2.1 Área de estudo

A Baía de Todos os Santos (BTS) é uma reentrância costeira, localizada entre as coordenadas 12°39'40"S – 13°S de latitude e 38°30' W – 38°43'30"W de longitude. Possui uma área de 1.233 km<sup>2</sup>, fazendo com que ela seja a segunda maior baía do Brasil (HATJE; ANDRADE, 2009). Historicamente, a BTS possui destaque por ter sido o local para as primeiras atividades petrolíferas no Brasil, que tiveram início no ano de 1939, quando o petróleo foi descoberto no subúrbio ferroviário do Lobato, em Salvador (BAHIA, 2004).

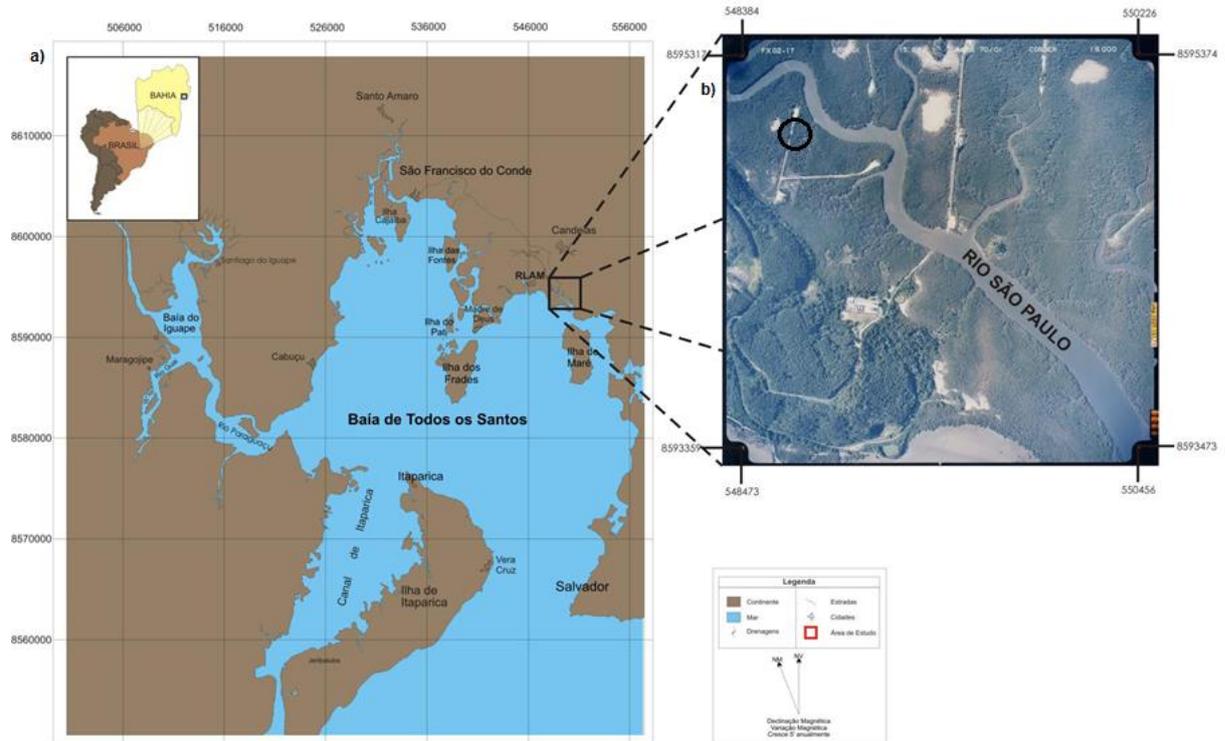
A baía abriga diversos tipos de ecossistemas, porém é rodeada por inúmeras atividades industriais, principalmente nos ramos petrolíferos e petroquímicos, desenvolvidas, majoritariamente, pelo Centro Industrial de Aratu (CIA), pela Refinaria Landulpho Alves de Mataripe (RLAM) e pelo Estaleiro do Paraguaçu. Apesar de contribuírem para o desenvolvimento econômico da região, essas atividades colaboram para a degradação do meio ambiente adjacente (QUEIROZ; CELINO, 2008; HATJE; ANDRADE, 2009; MILAZZO, 2011).

Na porção interna superior da BTS, entre os municípios de São Francisco do Conde e Candeias e ao lado da RLAM, encontra-se o estuário do Rio São Paulo. A nascente deste rio localiza-se no município de Candeias e ele deságua ao lado do distrito de Passé. O Rio São Paulo possui uma extensão total de 17 km, uma bacia de drenagem de 37 km<sup>2</sup> e uma vazão média de 0,3 m<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>. Boa parte do seu curso médio apresenta florestas de manguezais. A região apresenta clima úmido, temperatura média anual de 25°C, e possui precipitação média anual entre 1.750 e 1.800 mm (BAHIA, 2004; HATJE; ANDRADE, 2009).

A BTS é conhecida por possuir uma grande quantidade de manguezais. Os manguezais são ecossistemas muito ricos em termos de biodiversidade, porém são extremamente sensíveis a qualquer fator exógeno. Na bacia do Rio São Paulo existe uma grande quantidade de poços de petróleo, com registro histórico de incidentes do tipo *blow-out* (explosão de poços), ocasionando a contaminação por óleo cru (petróleo) aos ecossistemas, onde o manguezal ocupa um papel de destaque (BAHIA, 2002; JESUS, 2011). Por ser uma região protegida da ação das ondas e por possuir uma predominância de sedimentos de granulometria da fração argila, o estuário do Rio São Paulo sofre por conta do acúmulo de poluentes orgânicos (QUEIROZ; CELINO, 2008). Por tanto, a região da BTS, especialmente o estuário do Rio São Paulo, torna-se um local prioritário para o desenvolvimento de pesquisas e estudos acerca de medidas mitigadoras em um cenário de contaminação por óleo.

Apesar de ser comprovadamente uma região contaminada por compostos orgânicos, é possível encontrar pontos cuja concentração de tais poluentes no sedimento e na água esteja abaixo dos níveis aceitáveis pelos órgãos reguladores, como mostram os trabalhos de Lima (2010), Moreira (2011) e Silva (2016). A estação amostral escolhida para o desenvolvimento do trabalho encontra-se justamente nesse ponto livre de contaminação por poluentes orgânicos, e as amostras de sedimento e água coletadas nesses lugares compuseram o sistema de remediação que é o objetivo do presente trabalho. A localização da estação de amostragem está indicada na figura 1.

**Figura 1** – Mapa da localização da área de estudo



Fonte: Modificado da folha da Baía de Todos os Santos: SD-24-X-A-IV (BAHIA, 2004).

#### 4.2.2 Óleo de Campos

Localizada no litoral norte do Rio de Janeiro e ao sul do Espírito Santo, a Bacia de Campos é considerada a mais promissora bacia do Brasil, com cerca de 1.600 poços perfurados. Antes da descoberta do pré-sal, ela representava aproximadamente 90% das reservas de combustíveis fósseis do país (WINTER et al., 2007).

A principal rocha geradora dessa bacia são folhelhos dos andares locais Buracica e Jiquiá (Barremiano/Aptiano), sendo que estes folhelhos foram depositados durante a fase rift. De acordo com análises geoquímicas, essas rochas foram formadas em um ambiente lacustre, apresentando Querogênio tipo I, com teor de carbono orgânico total (COT) variando entre 2 e 6% (WINTER et al., 2007; BRASIL, 2015).

Por ser a bacia mais importante do Brasil, o óleo proveniente de Campos é amplamente utilizado, sendo transportado em navios tanques por toda costa brasileira, pelas rotas de petróleo. Por conta disso, esse óleo pode ser facilmente encontrado e identificado (através dos biomarcadores de petróleo) em outras regiões que não a de sua origem. Desta forma, esse óleo pode estar contaminando ecossistemas costeiros, como é o caso dos manguezais, presentes no entorno da BTS.

### 4.2.3 Procedimentos de amostragem em campo

O trabalho de campo foi realizado no dia 08 de agosto de 2016. A estação de amostragem escolhida para a coleta de sedimento e água possui coordenadas de 12° 44' 26,0" (S) e 38° 31' 53,9" (W), e localiza-se às margens do rio São Paulo, na porção nordeste da BTS. A principal via de acesso à região, a partir de Salvador, é através da BR 324, próximo à Refinaria Landolfo Alves de Mataripe (RLAM). A amostragem foi realizada neste ponto pelo fato de ele ser considerado uma área livre de contaminação por petróleo (LIMA, 2010; MOREIRA, 2011; SILVA, 2016). A coleta de sedimento foi feita na baixa-mar, na parte do manguezal mais próxima às zonas marginais, em locais geralmente inundáveis. As amostras foram coletadas com auxílio de um testemunhador, que consta de um tubo de aço inoxidável de 10 cm de diâmetro e capacidade para coletar testemunhos de até 30 cm. Estas amostras foram armazenadas em recipientes de alumínio previamente descontaminados e foram acondicionadas em caixas de isopor até a chegada ao Núcleo de Estudos Ambientais (NEA). Noventa recipientes de alumínio foram utilizados na coleta, o que contabilizou, aproximadamente, 90 kg de sedimento coletado para utilização no sistema de remediação proposto.

As amostras de água foram armazenadas em galões, previamente descontaminados, com capacidade de 20 L. Foram coletados 10 galões, totalizando 200 L de água estuarina coletada. As amostras de água também foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo até a montagem do experimento, que aconteceu no dia posterior ao da coleta.

Os parâmetros físico-químicos (pH, Eh, salinidade, oxigênio dissolvido) foram mensurados *in situ* com uma sonda multiparâmetro da marca Horiba, modelo D-54.

### 4.2.4 Montagem do sistema de remediação

O sistema de remediação foi montado no laboratório de experimentos do Núcleo de Estudos Ambientais no dia 09 de agosto de 2016. Ele foi constituído por seis tanques de vidro, dos quais três representam um ambiente livre de contaminação por petróleo (unidades controles) e três representam um ambiente contaminado por petróleo (unidades contaminadas) (Figura 2).

**Figura 2** – Tanques e cubetas que compõem o sistema de remediação

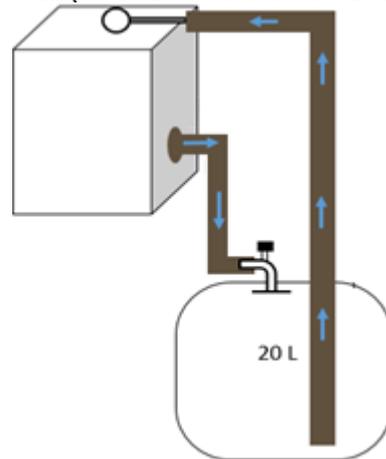


Fonte: autor, 2017.

Em cada um desses tanques foi simulada a subida e a descida da maré através de um sistema montado com bombas, canos, torneiras e um timer que ligava e desligava as bombas de acordo com a maré programada (Figura 3). Quando a maré atingia o pico da maré baixa, a bomba ligava, fazendo com que a água, que se encontrava armazenada em um galão de 20 L, subisse por um cano, inundando das cubetas, e desta forma, simulando a maré alta. Quando a maré atingia o pico da maré alta, a bomba desligava, e a água começava a descer por outro cano, pela ação da gravidade, voltando a ser armazenada nos galões de 20 L, e desta forma, simulando a maré baixa (Figura 4 A e B).

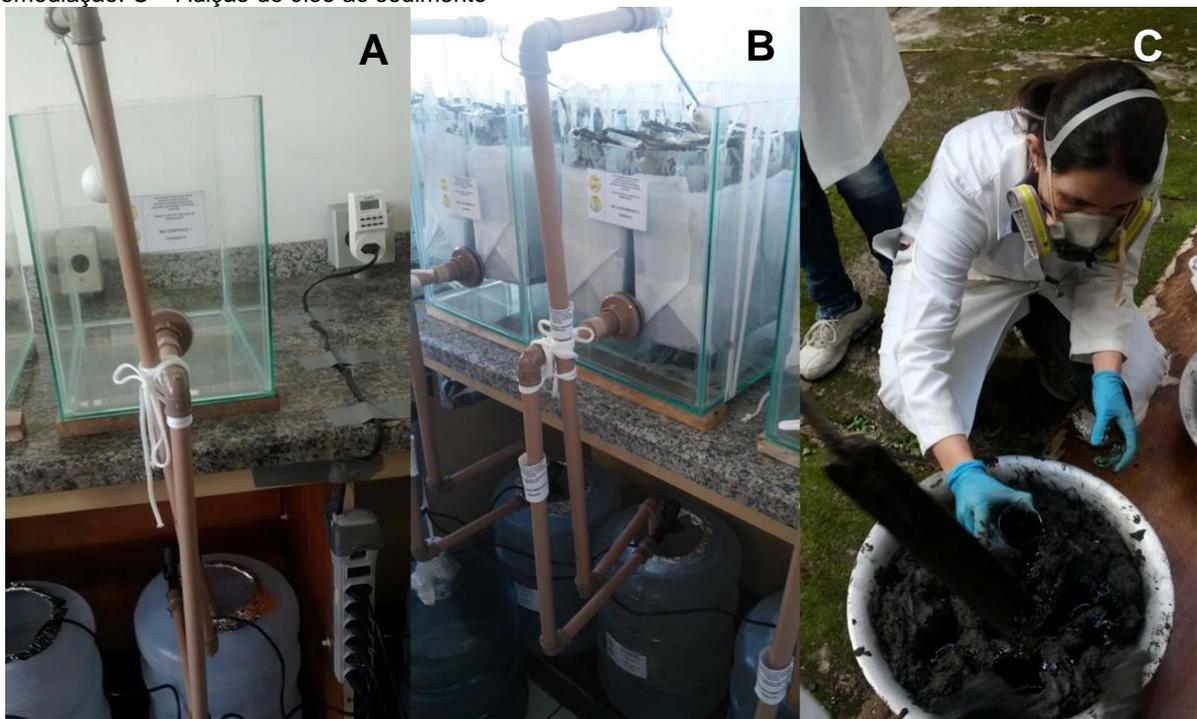
Dentro dos tanques foram colocadas seis cubetas de vidro revestidas com tecido, para que o sedimento depositado em cada uma dessas cubetas fosse percolado pela água quando a maré subisse e descesse (Figura 2). Em todas as cubetas foram adicionados aproximadamente 2,3 kg de sedimento de manguezal. Nas unidades contaminadas, também foi adicionado óleo proveniente da Bacia de Campos, cuja densidade é de  $0,881423 \text{ g.cm}^{-3}$ . A massa de óleo que foi adicionada às cubetas das unidades contaminadas foi de 1% do total da massa de sedimento de cada cubeta. Usando a relação  $v = \frac{m}{d}$  ( $v$ =volume,  $m$ =massa,  $d$ =densidade), foi possível determinar o volume de óleo que deveria ser adicionado, que foi medido em uma proveta (Figura 4 C).

**Figura 3** – Esquema do sistema de remediação utilizado no desenvolvimento da pesquisa



Fonte: Adaptado de Santos (2016).

**Figura 4** – A – Timer que controla a subida e descida da maré, auxiliado pelos canos e bombas. B – Sistema de remediação. C – Adição de óleo ao sedimento



Fonte: autor, 2017.

O sistema de remediação foi dividido em duas etapas. A primeira etapa diz respeito à biorremediação, onde foi feita uma avaliação de como as comunidades de microrganismos presentes no sedimento de manguezal coletado se comportaram na presença de óleo e qual a contribuição dessa atenuação natural nas taxas de degradação do óleo. A primeira etapa teve duração de 90 dias (Figura 5).

A segunda etapa ocorreu uma semana após o fim da primeira etapa e consistiu na adição de mudas de mangue da espécie *Rhizophora mangle*, tanto nas unidades controles

quanto nas unidades contaminadas. A segunda etapa também teve duração de 90 dias, o que totalizou 180 dias de experimento para avaliar a eficiência do bioprocesso na remediação do sedimento de manguezal contaminado por petróleo (Figura 5).

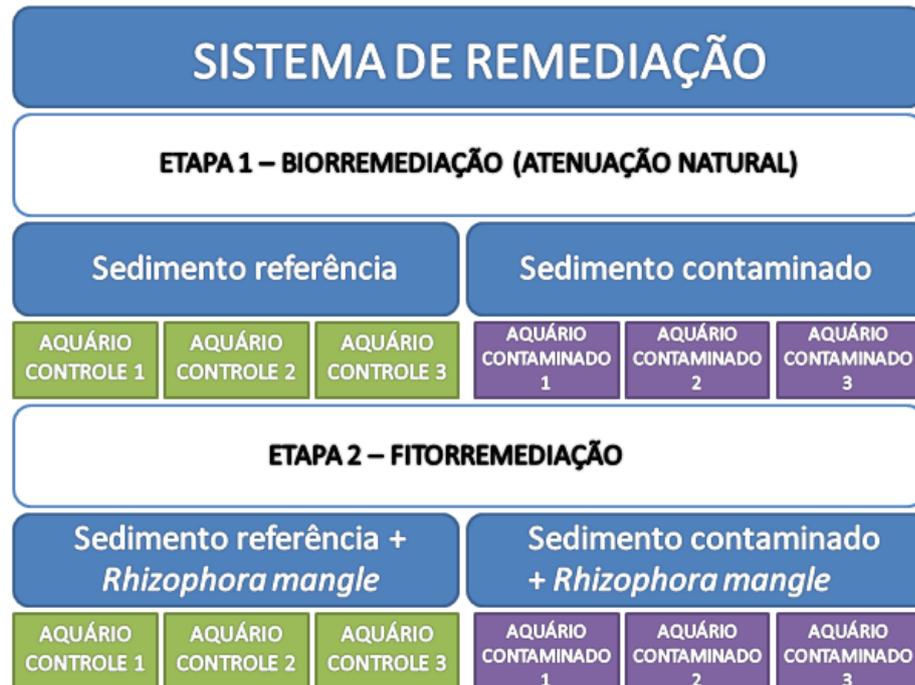
As mudas utilizadas na etapa da fitorremediação foram cedidas pela ONG Vovó do Mangue, localizada na cidade de Maragogipe/BA. Essas mudas vieram para o laboratório com aproximadamente três meses de idade e chegaram um mês antes do início da segunda etapa, para que elas pudessem se aclimatar ao novo ambiente. Segundo as informações da ONG, as mudas foram cultivadas em sedimento de praia e de manguezal e foram regadas com água da torneira a cada dois dias, metodologia que foi repetida com a chegada das mudas ao laboratório, até que elas fossem replantadas nas cubetas do experimento.

Durante todo o experimento foi feito o monitoramento dos parâmetros físico-químicos, utilizando a sonda multiparâmetros da marca Horiba, modelo D-54, para que se pudesse ter um controle dos parâmetros que influenciam o desenvolvimento tanto dos microrganismos quanto das espécies vegetais.

Em intervalos periódicos, mostrados na tabela 1, foram realizadas coletas de sedimento e de água para que fosse feito o monitoramento biogeoquímico e microbiológico e também fosse realizada a avaliação da resposta morfológica das plantas na presença do óleo, para o caso da segunda etapa. Na primeira etapa, a coleta de sedimento foi feita a partir da homogeneização de todo o sedimento presente em cada tanque de vidro (Figura 6 A). Na segunda etapa, em cada tempo de coleta foi retirada uma das cubetas de cada tanque e a coleta de sedimento foi realizada a partir da homogeneização do sedimento desta cubeta (Figura 6 B).

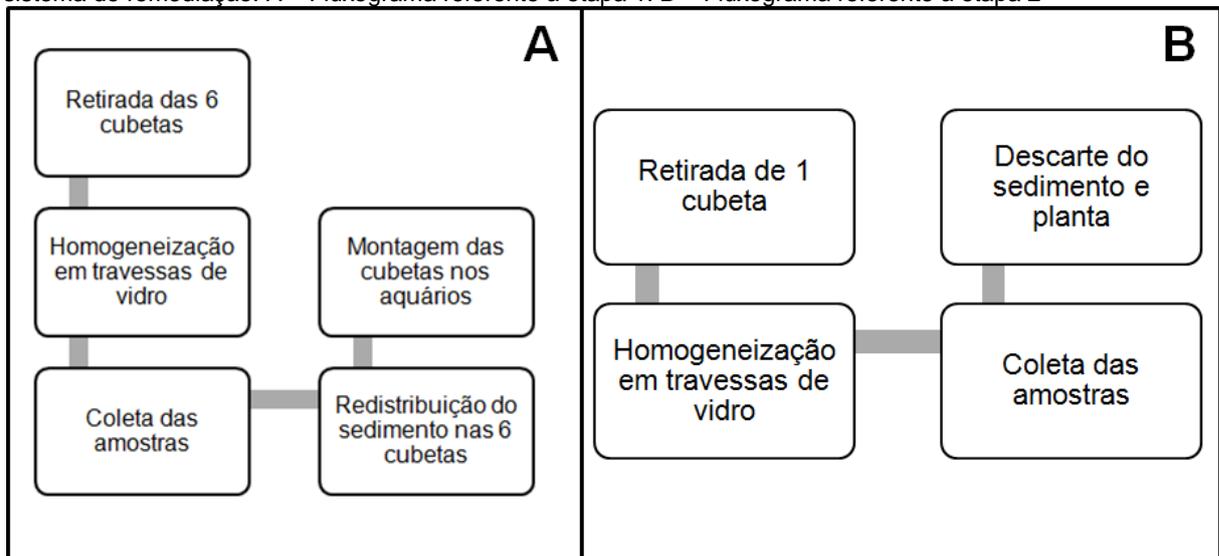
Os resíduos que foram gerados ao longo do experimento foram separados em recipientes identificados como controle ou contaminado. Os resíduos do controle foram descartados em lixo comum ou na pia. Os resíduos sólidos do contaminado foram encaminhados para incineração na Central de Tratamento de Efluentes Líquidos (CETREL). E a água contaminada foi filtrada com lã de vidro e carvão ativado, para que fossem retidos os possíveis compostos orgânicos, e, por fim, foi descartada na rede de esgoto. Os resíduos gerados nas análises geoquímicas e microbiológicas foram tratados e descartados de acordo com protocolos presentes no laboratório, específicos para cada análise.

**Figura 5** – Delineamento do sistema de remediação proposto para a recuperação de sedimento de manguezal contaminado por petróleo



Fonte: autor, 2017.

**Figura 6** – Fluxogramas para coleta de amostras de sedimento em cada um dos seis tanques que compõem o sistema de remediação. A – Fluxograma referente à etapa 1. B – Fluxograma referente à etapa 2



Fonte: autor, 2017.

**Tabela 1** – Datas em que foram realizadas as coletas nas unidades do sistema de remediação e análises que foram feitas em cada matriz coletada

<b>DATAS PARA COLETA NOS ÁQUARIOS</b>	<b>TEMPO</b>	<b>ANÁLISES</b>
<b>09/08/2016</b>	Tempo 0 (T0) → 0 DIAS	<b>SEDIMENTO:</b> Granulometria, HTP, HPA, COT, Nitrogênio Total, Fósforo Assimilável, UFC.
<b>29/08/2016</b>	Tempo 1 (T1) → 20 DIAS	<b>SEDIMENTO:</b> HTP, HPA, COT, Nitrogênio Total, Fósforo Assimilável, UFC.
<b>20/09/2016</b>	Tempo 2 (T2) → 40 DIAS	<b>SEDIMENTO:</b> HTP, HPA, COT, Nitrogênio Total, Fósforo Assimilável, UFC.
<b>10/10/2016</b>	Tempo 3 (T3) → 60 DIAS	<b>SEDIMENTO:</b> HTP, HPA, COT, Nitrogênio Total, Fósforo Assimilável, UFC.
<b>16/11/2016</b>	Tempo 4 (T4) → 90 DIAS	<b>SEDIMENTO:</b> HTP, HPA, COT, Nitrogênio Total, Fósforo Assimilável, UFC e Enzimas.
		<b>PLANTA:</b> Biomonitoramento morfológico.
<b>05/12/2016</b>	Tempo 5 (T5) → 110 DIAS	<b>SEDIMENTO:</b> HTP, HPA, COT, Nitrogênio Total, Fósforo Assimilável, UFC.
		<b>PLANTA:</b> Biomonitoramento morfológico.
<b>20/12/2016</b>	Tempo 6 (T6) → 130 DIAS	<b>SEDIMENTO:</b> HTP, HPA, COT, Nitrogênio Total, Fósforo Assimilável, UFC.
		<b>PLANTA:</b> Biomonitoramento morfológico.
<b>09/01/2017</b>	Tempo 7 (T7) → 150 DIAS	<b>SEDIMENTO:</b> HTP, HPA, COT, Nitrogênio Total, Fósforo Assimilável, UFC.
		<b>PLANTA:</b> Biomonitoramento morfológico.
<b>13/02/2017</b>	Tempo 8 (T8) → 180 DIAS	<b>SEDIMENTO:</b> HTP, HPA, COT, Nitrogênio Total, Fósforo Assimilável, UFC.
		<b>PLANTA:</b> Biomonitoramento morfológico.

## 4.2.5 Métodos analíticos

### 4.2.5.1 Análise Granulométrica

Foi realizada em analisador de partículas com difração a Laser Modelo Cilas 1064. As amostras foram colocadas em uma mufla a 450°C para degradar a matéria orgânica. Depois foi adicionado o dispersante hexametáfosfato de sódio, e as amostras ficaram sob agitação durante 24 horas para evitar floculação. A análise granulométrica fornece dados de porcentagem das frações granulométrica, que foram tratados através do programa de análises granulométricas GRADISTAT V 5.0® (BLOTT; PYE, 2001).

### 4.2.5.2 Determinação de fósforo em sedimento

A determinação do fósforo em sedimento e em água foi feita a partir do método descrito por Olsen et al. (1982). O método consiste na formação do ácido molibdofosfórico, que depois é reduzido com ácido ascórbico, resultando no complexo de fosfomolibdênio de cor azul. O fósforo é então determinado por espectrofotometria.

### 4.2.5.3 Determinação de nitrogênio e carbono orgânico total em sedimento

Os teores de nitrogênio total e carbono orgânico total (COT) presentes no sedimento foram medidos através do analisador de partículas LECO, pelo método ASTM D5373. As amostras de sedimento foram liofilizadas, desagregadas e peneiradas a 2,0 mm, para retirada de pedaços de raízes, folhas e carapaças de animais. Depois deste primeiro tratamento, as amostras foram maceradas e peneiradas a 80 mesh. Posteriormente, as amostras passaram por um processo de descarbonatação, no qual foi retirado todo o carbono inorgânico presente na amostra, a fim de que o resultado para a determinação do COT não fosse mascarado. Por fim as amostras foram injetadas e lidas no LECO.

### 4.2.5.4 Determinação de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) em água e em sedimento

A determinação de HTP e HPA em sedimento foi realizada pelo método 3546 de extração por micro-ondas da USEPA, com modificações (USEPA, 2007). Para tal, pesou-se cerca de 2,5 g das amostras de sedimento em seguida adicionou-se 25 mL da mistura de *n*-hexano e acetona (1:1, V:V). Em seguida, as amostras foram extraídas usando um micro-ondas (Anton Paar, 16SOLV MF100). Após a extração, as amostras foram filtradas em sulfato de sódio anidro (pré-calcinado a 400°C por 4 h). Os extratos foram concentrados em

um rotavaporador, modelo R-215, marca Büchi. Por fim, o extrato foi injetado em um cromatógrafo a gás VARIAN, modelo CP3800, equipado com coluna capilar DB-5 e detector de ionização em chama (GC-FID), para determinação de HTP e, para a determinação dos HPAs, o extrato foi injetado em um cromatógrafo a gás VARIAN acoplado a um espectômetro de massa (GC-MS). O Hélio foi usado como gás de arraste.

#### 4.2.5.5 Unidades formadoras de colônias (UFCs)

As unidades formadoras de colônias foram contadas a partir da técnica da microgota (Romeiro, 2001). Primeiramente, um meio de cultura foi preparado com Agar nutriente e vertido em placas de petri, que foram colocadas em uma câmara de germinação para que se tivesse certeza de que o meio estava estéril. Depois, uma alíquota das amostras de sedimento foi misturada a uma solução contendo água salina e *Tween*. Essas amostras, então, passaram por uma diluição seriada, totalizando 8 diluições. Para cada amostra foram usadas duas placas de petri que foram divididas em quatro quadrantes, sendo um quadrante para cada diluição. Em cada quadrante foram colocadas 4 gotas de uma mesma diluição. Por fim, essas placas voltaram para a câmara de germinação, e a contagem das UFCs foi feita com 24 horas.

#### 4.2.5.6 Biomonitoramento morfológico da espécie de mangue

O biomonitoramento morfológico foi realizado para avaliar a resposta da espécie na presença do sedimento contaminado. Para tal, em cada tempo de coleta, uma muda era retirada de cada uma das seis unidades de simulação. Essas mudas foram divididas em folha, caule e raiz, onde cada fragmento foi liofilizado até atingir peso constante, para obtenção da biomassa seca de cada tempo. Além disso, foram mensuradas a altura das mudas, a largura e o comprimento das folhas e o diâmetro da base do caule (DBC) (ZHANG et al., 2007; KE, et al, 2011; WANG et al., 2014).

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse item serão destacados os resultados obtidos para cada análise. Estes foram discutidos com base nas referências utilizadas.

#### 4.3.1 **Caracterização da água do Rio São Paulo**

Os dados dos parâmetros físico-químicos medidos *in situ*, no estuário do rio São Paulo, são apresentados na tabela 2.

**Tabela 2** – Parâmetros físico-químicos medidos *in situ*, em águas superficiais do estuário do rio São Paulo. Temperatura (T); Oxigênio Dissolvido (OD); Salinidade (Sal)

	pH	T (°C)	OD (mg/L)	Sal	Eh (mV)
<b>Rio São Paulo</b>	7,22	27,68	4,45	29	-33
<b>CONAMA 357</b>	6,5 - 8,5	-	> 5,0	0,5% – 30%	-

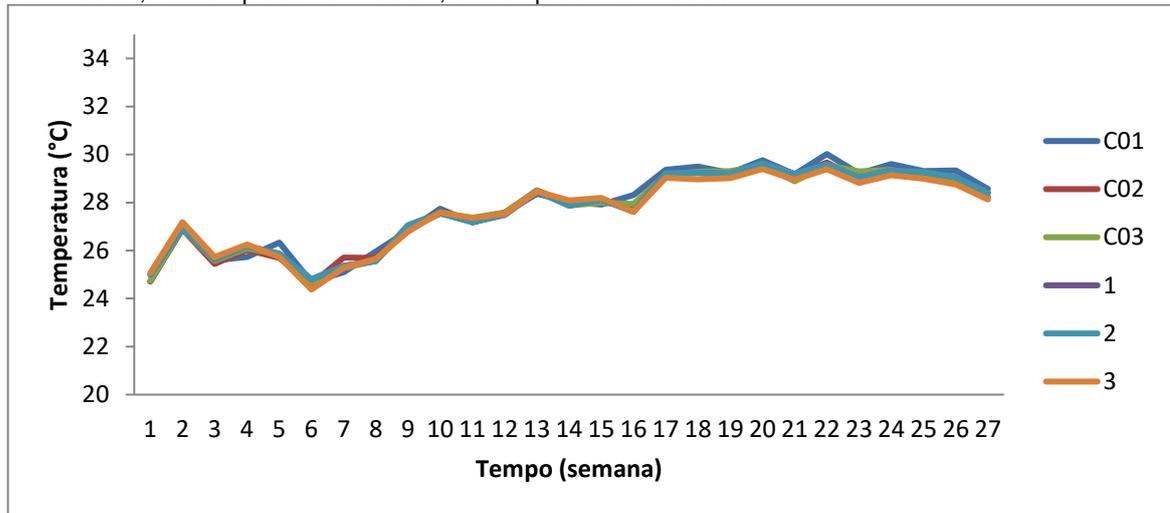
Os valores obtidos foram comparados com as diretrizes classificatórias da Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005. O local de estudo enquadra-se como ambiente de águas salobras, de acordo com a salinidade encontrada. O valor de pH estava de acordo com o padrão de qualidade indicado pela resolução. O valor do oxigênio dissolvido (OD) estava abaixo do limite estabelecido, o que já era esperado, devido à elevada concentração de matéria orgânica presente em ambientes de manguezal. Por fim, o valor de Eh indicou um ambiente redutor, característica típica de ambientes de manguezal. Em ambientes redutores há uma maior preservação da matéria orgânica presente nos sedimentos.

#### 4.3.2 Parâmetros físico-químicos do sistema de remediação

A temperatura medida nos tanques de simulação variou entre 24,38 a 30,02°C (Figura 7). É possível observar que as temperaturas dos seis tanques possuíram uma tendência similar ao longo do tempo, destoando pouco do valor médio encontrado *in situ* (27,68°C). As menores temperaturas foram medidas quando se fazia a reposição de água, que se perdia, principalmente, por conta da evaporação.

A temperatura influencia a biodegradação do óleo. A variação deste parâmetro pode alterar a população microbiana e interferir no desenvolvimento das espécies de manguê (HAIDER, 1999; AZUBUIKE et al., 2016; RICHTER et al., 2016). Baixas temperaturas podem limitar a degradação destes poluentes, uma vez que o metabolismo microbiano e a densidade de manguês podem diminuir, e a viscosidade dos hidrocarbonetos aumenta nessas condições. Em contra partida, em altas temperaturas, a toxicidade destes compostos tende a aumentar (TONINI, 2011). Tipicamente, a faixa de temperatura ideal para que ocorra a biodegradação de hidrocarbonetos pelos microrganismos é de 30 à 40°C. Porém, estudos de indicam que, em temperaturas similares as obtidas no experimento, também há o desenvolvimento de organismos, podendo ocorrer a assimilação do contaminante como fonte de energia (RICKLEFS, 2001).

**Figura 7** – Variação ao longo do tempo dos valores de temperatura mensurados nos seis tanques de simulação do bioprocesso. C01 = tanque controle 1; C02 = tanque controle 2; C03 = tanque controle 3; 1 = tanque contaminado 1; 2 = tanque contaminado 2; 3 = tanque contaminado 3

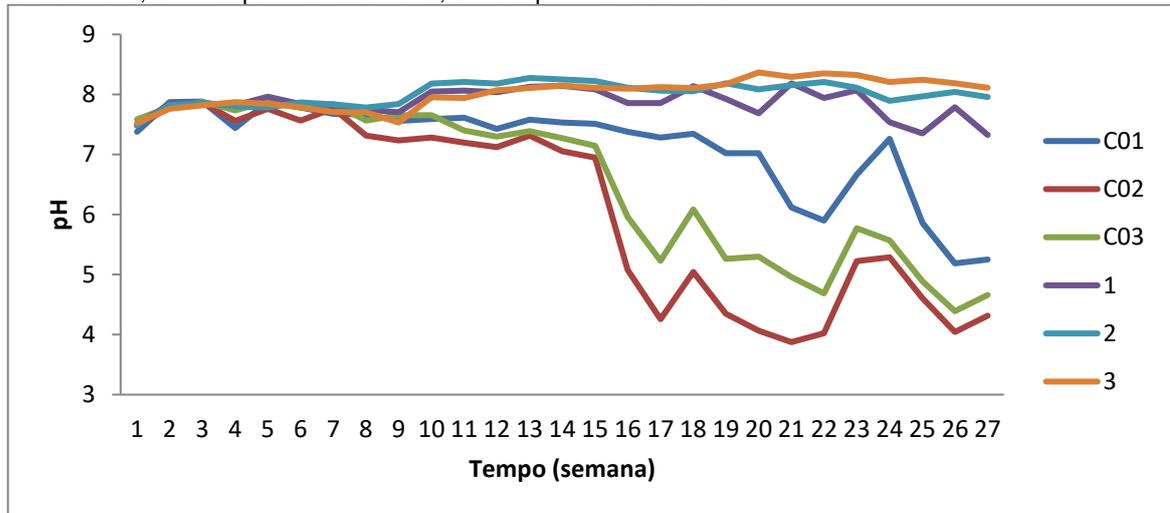


Fonte: autor, 2017.

Os valores de pH tiveram uma tendência similar nos seis tanques até a semana 14, que corresponde ao fim da primeira etapa do experimento (biorremediação) (Figura 8). Neste período, os valores de pH variaram entre 7,06 e 8,28, e encontram-se dentro da faixa de referência da Resolução 357/05 do CONAMA para águas salobras. Com a introdução das espécies vegetais no sistema, a partir da semana 14, observou-se que os tanques controles tiveram uma tendência de queda nos valores de pH, enquanto que nos tanques contaminados esses valores continuaram com pouca variação. O valor mínimo medido na segunda etapa (fitorremediação) foi de 3,88 e o máximo foi de 8,37. Nos tanques contaminados, os valores continuaram dentro da faixa de referência da Resolução 357/05 do CONAMA, porém nos tanques controles, a maioria dos valores encontrados esteve abaixo dessa faixa.

Estudos mostram que os exsudatos radiculares das espécies vegetais, que são os produtos fotossintéticos transferidos para as raízes e liberados na rizosfera, podem alterar os valores de pH (LANDI et al., 2006; WANG et al., 2014). Este pode ter sido o motivo da variação observada nos tanques controles. Como não houve variação nos tanques contaminados, supõe-se que as colônias de bactérias que se desenvolveram na presença do óleo metabolizaram esses exsudatos de alguma forma que impedisse a modificação do pH.

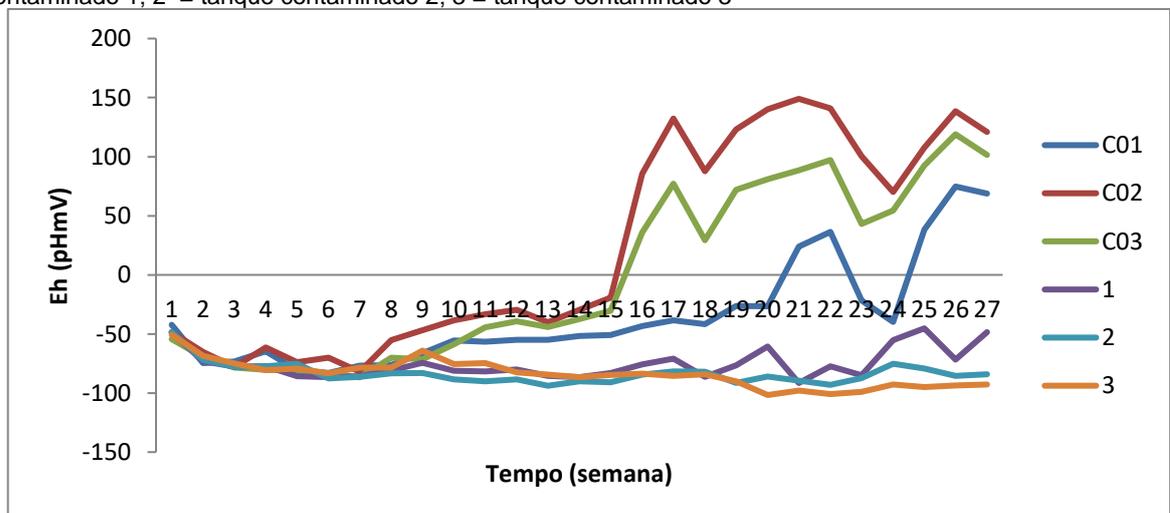
**Figura 8** – Variação ao longo do tempo dos valores de pH mensurados nos seis tanques de simulação do bioprocesso. C01 = tanque controle 1; C02 = tanque controle 2; C03 = tanque controle 3; 1 = tanque contaminado 1; 2 = tanque contaminado 2; 3 = tanque contaminado 3



Fonte: autor, 2017.

Um padrão semelhante ao do pH foi observado para os valores de Eh obtidos ao longo do tempo (Figura 9). Na primeira etapa do experimento o Eh variou entre -93,83 e -29,50 mV, indicando um ambiente redutor, típico do ecossistema manguezal. Na segunda etapa, os valores encontrados nos tanques contaminados mantiveram a mesma tendência, variando de -101,65 a -45,25 mV. Já nos tanques controles, os valores aumentaram significativamente, com uma variação de -51,83 a 149,00, passando de um ambiente redutor para um ambiente oxidante. Essa mudança abrupta também deve ter relação com os exsudatos liberados pela *Rhizophora mangle*.

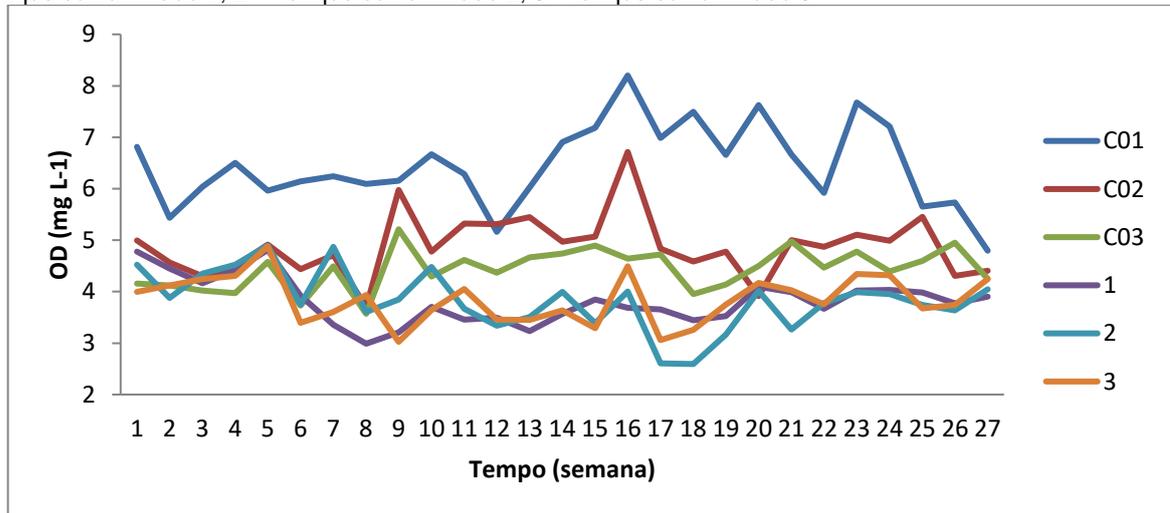
**Figura 9** – Variação ao longo do tempo dos valores de Eh mensurados nos seis tanques de simulação do bioprocesso. C01 = tanque controle 1; C02 = tanque controle 2; C03 = tanque controle 3; 1 = tanque contaminado 1; 2 = tanque contaminado 2; 3 = tanque contaminado 3



Fonte: autor, 2017.

Com relação aos valores de oxigênio dissolvido (OD), não foi possível observar um padrão na sua variação ao longo do tempo (Figura 10). Esses valores variaram entre 2,59 a 8,20 mg L<sup>-1</sup>.

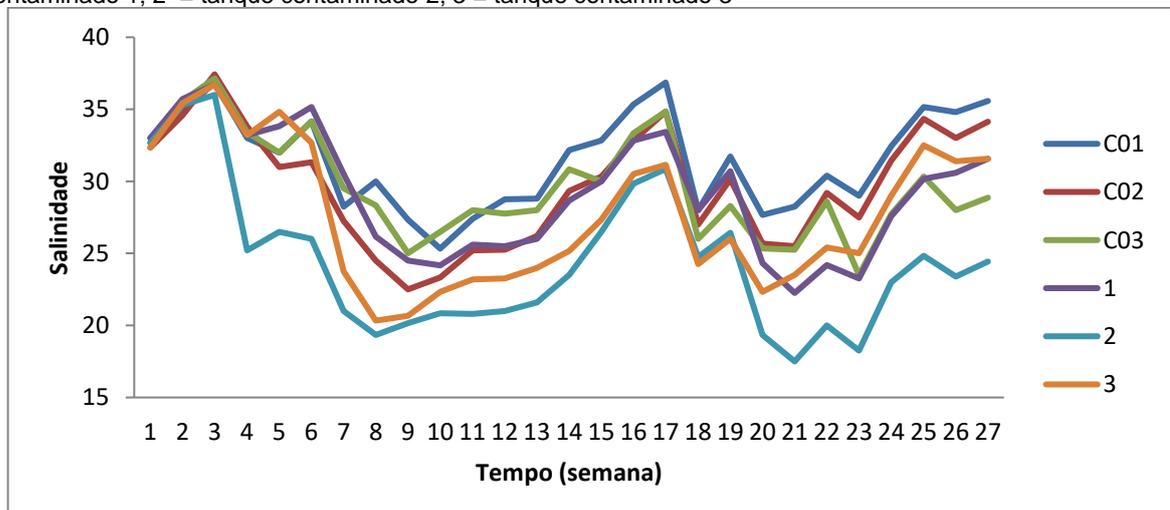
**Figura 10** – Variação ao longo do tempo dos valores de oxigênio dissolvido (OD) mensurados nos seis tanques de simulação do bioprocessamento. C01 = tanque controle 1; C02 = tanque controle 2; C03 = tanque controle 3; 1 = tanque contaminado 1; 2 = tanque contaminado 2; 3 = tanque contaminado 3



Fonte: autor, 2017.

Por fim, a salinidade teve um padrão de variação similar em todas as unidades experimentais, com valor mínimo de 18 e valor máximo de 37 (Figura 11). Sempre que a salinidade desviava muito da faixa pré-estabelecida de 25-35, adicionava-se água mineral, para diminuir a salinidade ou água do próprio estuário do Rio São Paulo, para aumentar a salinidade.

**Figura 11** – Variação ao longo do tempo dos valores de salinidade mensurados nos seis tanques de simulação do bioprocessamento. C01 = tanque controle 1; C02 = tanque controle 2; C03 = tanque controle 3; 1 = tanque contaminado 1; 2 = tanque contaminado 2; 3 = tanque contaminado 3



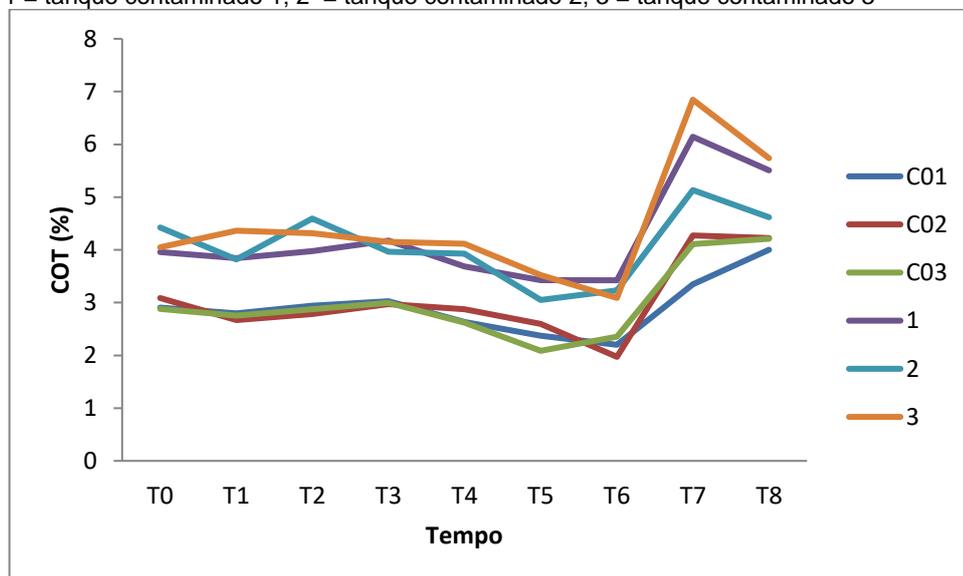
Fonte: autor, 2017.

### 4.3.3 Caracterização dos sedimentos do sistema de remediação

As concentrações de carbono orgânico total (COT) mensuradas nas amostras de sedimento coletas nos tanques de simulação do bioprocessamento estão representadas na Figura 12. Nos tanques controles, o COT variou entre 1,97 e 4,27%. Já nos tanques contaminados, o COT variou entre 3,05 e 6,85%. As maiores concentrações de COT nos tanques contaminados estão associadas a presença do óleo nesses sedimentos.

Observou-se que até o tempo 6 (T6 → 130 dias de experimento), os valores de COT mantinham-se com pouca variabilidade. No tempo 7 (T7 → 150 dias de experimento), houve um aumento significativo nas concentrações, em todos os tanques. Estudos mostram que os exsudatos liberados pelas raízes das espécies vegetais podem alterar as concentrações de matéria orgânica presente no sedimento (LANDI et al., 2006; WANG et al., 2014). É possível, então, que os efeitos dos exsudatos na concentração de matéria orgânica e, conseqüentemente, de carbono orgânico, só tenham sido sentidos 60 dias após o plantio das mudas no experimento, que ocorreu no tempo 4 (T4 → 90 dias de experimento), visto que este foi o fator externo preponderante introduzido no sistema.

**Figura 12** – Concentrações, ao longo do tempo, de carbono orgânico total nas amostras de sedimento coletadas nos tanques de simulação do bioprocessamento. C01 = tanque controle 1; C02 = tanque controle 2; C03 = tanque controle 3; 1 = tanque contaminado 1; 2 = tanque contaminado 2; 3 = tanque contaminado 3



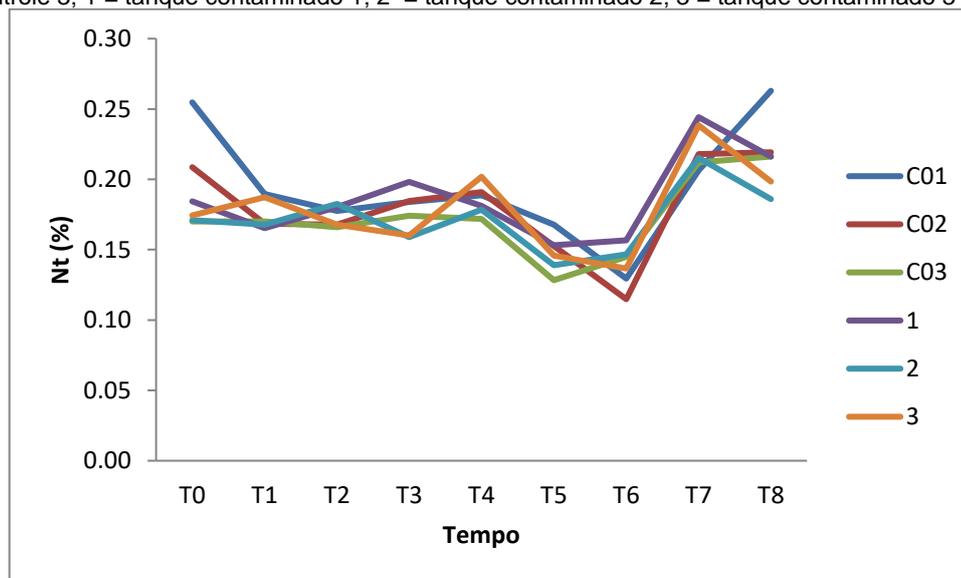
Fonte: autor, 2017.

As figuras 13 e 14 mostram as concentrações, ao longo do tempo, de nitrogênio e fósforo, respectivamente. O nitrogênio e o fósforo estão entre os macronutrientes mais requeridos pelos vegetais e pelas bactérias. O nitrogênio é indispensável para a síntese de proteínas, ácidos nucléicos e componentes da parede celular. O fósforo é essencial na síntese de ácidos nucléicos e da membrana celular. A presença desses nutrientes no

sedimento está ligada à granulometria e concentração de matéria orgânica. A sua presença no ambiente auxilia positivamente os processos de biodegradação do óleo (LIEBEG; CUTRIGHT, 1999).

Os valores de nitrogênio total (Nt) medidos nos sedimentos dos seis tanques de simulação variaram de 0,11 a 0,25%, que são valores relativamente baixos (VANNUCCI, 2002; MOREIRA, 2011). É possível que essa baixa concentração esteja relacionada com o consumo desse nutriente por bactérias e pelas plantas, que utilizam o nitrogênio para suas funções metabólicas (AZUBUIKE et al. 2016). Como a presença desse nutriente se relaciona diretamente com as concentrações de matéria orgânica, nota-se uma similaridade na curva de concentração, ao longo do tempo, desses dois parâmetros (Figuras 12 e 13). Assim como o COT, o Nt tem um crescimento significativo no T7, que pode ser justificado pela liberação de exsudatos pelas raízes das espécies de mangue (RENTZ et al., 2005).

**Figura 13** – Concentrações, ao longo do tempo, de nitrogênio total em sedimento nas amostras de sedimento coletadas nos tanques de simulação do bioprocessamento. C01 = tanque controle 1; C02 = tanque controle 2; C03 = tanque controle 3; 1 = tanque contaminado 1; 2 = tanque contaminado 2; 3 = tanque contaminado 3

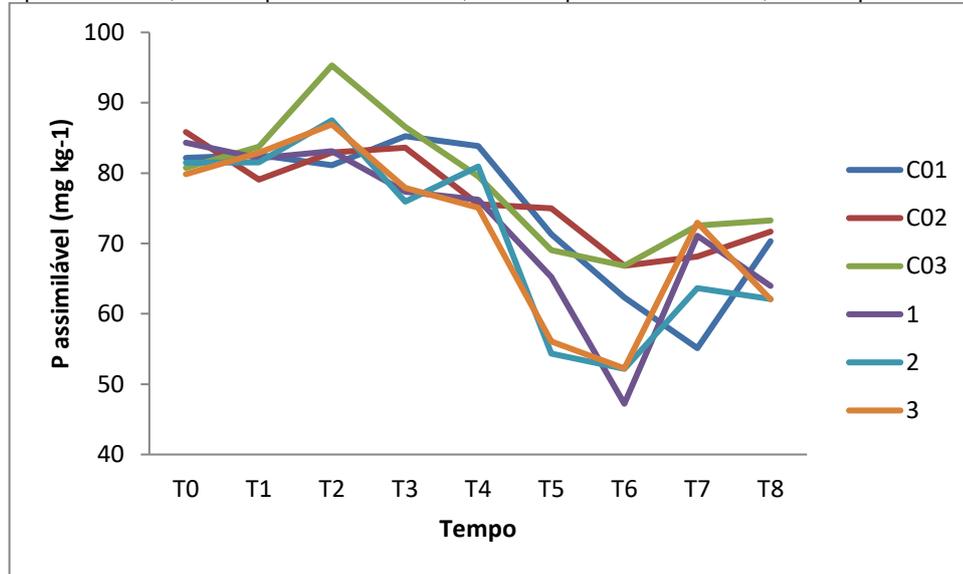


Fonte: autor, 2017.

Os valores de fósforo assimilável (P) variaram de 47,21 a 95,31 mg kg<sup>-1</sup>, e assim como no Nt, são valores relativamente baixos para ambientes de manguezal (BAHIA, 2009).

A legislação brasileira não possui valores de referência para esses nutrientes em regiões de manguezal, conhecidas naturalmente como áreas enriquecidas. A Resolução Conama nº 454/2012, que indica valores de alerta para concentração de nutrientes em sedimentos, não inclui essas regiões.

**Figura 14** – Concentrações, ao longo do tempo, de fósforo assimilável em sedimento nas amostras de sedimento coletadas nos tanques de simulação do bioprocessamento. C01 = tanque controle 1; C02 = tanque controle 2; C03 = tanque controle 3; 1 = tanque contaminado 1; 2 = tanque contaminado 2; 3 = tanque contaminado 3



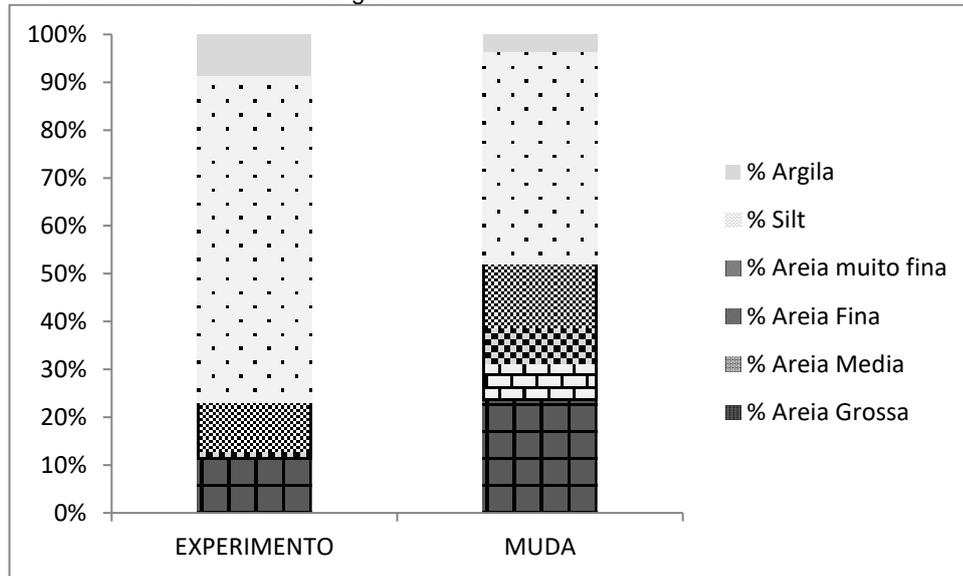
Fonte: autor, 2017.

A distribuição das frações granulométricas (Figura 15) indicou um predomínio da fração silte no sedimento utilizado para a realização do experimento de bioprocessamento. Geralmente os sedimentos de manguezal apresentam granulometria fina, com predominância das frações de tamanho inferior a 0,05 mm (silte-argila) (SOUZA et al., 2008; RANJAN et al., 2010).

As frações silte-argila representaram 76,91% da composição granulométrica do sedimento estudado, estando de acordo com os resultados anteriormente mensurados para a mesma região (MOREIRA, 2011). Com relação ao sedimento presente nas mudas de mangues que foram doados pela ONG Vovó do Mangue, verificou-se uma leve predominância da fração areia (52,01%). Segundo os responsáveis pela ONG, as mudas foram cultivadas em uma mistura de sedimento de praia e de manguezal, o que explica a representatividade da fração areia na amostra analisada.

Quanto maior a quantidade de silte e argila no sedimento, maior será a área de superfície de contato, o que faz com que o sedimento apresente alta capacidade de fixação de contaminantes e macronutrientes, como nitrogênio e fósforo (VEIGA, 2003; FERNANDEZ-BAYO et al., 2008). Por conta dessas características granulométricas, preservação e diagnósticos ambientais realizados em manguezais tornam-se prioritários, pois estes são ambientes de extrema importância ecológica, social e econômica e tem a tendência de acumular contaminantes em seus domínios, podendo prejudicar toda uma rede trófica relacionada.

**Figura 15** – Distribuição das frações granulométricas das amostras de sedimento superficial do Rio São Paulo, utilizadas no experimento de remediação, das amostras de sedimento coletadas nas mudas de *Rhizophora mangle* provenientes da ONG Vovó do Mangue



Fonte: autor, 2017.

#### 4.3.4 Quantificação de unidades formadoras de colônias (UFCs)

Não foi possível observar um padrão no crescimento de unidades formadoras de colônia (UFCs) ao longo do tempo (Figura 16).

De uma forma geral, as unidades de simulação controle tiveram maiores quantidades de UFCs, indicando que a toxicidade do óleo adicionado nas unidades contaminadas também afetam as comunidades microbianas, só resistindo aquelas que conseguiram tolerar essa toxicidade e usar os hidrocarbonetos como fonte de energia em suas funções metabólicas.

Como já foi discutido acima, o sedimento utilizado no experimento possui quantidades dos nutrientes analisados abaixo do que se espera para ambientes de manguezal. Desta forma, é possível que as comunidades bacterianas presentes no sedimento não tenha se adaptado às novas condições tróficas, que foram proporcionadas pelos exsudatos liberados pelas raízes das plantas (adicionadas no tempo 4). Por isso nota-se uma queda abrupta nos valores de UFCs no T5. Após um período de adaptação, observa-se que os valores começam a subir de novo, indicando o crescimento de bactérias resistente a um ambiente com maiores quantidades de nutrientes. Na literatura, é possível encontrar pesquisas que obtiveram o mesmo resultado de queda quantitativa nas comunidades bacterianas, a partir da liberação de exsudatos (CICCILLO et al., 2002; RENTZ et al., 2005).

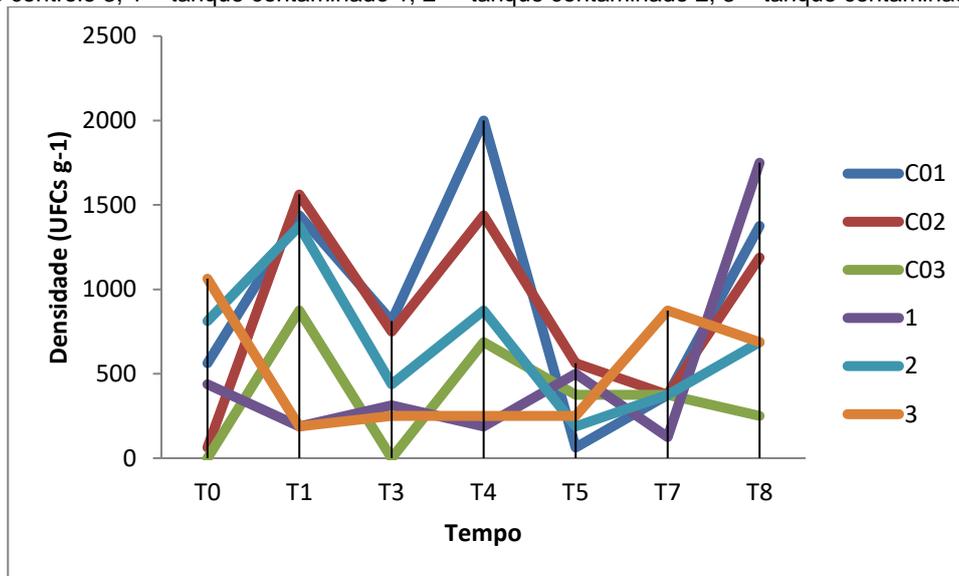
No tempo 2, é possível observar dois *outlayers* nas unidades contaminadas 1 e 2 (tabela 3). É possível que com a degradação do óleo adicionado nessas unidades, tenha

ocorrido a formação de produtos secundários dos hidrocarbonetos. Dentro do consórcio presente no meio, provavelmente existiam bactérias que se desenvolveram mais na presença desses metabólitos, fazendo com que houvesse um boom de bactérias desse tipo no sedimento, explicando esses altos valores de UFCs encontrados.

**Tabela 3** – Valores de UFCs mensurados em amostras de sedimento coletadas nos seis tanques de simulação do bioprocessos

		Densidade (UFC g <sup>-1</sup> )						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T7	T8
<b>C01</b>	563	1438	1313	813	2000	63	375	1375
<b>C02</b>	63	1562	1250	750	1438	563	375	1188
<b>C03</b>	0	875	438	0	688	375	375	250
<b>1</b>	438	188	126937	313	188	500	125	1750
<b>2</b>	813	1375	70125	437	875	188	375	688
<b>3</b>	1063	188	875	250	250	250	875	688

**Figura 16** – Variação no tempo no crescimento de UFCs. C01 = tanque controle 1; C02 = tanque controle 2; C03 = tanque controle 3; 1 = tanque contaminado 1; 2 = tanque contaminado 2; 3 = tanque contaminado 3



Fonte: autor, 2017.

#### 4.3.5 Análise temporal da degradação de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTPs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) presentes no sedimento

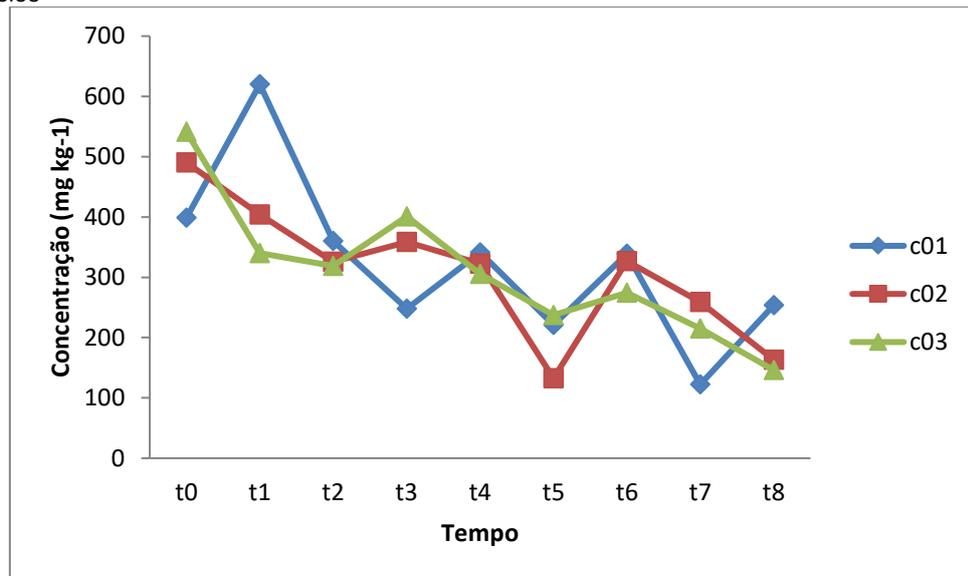
As figuras 17 e 18 mostram as concentrações de HTPs, ao longo do tempo, nas unidades controles e nas unidades contaminadas, respectivamente. A presença de HTPs nas unidades controles indica que o local de amostragem pode possuir certa contaminação por óleo. Devido à predominância de hidrocarbonetos no petróleo, os HTPs são os compostos utilizados como indicadores deste tipo de poluição. No entanto, deve-se ressaltar

que os hidrocarbonetos não existem apenas no petróleo, eles também ocorrem normalmente como produtos de biossíntese das plantas e animais (COIMBRA, 2006).

Tanto nas unidades controles quanto nas unidades contaminadas, a concentração de HTPs diminui com o tempo, indicando que, de fato, os compostos de petróleo estão sendo degradados. Pequenas oscilações de aumento da concentração de HTP são observadas, mas que provavelmente são decorrentes de produtos de biossíntese das plantas e animais, como já foi dito acima.

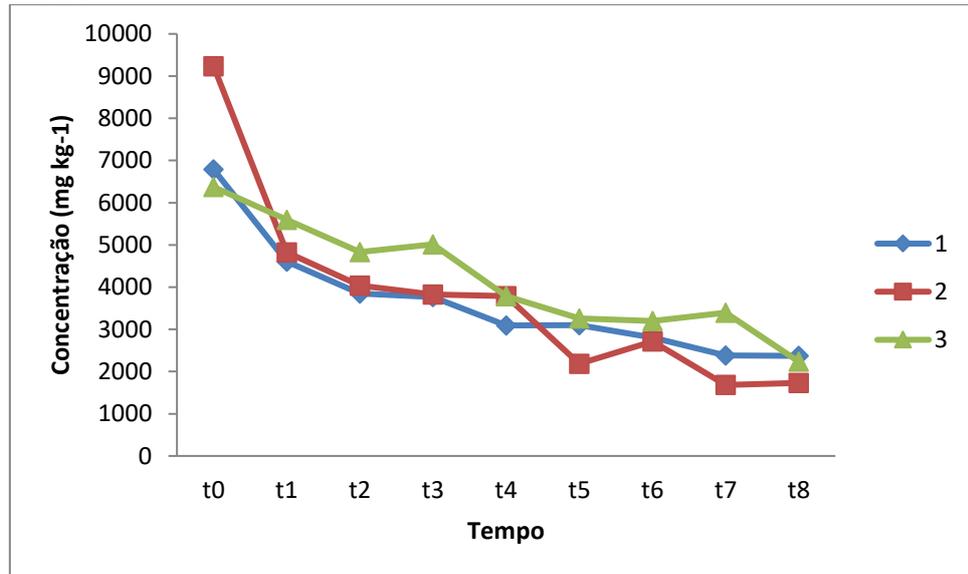
Cerca de 70% do óleo inicial, adicionado ao sedimento das unidades contaminadas, foi degradado, decorridos os 180 dias de experimento. Esse resultado corrobora com um trabalho similar desenvolvido por Moreira (2011), onde ele observou que em sedimentos contaminados, tratados pela atenuação natural, foi removido 70% do óleo e em sedimentos tratados pela fitorremediação, utilizando a *Rhizophora mangle*, foi removido 87% do óleo.

**Figura 17** – Variação no tempo da concentração de HTP presente nas amostras de sedimento coletadas nas unidades controles



Fonte: autor, 2017.

**Figura 18** – Variação no tempo da concentração de HTP presente nas amostras de sedimento coletadas nas unidades contaminadas



Fonte: autor, 2017.

As figuras 23 a 28 mostram os cromatogramas do óleo extraído das amostras de sedimento coletadas no tempo inicial (T0), no tempo intermediário (T4) e no tempo final (T8). Esses cromatogramas mostram que, de fato, o óleo foi degradado ao longo do tempo, em todas as unidades de simulação, já que os picos de n-alcenos são visivelmente diminuídos, quando se observa a sobreposição dos cromatogramas desses três tempos.

O T4 foi o tempo em que ocorreu o plantio das mudas de *Rhizophora mangle*. Observou-se que pouca foi a diferença entre o perfil do óleo nesse tempo e no tempo final (T8), nas unidades contaminadas (Figuras 26 a 28). Isso indica que para a degradação dos hidrocarbonetos menos recalcitrantes, a presença exclusiva de bactérias autóctonas, resolveria a questão da remediação do sedimento. Porém, esses cromatogramas não representam as frações mais recalcitrantes do óleo, com é o caso dos HPAs. E diversos estudos mostram que a degradação destas tende a ser favorecida pela presença de espécies vegetais no sistema (KE et al, 2003; XU et al., 2014; REN et al., 2017).

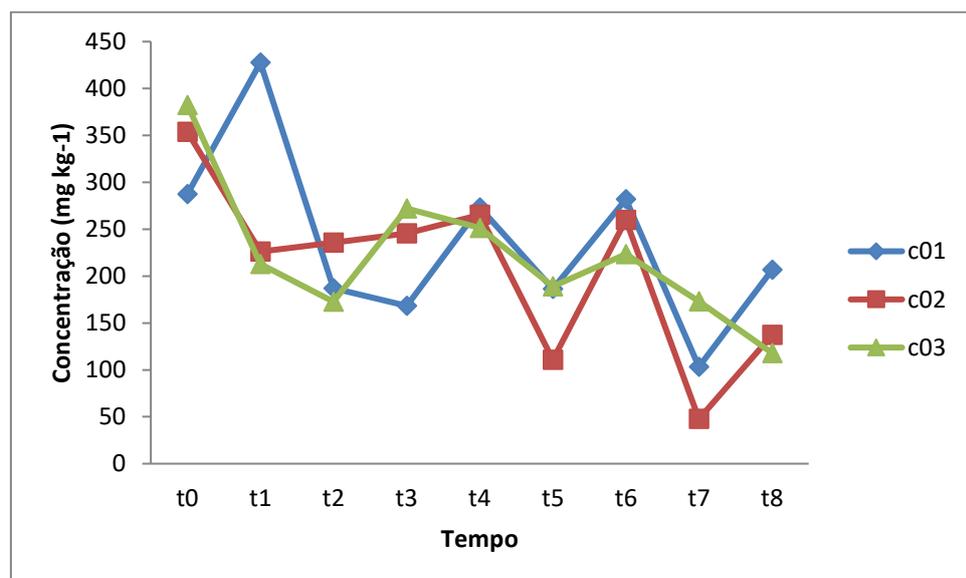
Outra questão importante de ser destacada é que na literatura está bem consolidado o fato de que com a degradação do óleo, a mistura complexa não resolvida (UCM, sigla em inglês para *Unresolved Complex Mixture*) tende a crescer, já que os metabólitos da degradação por parte dos microrganismos e das espécies vegetais geralmente não são identificados pelo cromatógrafo (MARCHAL et al., 2003; COIMBRA, 2006; MOREIRA et al., 2013; KRONBAUER, 2014; SILVA, 2016).

Porém, como é possível observar nas figuras 19 e 20 e nos cromatogramas (Figuras 23 a 26), não é isso que acontece com o óleo do experimento ao longo do tempo. Notou-se que a UCM tem uma tendência de queda, principalmente nas unidades contaminadas

(Figura 20). Uma possível explicação para esse fato é que os microrganismos e as plantas presentes no sistema possuam mecanismos que favoreçam, além da degradação do óleo, também a degradação dos metabólitos gerados, que muitas das vezes podem ser mais tóxicos e danosos ao ambiente do que os compostos originais (FRENZEL et al., 2010; TRAN et al., 2010; KUMAR et al., 2014; AITKEN et al., 2017).

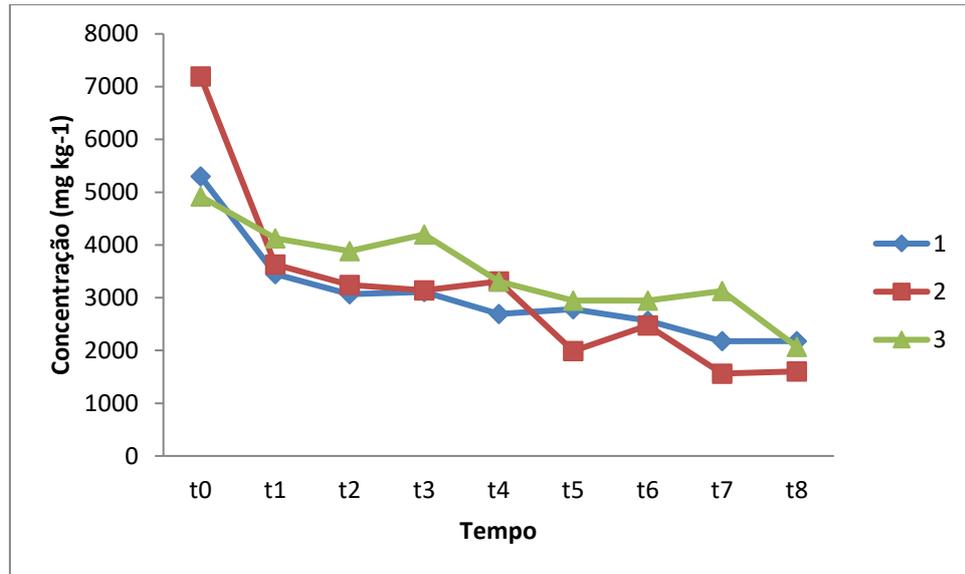
Para a confirmação dessa hipótese, deveria ter sido feito o isolamento e a identificação dos microrganismos presentes no sedimento, bem como uma análise molecular e genética, para saber se essas colônias são mesmo as responsáveis por esse fato atípico. A extração do óleo nas estruturas das espécies vegetais (raiz, caule e folhas) também deveria ter sido feita para elucidar essa questão, assim como para saber se as mudas estão de fato contribuindo com a degradação do óleo, ou se elas apenas agem de forma indireta, a partir da estimulação das comunidades microbianas presentes no sedimento.

**Figura 19** – Variação no tempo da concentração de UCM das amostras de sedimento coletadas nas unidades controles



Fonte: autor, 2017.

**Figura 20** – Variação no tempo da concentração de UCM das amostras de sedimento coletadas nas unidades contaminadas



Fonte: autor, 2017.

Outro fator indicativo de degradação de óleo são as razões Pristano/nC<sup>17</sup> e Fitano/nC<sup>18</sup>. Valores altos destas razões indicam presença de óleo degradado, enquanto que valores baixos indicam que o óleo foi recentemente introduzido no ambiente, ou seja, que ainda não ocorreu biodegradação nos sistemas (MARIANO et al., 2008; COIMBRA, 2006; KRONBAUER, 2014).

Como é possível observar nas tabelas 4 e 5, as razões Pristano/nC<sup>17</sup> e Fitano/nC<sup>18</sup>, para as unidades controles, apresentaram, em sua maioria, valores menores que o limite de quantificação do método, justificável pelo fato de que nessas unidades as quantidades de HTPs encontradas foram baixas, refletindo nas razões.

Já nas unidades contaminadas (tabelas 4 e 5 e Figuras 21 e 22), notou-se que as razões cresceram de forma discreta até o tempo 3. Do tempo 3 para o 4, o crescimento é mais acentuado, provavelmente porque os microrganismos presentes no meio já eram aqueles mais adaptados à presença de óleo no ambiente, fazendo com que a degradação do óleo fosse maior. Esse período de adaptação e crescimento abrupto nas razões está de acordo com o estudo desenvolvido por Silva (2016).

Com a introdução das mudas no sistema, no tempo 4, notou-se que o crescimento das razões continuou de forma acentuada, mostrando que a presença de espécies vegetais favorece o crescimento de microrganismos e, conseqüentemente, a degradação do óleo presente no meio (GEHARDT et al. 2009; TRUU et al, 2015).

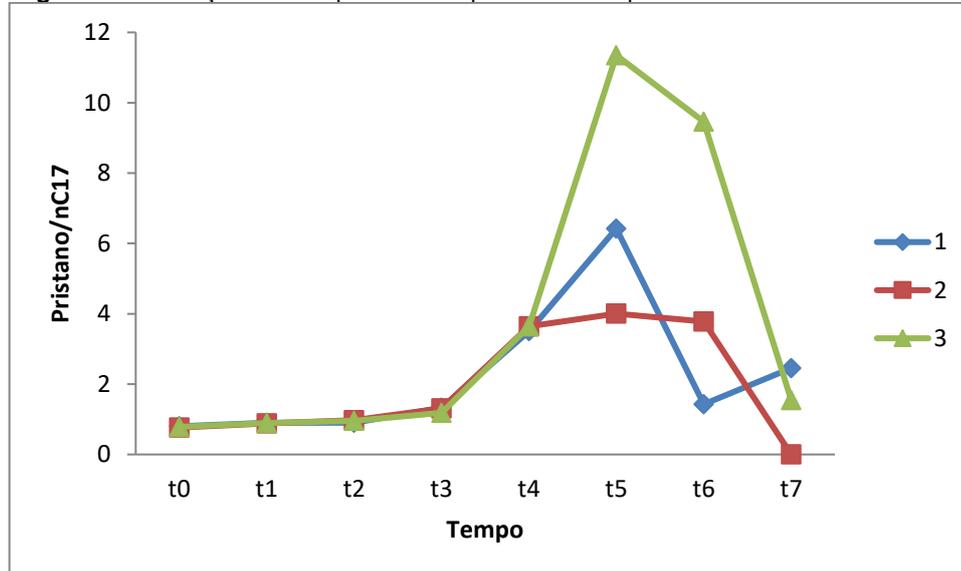
A partir do tempo 6, as razões começam a decrescer porque o pristano, o fitano, o C17 e o C18 já começam a ficar degradados, a ponto de não ser mais possível suas quantificações pelo cromatógrafo.

**Tabela 4** – Razões pristano/nC<sup>17</sup> determinadas nas unidades de simulação, ao longo do tempo

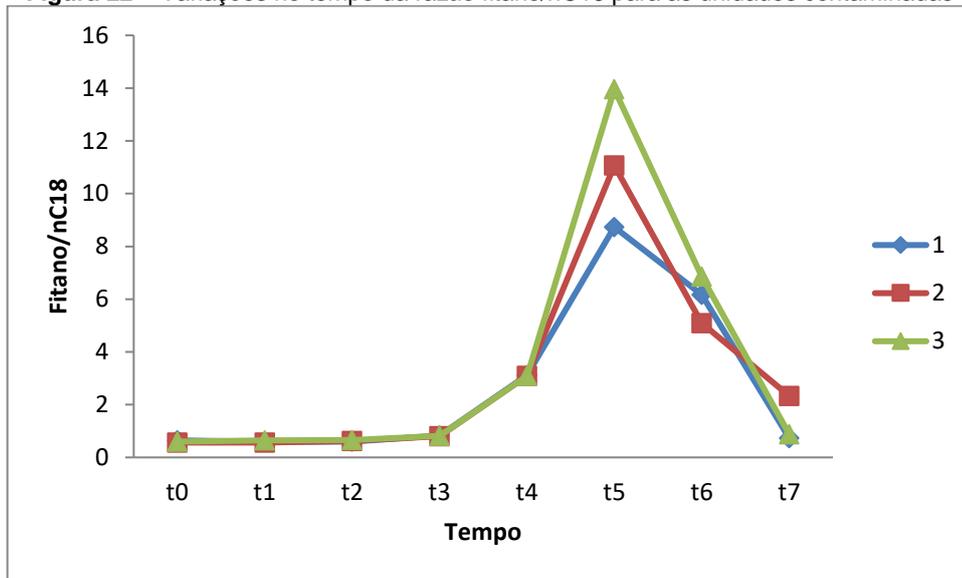
PRISTANO/nC <sup>17</sup>									
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
<b>C01</b>	<LQM	1,14	1,28	1,51	<LQM	<LQM	<LQM	<LQM	<LQM
<b>C02</b>	<LQM	1,15	1,40	1,54	<LQM	<LQM	<LQM	<LQM	<LQM
<b>C03</b>	<LQM	1,29	1,13	1,53	<LQM	<LQM	<LQM	<LQM	<LQM
<b>1</b>	0,80	0,90	0,90	1,33	3,51	6,42	1,43	2,45	<LQM
<b>2</b>	0,77	0,88	0,98	1,31	3,64	4,00	3,78	<LQM	<LQM
<b>3</b>	0,78	0,90	0,96	1,18	3,64	11,35	9,46	1,55	<LQM

**Tabela 5** – Razões fitano/nC<sup>18</sup> determinadas nas unidades de simulação, ao longo do tempo

FITANO/nC <sup>18</sup>									
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
<b>C01</b>	<LQM	<LQM	<LQM	0,84	<LQM	<LQM	<LQM	<LQM	<LQM
<b>C02</b>	<LQM	<LQM	<LQM	1,38	<LQM	<LQM	<LQM	<LQM	<LQM
<b>C03</b>	<LQM	<LQM	<LQM	1,00	<LQM	<LQM	<LQM	<LQM	<LQM
<b>1</b>	0,64	0,59	0,60	0,83	3,12	8,73	6,17	0,74	<LQM
<b>2</b>	0,56	0,57	0,62	0,81	3,09	11,06	5,09	2,33	<LQM
<b>3</b>	0,60	0,65	0,66	0,81	3,09	13,96	6,85	0,88	0,78

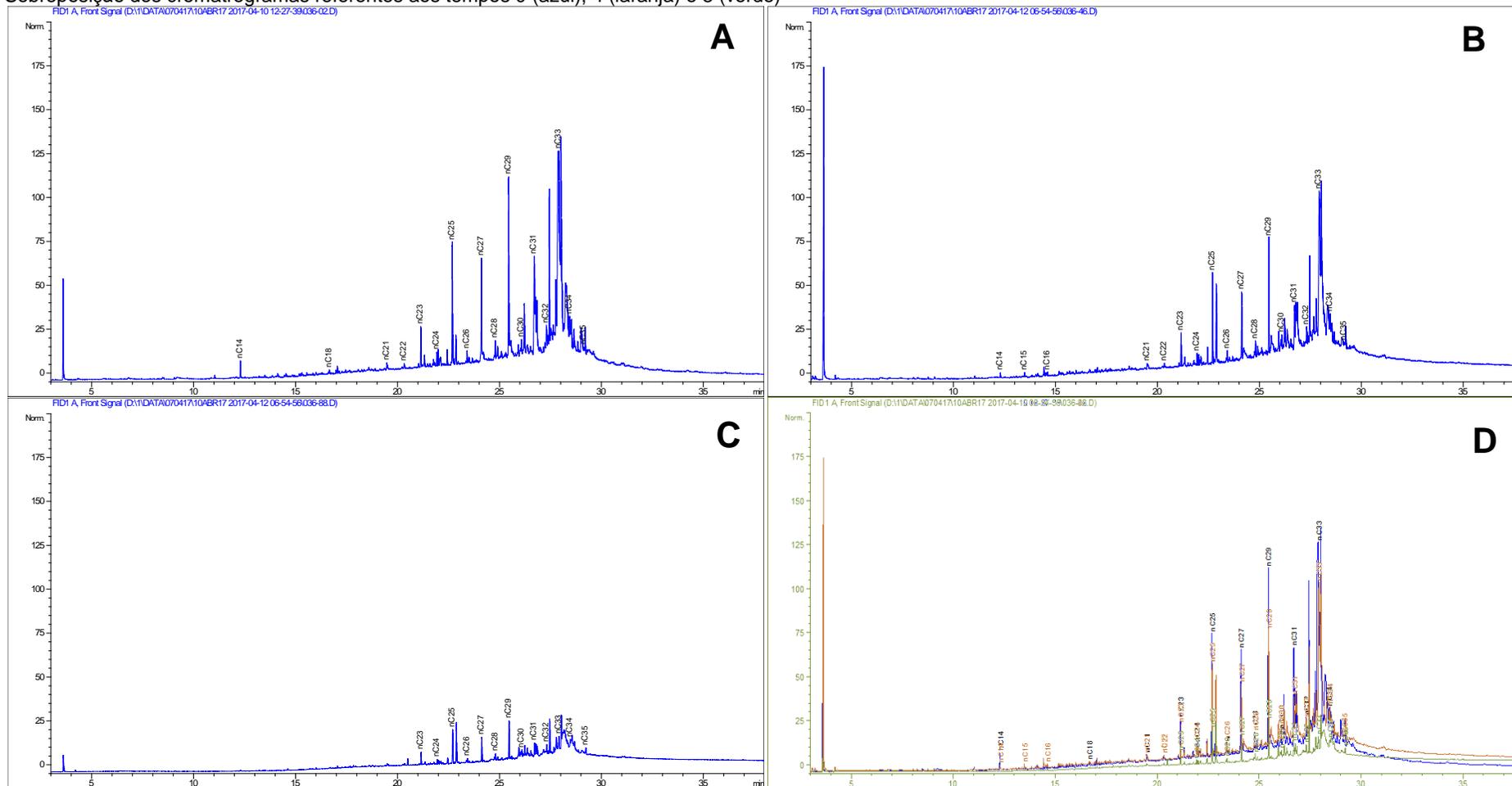
**Figura 21** – Variações no tempo da razão pristano/nC<sup>17</sup> para as unidades contaminadas

Fonte: autor, 2017.

**Figura 22** – Variações no tempo da razão fitano/nC18 para as unidades contaminadas

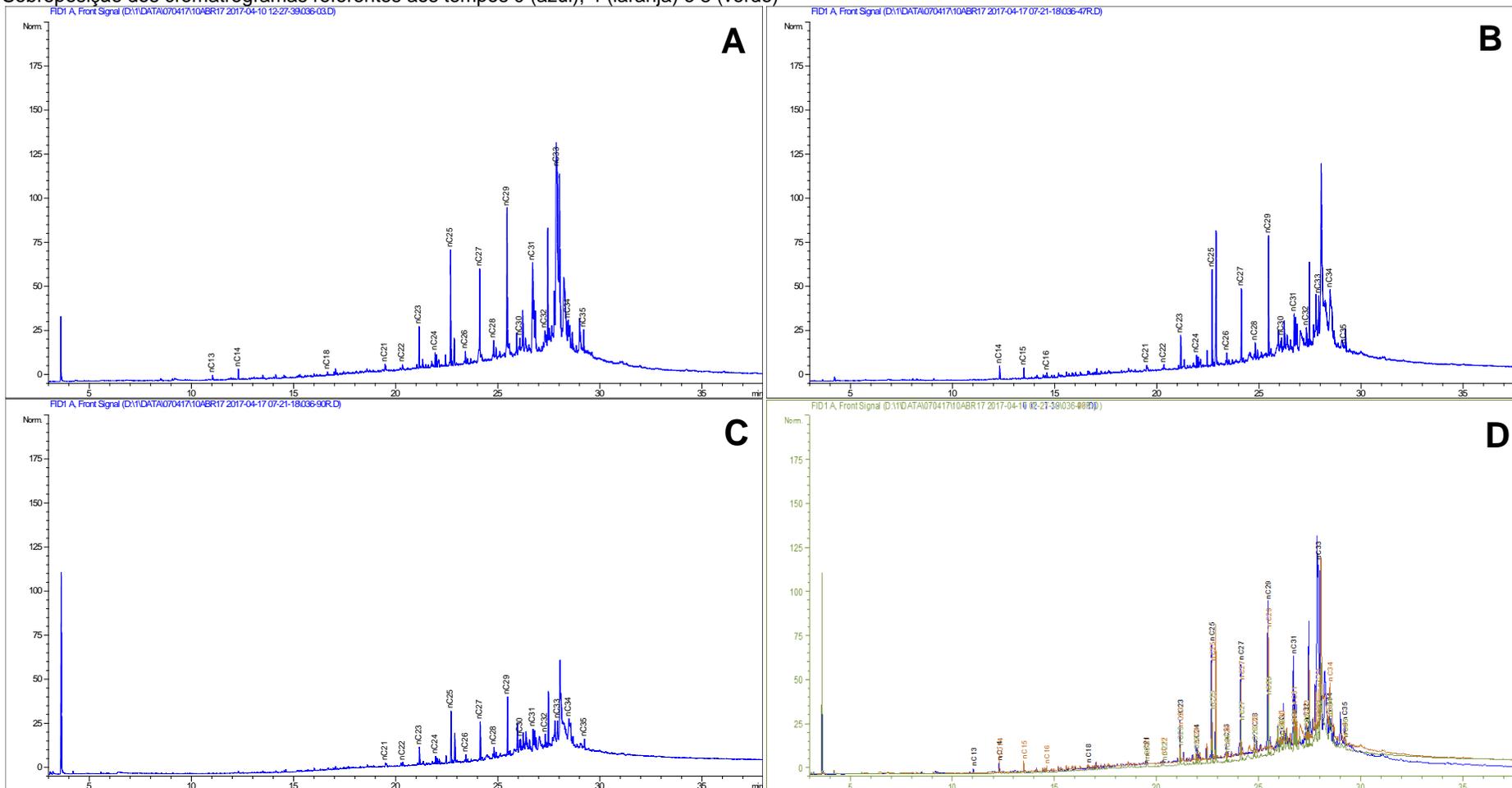
Fonte: autor, 2017.

**Figura 23** – Cromatogramas do óleo presente nas amostras sedimento coletadas na unidade de simulação controle 1 (C01). A – Tempo 0. B – Tempo 4. C – tempo 8. D – Sobreposição dos cromatogramas referentes aos tempos 0 (azul), 4 (laranja) e 8 (verde)



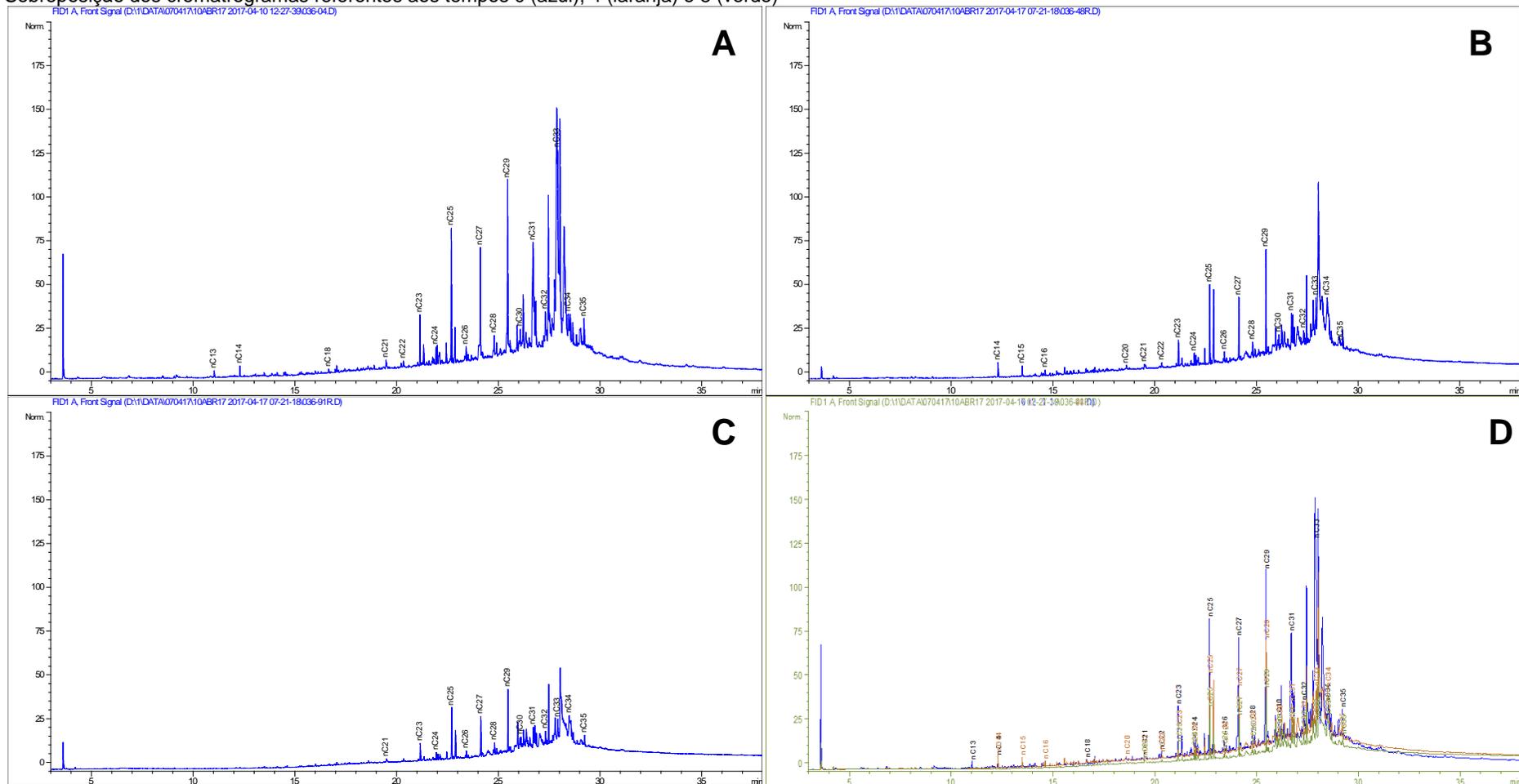
Fonte: autor, 2017.

**Figura 24** – Cromatogramas do óleo presente nas amostras de sedimento coletadas na unidade de simulação controle 2 (C02). A – Tempo 0. B – Tempo 4. C – tempo 8. D – Sobreposição dos cromatogramas referentes aos tempos 0 (azul), 4 (laranja) e 8 (verde)



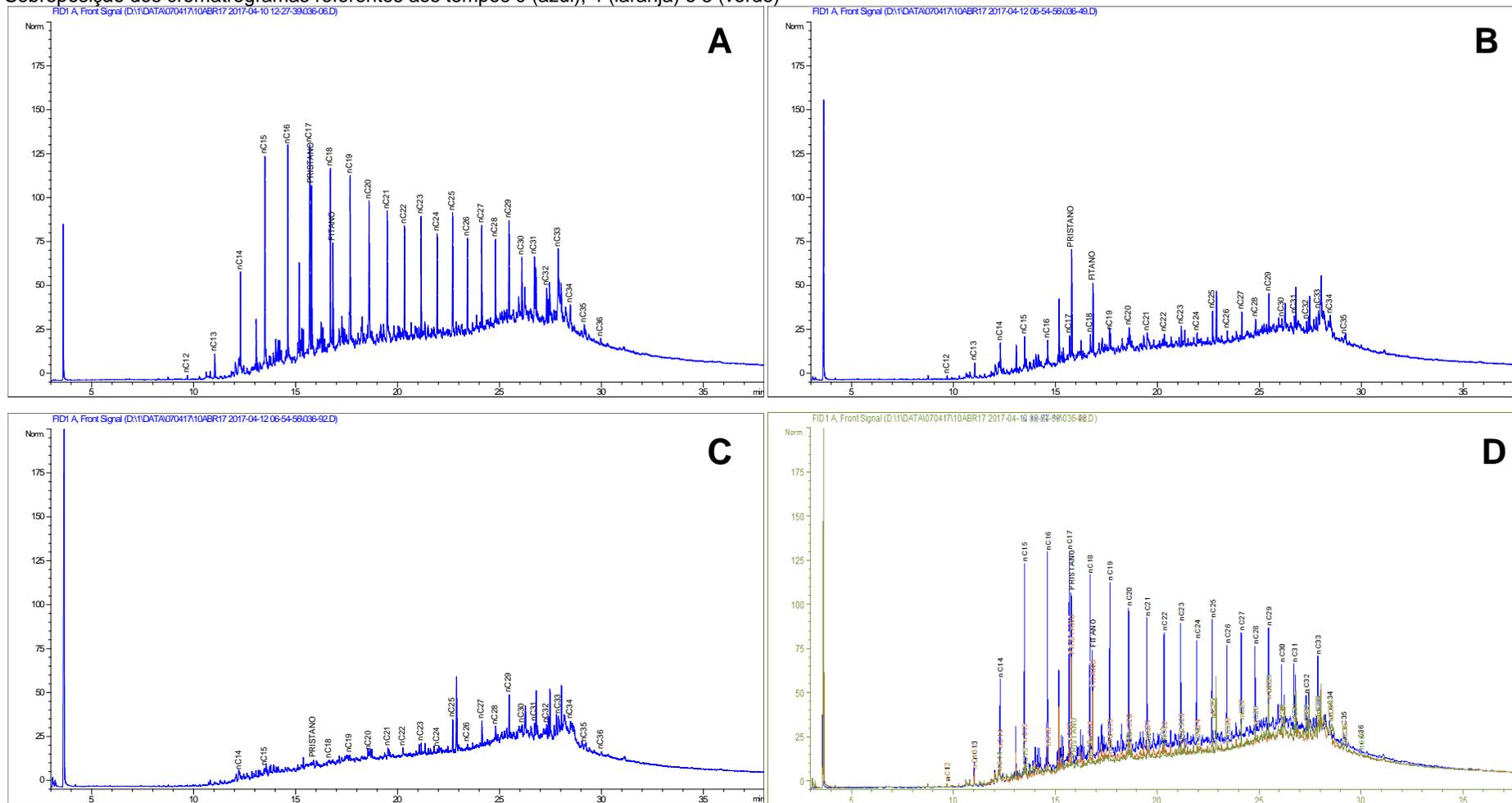
Fonte: autor, 2017.

**Figura 25** – Cromatogramas do óleo presente nas amostras de sedimento coletadas na unidade de simulação controle 3 (C03). A – Tempo 0. B – Tempo 4. C – tempo 8. D – Sobreposição dos cromatogramas referentes aos tempos 0 (azul), 4 (laranja) e 8 (verde)



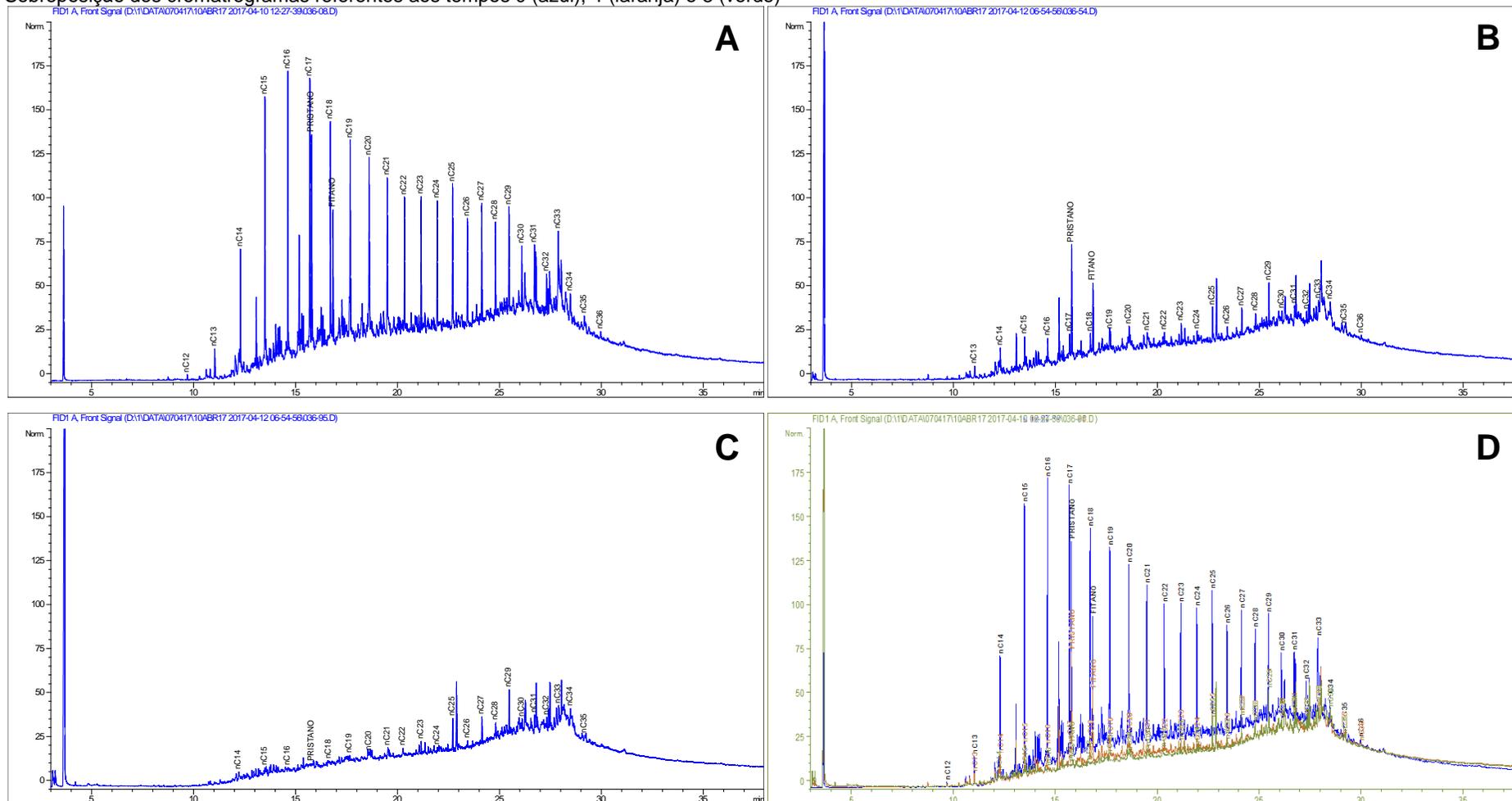
Fonte: autor, 2017.

**Figura 26** – Cromatogramas do óleo presente nas amostras de sedimento coletadas na unidade de simulação contaminado 1. A – Tempo 0. B – Tempo 4. C – tempo 8. D – Sobreposição dos cromatogramas referentes aos tempos 0 (azul), 4 (laranja) e 8 (verde)



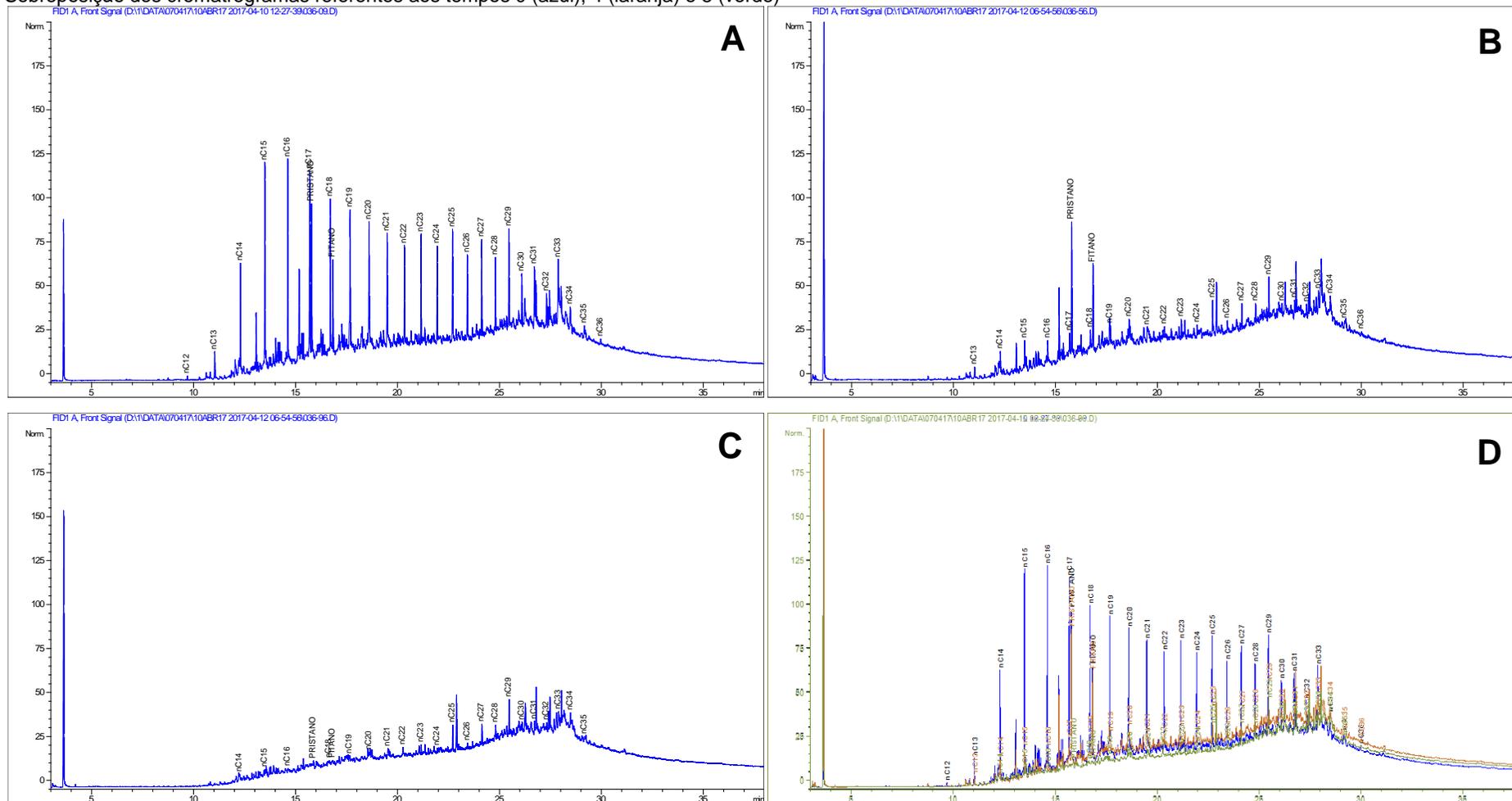
Fonte: autor, 2017.

**Figura 27** – Cromatogramas do óleo presente nas amostras de sedimento coletadas na unidade de simulação contaminado 2. A – Tempo 0. B – Tempo 4. C – tempo 8. D – Sobreposição dos cromatogramas referentes aos tempos 0 (azul), 4 (laranja) e 8 (verde)



Fonte: autor, 2017.

**Figura 28** – Cromatogramas do óleo presente nas amostras de sedimento coletadas na unidade de simulação contaminado 3. A – Tempo 0. B – Tempo 4. C – tempo 8. D – Sobreposição dos cromatogramas referentes aos tempos 0 (azul), 4 (laranja) e 8 (verde)



Fonte: autor, 2017.

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são produtos do petróleo e produtos de combustão incompleta de hidrocarbonetos (PAQUIN et al., 2002), e como já foi discutido acima, representam uma das frações mais recalcitrantes presentes no óleo (KE et al., 2003; XU et al., 2014; REN et al., 2017). Estes compostos são bastante estudados por conta de seu potencial tóxico, e por apresentarem efeitos carcinogênicos e mutagênicos (IARC, 2010; SONG et al., 2012; FLORES-SERRANO et al., 2014).

A Agência Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA) considera o estudo prioritários de 16 HPAs, os quais foram determinados nas amostras de sedimento coletas nas unidades de simulação e encontram-se quantificados nas tabelas 6 a 11.

As unidades de simulação controles apresentaram valores de degradação total do somatório dos 16 HPAs avaliados muito similares entres si. No C01 (tabela 6; Figura 29), 72% do somatório dos HPAs determinados no início do experimento foram degradados no final. Na metade do experimento (T4 → 90 dias), que corresponde a fase de atenuação natural, houve um aumento no  $\Sigma$ HPAs, que é justificado pelo fato que de a medida que os microrganismos vão degradando o óleo, metabólitos vão sendo formados, acarretando na formação de novos HPAs (WANG et al., 2014; AZUBUIKE et al., 2016). Ao final da etapa de biorremediação, foi observado um acréscimo de 15% no  $\Sigma$ HPAs. Já a contribuição da etapa da fitorremediação na remoção desse contaminante foi de 76%, provando que a presença de mudas em sistemas de remediação facilita a degradação de compostos mais persistentes do óleo (OUVRARD et al., 2014; REN et al., 2017).

Alguns dos compostos presentes nos exsudatos de espécies vegetais são os compostos fenólicos. Os microrganismos presentes na rizosfera que são capazes de catabolizar esses compostos como fonte de carbono, geralmente apresentam enzimas que podem metabolizar contaminantes com estruturas de anéis aromáticos similares (CHAUDHRY et al., 2005). Os compostos fenólicos liberados pelas raízes das plantas podem resultar em crescimento seletivo de certos microrganismos, favorecendo o aumento da degradação de poluentes recalcitrantes como HPAs (REN et al., 2017).

As unidades C02 e C03 (tabelas 7 e 8; Figura 29) apresentaram taxas de degradação total do  $\Sigma$ HPAs de 76%, onde a contribuição da biorremediação na remoção foi de 32% e 38% e a da fitorremediação foi de 62% e 61%, respectivamente. Ao longo do tempo também foram observadas oscilações positivas no  $\Sigma$ HPAs, justamente por conta da formação de novos HPAs a partir da degradação do óleo.

Nas unidades contaminadas a degradação total do  $\Sigma$ HPAs se relacionou diretamente com as características físicas do ambiente em que o experimento foi montando. A unidade contaminada 1 estava posicionada próxima a uma janela, e, por conta disso, havia uma maior incidência de luz, o que pode favorecer o desenvolvimento das espécies vegetais.

Além disso, essa unidade estava mais distante do ar condicionado da sala de experimento, fazendo com que a temperatura do mesocosmo criado fosse mais propícia para o bioprocessamento. A taxa de degradação total do  $\Sigma$ HPAs nessa unidade foi de 93%, onde a contribuição da biorremediação foi de 74% e a contribuição da fitorremediação foi de 75% (tabela 9; Figura 30).

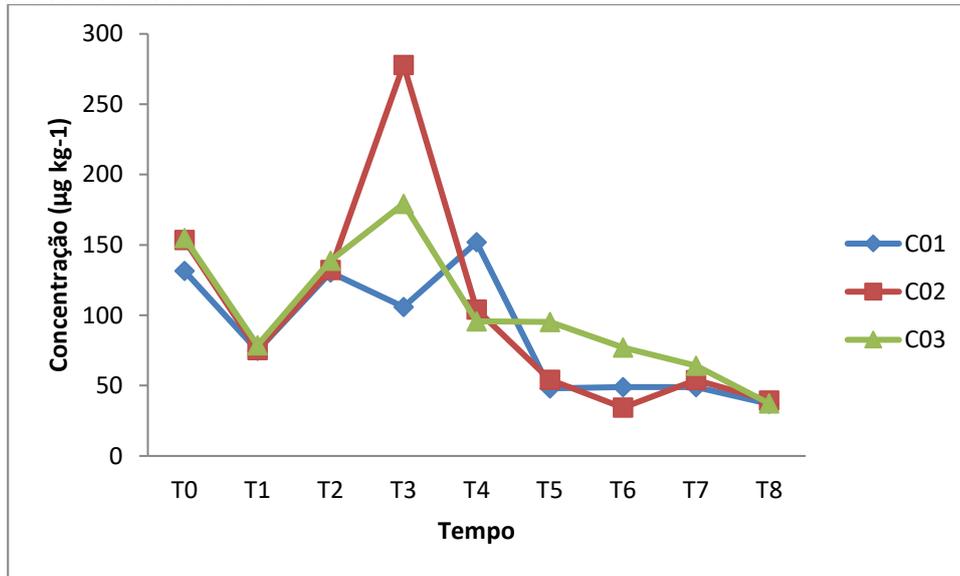
Observou-se, também, que a quantidade inicial do  $\Sigma$ HPAs nessa unidade foi muito destoante das outras unidades. Durante o processo de montagem do experimento é possível que tenha havido algum tipo de contaminação, acarretando na entrada de HPAs para o sistema. E por isso essa alta taxa de degradação atribuída a biorremediação nessa unidade.

Na unidade contaminada 2, a taxa de degradação total do  $\Sigma$ HPAs foi de 85%, sendo a contribuição da biorremediação de 49% e a da fitorremediação de 70% (tabela 10; Figura 30). E na unidade contaminada 3, localizada mais próximo do ar-condicionado e mais distante da janela, a degradação total foi de 65%, onde foi observado um aumento de 65% nos valores de HPAs na etapa 1 do experimento, novamente por conta da geração de metabólitos oriundos da degradação de hidrocarbonetos. A contribuição da etapa 2 na degradação foi de 78% (tabela 11; Figura 30). Ficou claro com esses resultados que a temperatura e a luminosidade são fatores limitantes para o bom funcionamento do sistema de remediação proposto.

Inúmeros estudos mostram que a fitorremediação e a biorremediação são metodologias eficientes para a remoção de HTPs e HPAs presentes em sedimentos contaminados. Contudo um grande impasse entre os pesquisadores da área é saber qual o real contribuição das espécies vegetais na degradação do óleo. Já está bem consolidado que existe uma maior remoção de contaminantes a partir da introdução de mudas no sistema de remediação, e os resultados obtidos nesse trabalho corroboram com essa hipótese. Porém não é possível afirmar se isso ocorre por conta da influência das plantas na seleção de microrganismos melhores adaptados para degradação de compostos orgânicos, ou se as espécies vegetais possuem, de fato, mecanismos capazes de extrair do sedimento e degradar os compostos orgânicos em sua estrutura interna (OUVRARD et al., 2014; WANG et al., 2014; AZUBUIKE et al., 2016; REN et al., 2017).

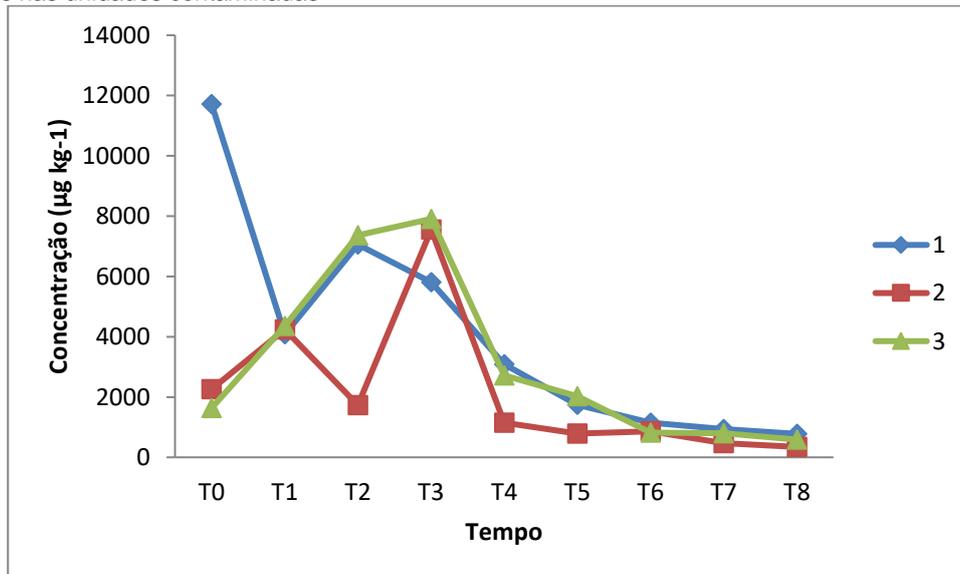
Para que fosse possível inferir qual a real contribuição das plantas no processo de degradação dos compostos orgânicos, seria necessário que fossem realizadas extrações de óleo nas raízes, nos caules e nas folhas das espécies vegetais e que fosse estudada a fisiologia das espécies escolhidas, para saber como o vegetal se comporta na presença do contaminante.

**Figura 29** – Variação no tempo da concentração do somatório de HPAs presentes nas amostras de sedimento coletadas nas unidades controles



Fonte: autor, 2017.

**Figura 30** – Variação no tempo da concentração do somatório de HPAs presentes nas amostras de sedimento coletadas nas unidades contaminadas



Fonte: autor, 2017.

**Tabela 6** – Quantificação dos 16 HPAs prioritários refere à unidade de simulação controle 1, ao longo do tempo

<b>HPA EM SEDIMENTO C01 (<math>\mu\text{g kg}^{-1}</math>)</b>									
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
<b>Naftaleno</b>	9,80	1,95	30,31	33,37	11,96	16,60	16,62	24,76	7,30
<b>Acenaftileno</b>	1,16	1,36	4,72	2,44	2,39	1,58	1,54	1,52	1,60
<b>Acenafteno</b>	0,15	0,29	2,30	2,83	1,80	<LQ	1,59	<LQ	1,60
<b>Fluoreno</b>	0,91	2,11	9,45	13,68	2,72	1,45	1,45	1,31	1,33
<b>Fenantreno</b>	3,29	4,27	9,79	18,84	5,55	1,79	1,46	1,54	1,82
<b>Antraceno</b>	1,23	<LQ	0,69	2,62	3,61	2,40	2,41	2,40	2,44
<b>Fluoranteno</b>	12,52	6,83	9,20	3,18	12,48	2,56	2,29	2,40	2,36
<b>Pireno</b>	14,59	8,50	11,17	4,16	13,71	3,08	2,55	2,82	2,76
<b>Benzo (a) antraceno</b>	6,49	3,64	4,18	2,59	8,34	2,36	2,13	1,91	2,18
<b>Criseno</b>	21,62	13,57	13,41	5,53	25,42	4,30	3,76	2,77	3,86
<b>Benzo (b) fluoranteno</b>	24,64	13,70	15,17	5,10	20,23	5,44	4,43	2,57	3,08
<b>Benzo (K) fluoranteno</b>	8,36	4,31	5,27	2,37	8,58	2,04	4,22	1,33	1,64
<b>Benzo (a) pireno</b>	6,42	3,08	3,97	1,99	7,31	1,63	1,58	1,39	1,42
<b>Indeno (123cd) pireno</b>	8,23	4,61	3,92	<LQ	6,15	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
<b>Dibenzo (ah) antraceno</b>	3,29	2,03	2,72	6,11	11,88	2,75	2,90	2,15	3,68
<b>Benzo (ghi) perileno</b>	8,86	4,64	4,26	1,15	9,78	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
<b><math>\Sigma</math></b>	<b>131,57</b>	<b>74,88</b>	<b>130,52</b>	<b>105,97</b>	<b>151,92</b>	<b>47,99</b>	<b>48,94</b>	<b>48,86</b>	<b>37,05</b>

**Tabela 7 –** Quantificação dos 16 HPAs prioritários refere à unidade de simulação controle 2, ao longo do tempo

<b>HPA EM SEDIMENTO C02 (<math>\mu\text{g kg}^{-1}</math>)</b>									
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
<b>Naftaleno</b>	11,69	4,47	16,03	38,48	3,02	19,84	1,74	24,25	10,10
<b>Acenaftileno</b>	1,39	1,34	5,19	8,29	2,00	1,73	1,59	1,65	1,61
<b>Acenafteno</b>	0,13	<LQ	2,73	5,07	1,62	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
<b>Fluoreno</b>	1,09	1,26	5,38	39,28	2,16	1,60	1,55	1,43	1,40
<b>Fenantreno</b>	3,81	3,45	7,38	58,91	3,37	1,99	1,95	1,77	1,98
<b>Antraceno</b>	1,47	<LQ	2,66	4,12	3,08	2,57	2,60	2,52	2,46
<b>Fluoranteno</b>	13,96	6,89	7,12	10,13	7,70	3,54	3,17	3,06	2,98
<b>Pireno</b>	17,14	8,27	8,87	12,31	9,15	4,03	3,63	3,53	3,19
<b>Benzo (a) antraceno</b>	6,51	4,63	5,56	7,60	6,25	2,49	2,15	2,21	2,38
<b>Criseno</b>	26,18	11,59	14,16	22,05	16,93	4,64	3,61	3,68	3,86
<b>Benzo (b) fluoranteno</b>	28,27	13,27	15,92	18,11	13,55	4,43	4,73	3,19	2,90
<b>Benzo (K) fluoranteno</b>	10,55	4,74	6,40	8,17	6,69	2,13	2,17	1,84	1,81
<b>Benzo (a) pireno</b>	6,48	3,36	5,48	6,13	4,63	1,71	1,58	1,70	1,54
<b>Indeno (123cd) pireno</b>	10,15	4,24	5,03	6,71	4,34	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
<b>Dibenzo (ah) antraceno</b>	3,71	2,91	15,53	22,25	13,41	3,53	3,87	3,14	3,14
<b>Benzo (ghi) perileno</b>	11,03	4,75	8,80	10,38	6,28	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
<b><math>\Sigma</math></b>	<b>153,56</b>	<b>75,18</b>	<b>132,24</b>	<b>277,99</b>	<b>104,16</b>	<b>54,21</b>	<b>34,33</b>	<b>53,96</b>	<b>39,35</b>

**Tabela 8** – Quantificação dos 16 HPAs prioritários refere à unidade de simulação controle 3, ao longo do tempo

<b>HPA EM SEDIMENTO C03 (<math>\mu\text{g kg}^{-1}</math>)</b>									
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
<b>Naftaleno</b>	11,75	<LQ	17,04	27,80	6,80	7,96	35,79	33,15	8,94
<b>Acenaftileno</b>	1,42	1,34	4,22	5,83	1,96	1,96	1,78	1,63	1,69
<b>Acenafteno</b>	0,17	<LQ	3,91	5,76	1,70	1,62	1,66	<LQ	<LQ
<b>Fluoreno</b>	0,90	1,56	4,86	30,11	1,85	2,03	1,88	1,59	1,37
<b>Fenantreno</b>	3,88	3,82	8,36	42,23	3,35	4,23	2,27	2,25	1,73
<b>Antraceno</b>	2,00	<LQ	3,24	3,44	2,99	3,03	2,74	2,47	2,49
<b>Fluoranteno</b>	13,27	7,82	9,15	4,61	6,98	8,20	4,25	3,28	2,92
<b>Pireno</b>	16,46	8,72	10,27	6,32	8,21	8,53	4,78	3,93	3,36
<b>Benzo (a) antraceno</b>	7,64	5,56	4,94	3,45	5,25	5,49	2,66	2,30	2,23
<b>Criseno</b>	28,09	15,10	16,29	9,69	15,23	13,30	5,91	4,16	3,74
<b>Benzo (b) fluoranteno</b>	27,76	13,68	14,19	9,43	11,59	11,98	4,50	3,56	2,90
<b>Benzo (K) fluoranteno</b>	10,47	4,41	5,06	5,02	5,48	4,66	2,45	1,96	1,58
<b>Benzo (a) pireno</b>	6,55	3,10	3,93	2,96	4,27	3,83	2,04	1,71	1,66
<b>Indeno (123cd) pireno</b>	9,59	5,86	4,70	2,37	3,16	3,25	<LQ	<LQ	<LQ
<b>Dibenzo (ah) antraceno</b>	4,31	2,75	20,57	16,43	11,65	11,05	3,99	2,08	2,76
<b>Benzo (ghi) perileno</b>	10,67	4,96	8,15	3,84	5,23	4,05	0,40	<LQ	<LQ
$\Sigma$	<b>154,91</b>	<b>78,68</b>	<b>138,87</b>	<b>179,27</b>	<b>95,69</b>	<b>95,17</b>	<b>77,09</b>	<b>64,08</b>	<b>37,37</b>

**Tabela 9** – Quantificação dos 16 HPAs prioritários refere à unidade de simulação contaminado 1, ao longo do tempo

<b>HPA EM SEDIMENTO 1 (<math>\mu\text{g kg}^{-1}</math>)</b>									
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
<b>Naftaleno</b>	383,70	101,80	357,64	386,96	195,01	106,44	96,96	35,87	32,41
<b>Acenaftileno</b>	12,51	28,49	89,78	38,85	24,80	19,22	14,70	14,95	8,09
<b>Acenafteno</b>	136,05	27,05	134,82	50,31	60,31	52,61	36,69	33,45	44,90
<b>Fluoreno</b>	1159,38	454,80	556,60	412,62	339,33	211,39	112,93	135,44	159,33
<b>Fenantreno</b>	8386,89	2846,14	3800,66	2828,59	1781,71	938,30	565,31	469,33	172,50
<b>Antraceno</b>	202,80	67,68	72,03	38,35	35,07	23,51	16,20	16,90	19,23
<b>Fluoranteno</b>	61,28	25,67	37,60	24,75	11,37	13,72	3,87	6,41	12,20
<b>Pireno</b>	645,36	263,94	290,68	315,71	138,62	67,38	52,03	42,08	52,24
<b>Benzo (a) antraceno</b>	90,80	33,14	112,95	84,12	31,78	22,34	17,69	10,94	17,04
<b>Criseno</b>	100,22	73,18	1163,47	1137,00	334,07	196,89	158,48	116,02	179,61
<b>Benzo (b) fluoranteno</b>	117,77	68,52	21,64	17,50	7,69	4,86	4,17	3,59	5,60
<b>Benzo (K) fluoranteno</b>	34,39	18,12	5,47	5,61	29,64	21,64	16,61	13,01	18,64
<b>Benzo (a) pireno</b>	279,66	70,19	270,12	318,79	78,20	48,88	39,10	29,73	41,97
<b>Indeno (123cd) pireno</b>	47,61	<LQ	49,14	31,70	2,07	0,94	<LQ	<LQ	<LQ
<b>Dibenzo(ah)antraceno</b>	26,05	2,77	6,66	26,75	5,05	2,28	5,27	3,82	7,31
<b>Benzo (ghi) perileno</b>	28,20	4,92	86,65	86,30	12,03	7,71	6,33	4,84	7,14
<b><math>\Sigma</math></b>	<b>11712,65</b>	<b>4086,41</b>	<b>7055,92</b>	<b>5803,93</b>	<b>3086,77</b>	<b>1738,10</b>	<b>1146,35</b>	<b>936,37</b>	<b>778,22</b>

**Tabela 10** – Quantificação dos 16 HPAs prioritários refere à unidade de simulação contaminado 2, ao longo do tempo

<b>HPA EM SEDIMENTO 2 (<math>\mu\text{g kg}^{-1}</math>)</b>									
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
<b>Naftaleno</b>	86,02	210,13	125,98	591,55	95,75	41,91	44,76	13,83	16,87
<b>Acenaftileno</b>	9,30	27,50	15,85	55,42	12,54	11,08	9,53	7,77	7,47
<b>Acenafteno</b>	26,66	33,15	24,65	73,64	24,20	9,70	28,04	18,18	7,95
<b>Fluoreno</b>	260,02	461,97	166,22	724,63	144,52	100,73	98,65	65,47	57,90
<b>Fenantreno</b>	1482,43	2802,46	971,51	3602,71	679,03	382,44	428,03	212,93	39,92
<b>Antraceno</b>	36,18	87,64	23,03	77,89	18,23	11,89	12,82	8,45	9,20
<b>Fluoranteno</b>	19,75	64,72	12,76	33,78	6,76	6,81	3,04	8,07	5,22
<b>Pireno</b>	123,70	260,80	67,82	395,03	58,56	33,29	48,53	27,60	25,38
<b>Benzo (a) antraceno</b>	16,25	36,36	26,49	115,07	15,42	13,94	13,83	8,02	61,52
<b>Criseno</b>	29,21	73,63	209,52	1336,83	18,27	113,31	120,77	64,72	75,47
<b>Benzo (b) fluoranteno</b>	9,39	75,68	4,17	21,43	4,86	11,87	3,96	2,68	2,96
<b>Benzo (K) fluoranteno</b>	38,73	17,44	20,19	7,92	18,43	12,41	10,48	8,72	8,24
<b>Benzo (a) pireno</b>	112,05	82,82	49,17	351,94	44,60	31,25	30,53	18,46	19,95
<b>Indeno (123cd) pireno</b>	1,74	<LQ	0,84	38,28	<LQ	1,37	<LQ	0,81	<LQ
<b>Dibenzo (ah) antraceno</b>	4,07	2,89	2,41	34,40	4,38	2,01	4,00	3,52	3,78
<b>Benzo (ghi) perileno</b>	2,92	5,51	9,65	92,70	7,89	4,93	5,02	2,79	2,92
<b><math>\Sigma</math></b>	<b>2258,40</b>	<b>4242,71</b>	<b>1730,26</b>	<b>7553,23</b>	<b>1153,45</b>	<b>788,93</b>	<b>862,01</b>	<b>472,02</b>	<b>344,74</b>

**Tabela 11** – Quantificação dos 16 HPAs prioritários refere à unidade de simulação contaminado 3, ao longo do tempo

<b>HPA EM SEDIMENTO 3 (<math>\mu\text{g kg}^{-1}</math>)</b>									
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
<b>Naftaleno</b>	69,52	159,36	324,88	430,34	140,57	104,14	49,58	23,10	22,18
<b>Acenaftileno</b>	15,22	26,80	97,52	44,05	20,04	19,43	7,92	12,44	10,75
<b>Acenafteno</b>	40,04	26,85	135,41	55,60	34,82	26,12	23,61	13,51	11,38
<b>Fluoreno</b>	182,91	356,55	639,36	560,89	296,30	255,64	82,35	108,89	103,38
<b>Fenantreno</b>	1054,51	2353,39	3964,05	3810,68	1626,16	1118,14	420,02	394,23	194,62
<b>Antraceno</b>	23,09	47,33	91,32	73,51	41,01	27,99	13,07	13,78	13,02
<b>Fluoranteno</b>	5,31	20,22	22,42	44,18	12,30	18,00	4,90	7,19	3,76
<b>Pireno</b>	98,90	266,70	338,89	515,53	133,40	100,18	41,62	43,61	38,81
<b>Benzo (a) antraceno</b>	11,04	61,94	107,42	185,46	20,57	20,84	14,41	11,24	13,05
<b>Criseno</b>	22,47	819,85	1206,29	1827,13	283,46	227,10	111,94	122,79	120,65
<b>Benzo (b) fluoranteno</b>	9,59	78,44	20,99	37,85	6,90	6,92	3,75	3,34	5,57
<b>Benzo (K) fluoranteno</b>	29,14	15,45	5,03	12,20	24,43	24,48	11,23	11,05	11,61
<b>Benzo (a) pireno</b>	69,49	110,70	274,92	110,22	64,63	58,50	27,00	27,21	30,95
<b>Indeno (123cd) pireno</b>	0,65	2,65	45,97	47,66	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
<b>Dibenzo (ah) antraceno</b>	5,90	2,90	3,94	43,19	2,84	7,21	2,71	3,41	3,57
<b>Benzo (ghi) perileno</b>	2,02	5,13	81,06	110,22	12,89	9,44	4,11	4,12	5,03
<b><math>\Sigma</math></b>	<b>1639,80</b>	<b>4354,26</b>	<b>7359,47</b>	<b>7908,71</b>	<b>2720,33</b>	<b>2024,12</b>	<b>818,23</b>	<b>799,92</b>	<b>588,32</b>

#### 4.3.6 Modificações morfológicas da espécie *Rhizophora mangle* na presença de sedimento contaminado por óleo

O monitoramento das mudas da espécie *Rhizophora mangle* encontra-se nas figuras 31 a 37. Observou-se que as mudas de mangue dessa espécie são resistentes a presença de óleo no sedimento, já que não houve decréscimo significativo na biomassa das raízes e dos caules das espécies vegetais, ao longo do tempo; na altura das mudas; nem no diâmetro da base do caule.

Com o passar do tempo, notou-se que, nas unidades contaminadas, as folhas caíam com mais frequência que nas unidades controles, motivo pelo qual a biomassa das folhas e os seus comprimentos e larguras máximas tiveram uma diferença significativa entre as unidades controles e as contaminadas, *vide* figuras 31, 36 e 37. Notou-se também que os caules tornavam-se mais amarelados. Porém não foram observadas mortes das mudas em nenhuma das unidades e foi visto que os brotos continuavam a se formar tanto nos aquários controles quanto nos contaminados.

Em estudos com outras espécies de mangues, constatou-se que a biomassa e os índices de crescimento das espécies vegetais sofriam redução por conta da presença de hidrocarbonetos no sedimento, com o passar do tempo (ZHANG et al., 2007; KE et al., 2011; WANG et al., 2014; REN et al., 2017). A justificativa para tal fato é que plantas são mais sensíveis aos hidrocarbonetos de baixo peso molecular, que são solúveis e podem se difundir facilmente através da membrana plasmática e entrar nos tecidos das mesmas. Além disso, esses contaminantes poderiam reduzir a água e os nutrientes disponíveis para plantas em um substrato poluído, levando a um declínio no rendimento da planta (REILLEY et al., 1996; REN et al., 2017).

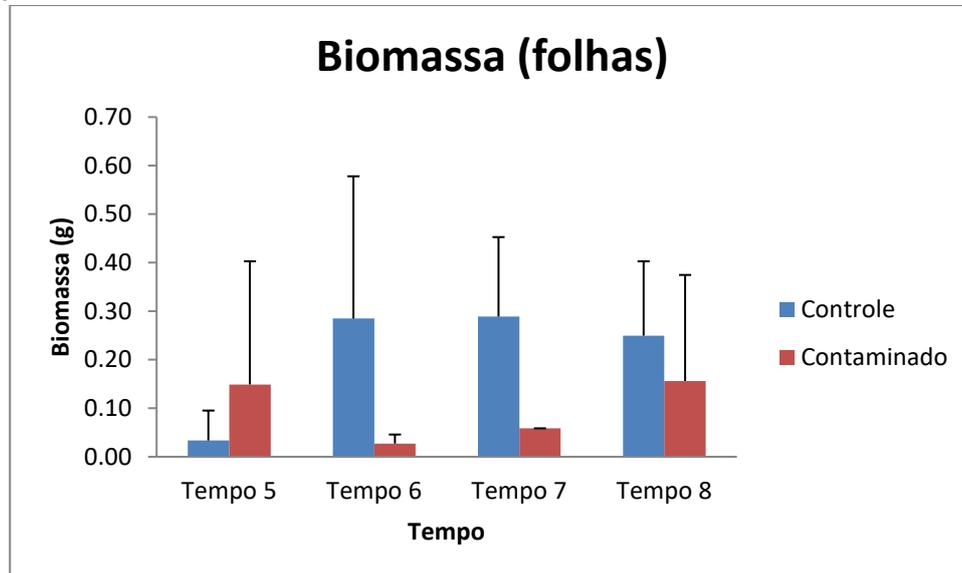
Porém, as espécies de mangues neste estudo só foram plantadas no tempo 4, decorridos 90 dias de experimento. As frações com menores pesos moleculares do petróleo já haviam sido, em sua maioria, degradadas pelos microrganismos, na fase de atenuação natural. Por conta disso, não houve mudanças significativas nos índices avaliados entre as unidades controles e as unidades contaminadas.

Esses resultados estão de acordo com os resultados encontrados por Moreira (2011) e por Silva (2016), onde eles também observaram que a *Rhizophora mangle* possui certa tolerância a contaminação orgânica, devendo possuir mecanismos que blindam as mesmas contra os efeitos adversos do óleo presente em sedimentos de manguezal, fazendo com que elas sejam capazes de auxiliar na degradação da fração mais recalcitrante do óleo.

Este é um dado importante, pois a *Rhizophora mangle* é uma das três espécies de mangue encontradas no litoral brasileiro, por isso sua resistência a contaminação por petróleo faz com que a tecnologia desenvolvida pelo presente trabalho se torne uma

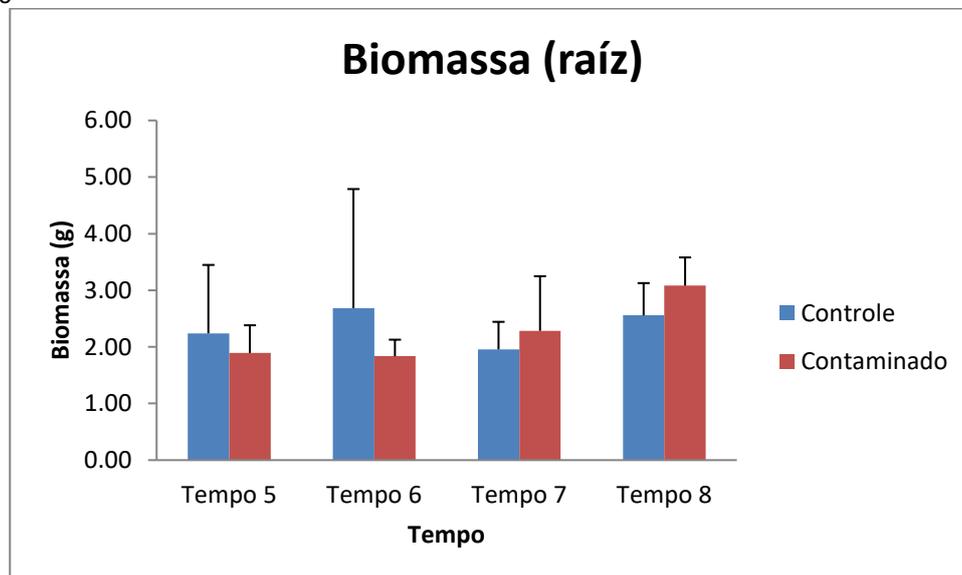
ferramenta totalmente aplicável aos manguezais que por ventura venham a ser contaminados por petróleo e seus derivados.

**Figura 31** – Biomassa média das folhas presentes nas unidades contaminadas e unidades controles, ao longo do tempo



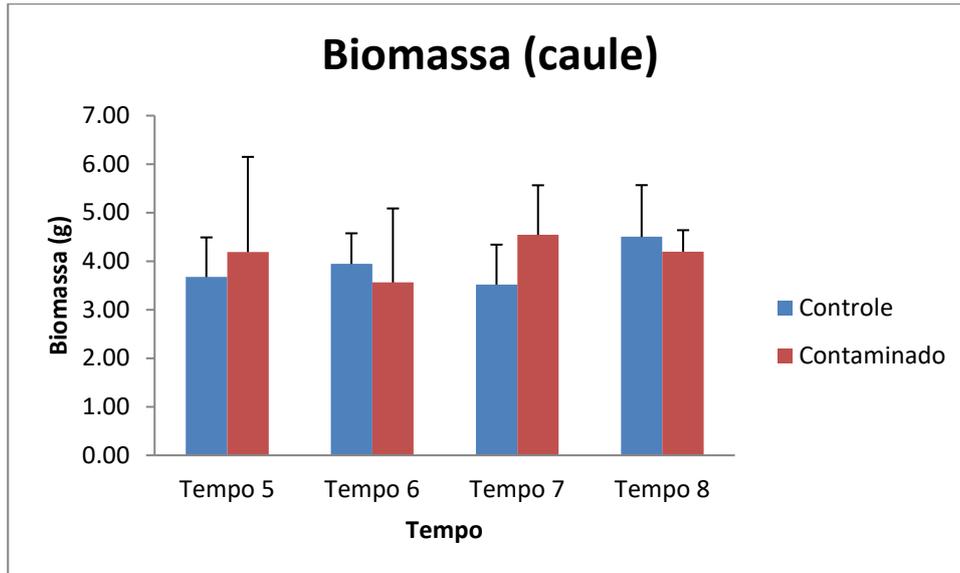
Fonte: autor, 2017.

**Figura 32** – Biomassa média das raízes presentes nas unidades contaminadas e unidades controles, ao longo do tempo



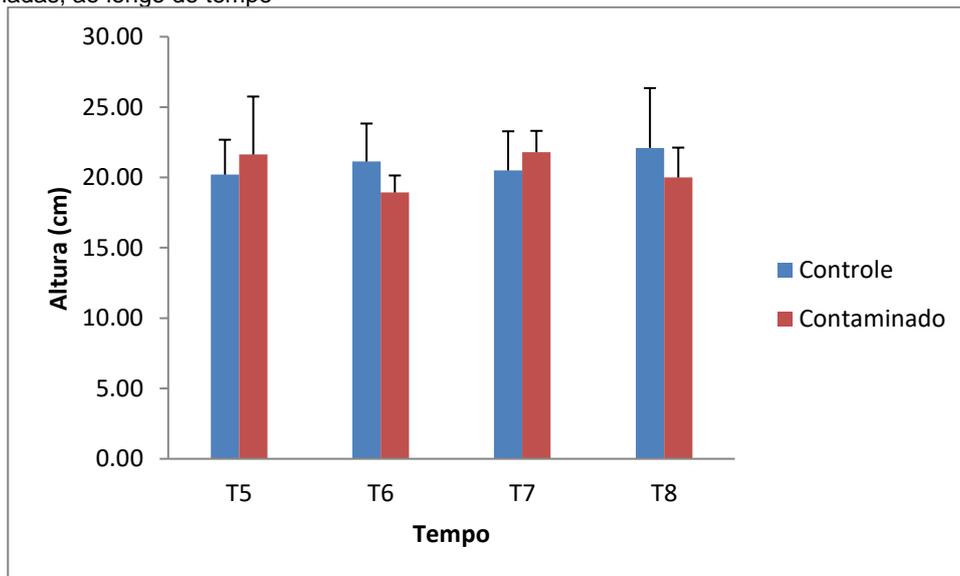
Fonte: autor, 2017.

**Figura 33** – Biomassa média dos caules presentes nas unidades contaminadas e unidades controles, ao longo do tempo



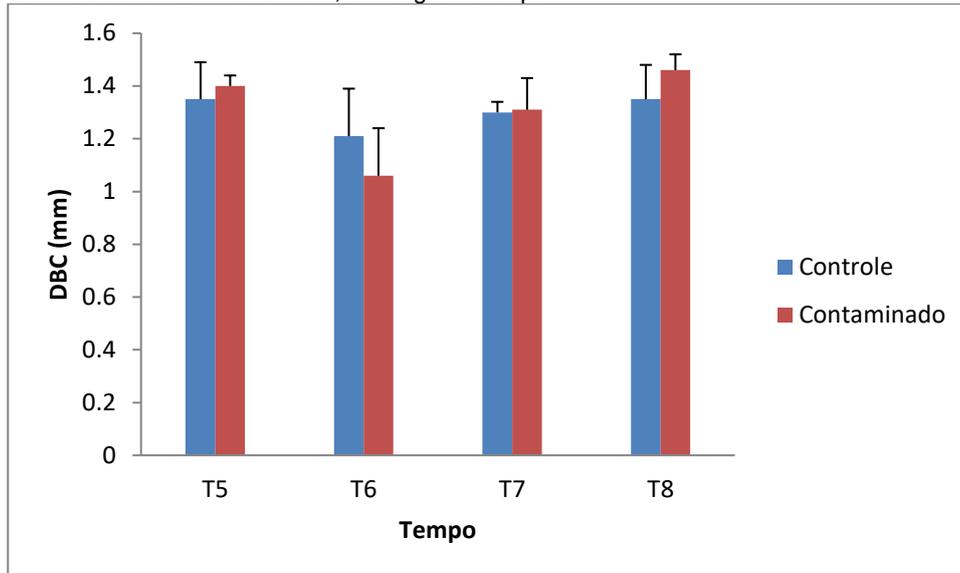
Fonte: autor, 2017.

**Figura 34** – Altura média das espécies de mangue presentes nas unidades controles e nas unidades contaminadas, ao longo do tempo



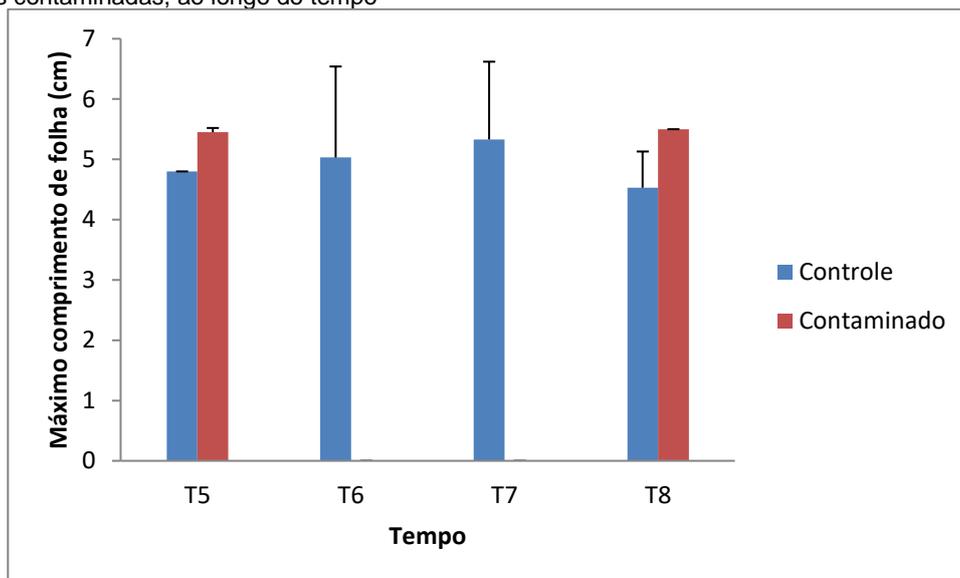
Fonte: autor, 2017.

**Figura 35** – Média do diâmetro da base do caule (DBC) das espécies de mangue presentes nas unidades controles e nas unidades contaminadas, ao longo do tempo



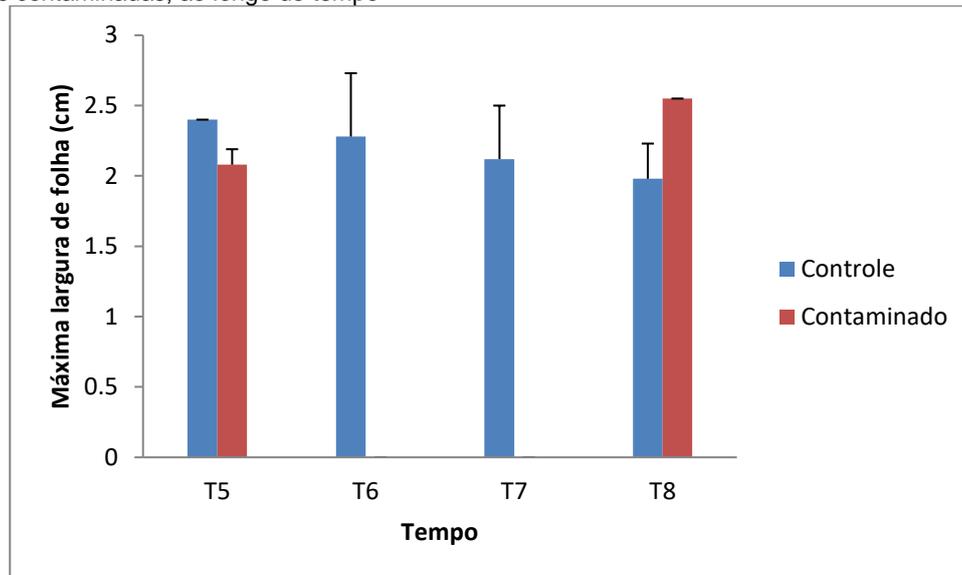
Fonte: autor, 2017.

**Figura 36** – Comprimentos médios das folhas das espécies de mangue presentes nas unidades controles e nas unidades contaminadas, ao longo do tempo



Fonte: autor, 2017.

**Figura 37** – Larguras médias das folhas das espécies de mangue presentes nas unidades controles e nas unidades contaminadas, ao longo do tempo



Fonte: autor, 2017.

#### 4.4 CONCLUSÕES

Este estudo foi conduzido a fim de investigar a remediação de HTPs e HPAs em sedimentos de manguezal, com o intuito de contribuir com o desenvolvimento de uma tecnologia mais eficiente, de fácil aplicação e de baixo custo, como é o caso do bioprocessamento.

Ao final do experimento, constatou-se que a aplicação sequenciada das técnicas de biorremediação e fitorremediação foi eficiente na remoção dos HTPs e HPAs presentes em sedimentos de manguezal.

O monitoramento do crescimento de microrganismos presentes no sedimento não resultou em respostas contundentes, visto que houve muita oscilação no crescimento das colônias, não sendo possível relacioná-las com nenhum dos parâmetros geoquímicos avaliados.

A resposta morfológica das plantas indicou que a toxicidade do petróleo não interferiu no crescimento das mesmas, indicando que a *Rhizophora mangle* é uma espécie tolerante aos hidrocarbonetos e que elas possuem um papel de enorme importância na degradação dos compostos mais recalcitrantes do petróleo.

#### AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi financiada pelo projeto MCTI/CNPq/CT-BIOTEC, de número 30/2013, intitulado "Desenvolvimento de multibioprocessamento de remediação aplicável em áreas costeiras impactadas por atividades petrolíferas". As análises foram realizadas no Centro de

Excelência em Geoquímica do Petróleo da Universidade Federal da Bahia em conjunto com o Laboratório de Geoquímica Marinha da Universidade Federal da Bahia.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## **5 CONCLUSÃO GERAL**

Para se ter uma visão mais holística do funcionamento e dos mecanismos que regem o bioprocesso desenvolvido nesse trabalho sugere-se que pesquisas futuras realizem a identificação e o isolamento das bactérias capazes de degradar composto de petróleo, para que o bioprocesso seja aprimorado. Sugere-se também que sejam realizadas extrações de óleo nas raízes, nos caules e nas folhas das espécies vegetais, para que seja possível afirmar qual a real contribuição das plantas no processo de degradação dos compostos orgânicos. Recomenda-se que seja feito um estudo da fisiologia vegetal da espécie utilizada, com o intuito de entender os processos que os contaminantes podem exercer sobre os tecidos vegetais. E por fim, recomenda-se que os exsudatos liberados pelas raízes sejam identificados e avaliados.

## 6 REFERÊNCIAS

- AITKEN, C.M.; HEAD, I.M.; JONES, D.M.; ROWLAND, S.J.; SCARLETT, A.G.; WEST, C.E. Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry of complex mixtures of anaerobic bacterial metabolites of petroleum hydrocarbons. **Journal of Chromatography A**, v. 1536, p. 1–40, jun. 2017.
- ATLAS, R.M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. **Microbiology**, v. 45, p. 180–209, 1981.
- AZUBUIKE, C.C.; CHIKERE, C.B.; OKPOKWASILI, G.C. Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, p. 1–18, set. 2016.
- BAHIA. Centro de Recursos Ambientais. **Avaliação da qualidade das águas costeiras da Baía de Todos os Santos**: Relatório técnico. Salvador: CRA, 2002.
- BAHIA. Centro de Recursos Ambientais. **Diagnóstico do grau de contaminação da Baía de Todos os Santos por metais pesados e hidrocarbonetos de petróleo a partir da análise das suas concentrações nos sedimentos de fundo e na biota associada: relatório do diagnóstico da concentração de metais pesados e hidrocarbonetos de petróleo nos sedimentos e biota na BTS, I, II, III, IV**. Salvador: CRA, 2004.
- BAHIA. Superintendência de Desenvolvimento Industrial e Comercial. **Estudo de Impacto Ambiental e Relatório de Impacto Ambiental (EIA/RIMA) do Estaleiro do Paraguaçu**: meio físico. Salvador: SEDIC, 2009.
- BALBA, M.T.; AL-AWADHI, N.; AL-DAHER, R. Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 32, p. 155-164, jun. 1998.
- BENTO, D. M. **Análise Química da Degradação dos Hidrocarbonetos de Óleo Diesel no Estuário da Lagoa dos Patos – Rio Grande/RS**. 112f. 2005. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica) – Departamento de Geociências, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2005.
- BRASIL. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Bacia de Campos**: sumário geológico e setores em oferta. Disponível em: [http://rodadas.anp.gov.br/arquivos/Round\\_13/areas\\_oferecidas\\_r13/Sumarios\\_Geologicos/Sumario\\_Geologico\\_Bacia\\_Campos\\_R13.pdf](http://rodadas.anp.gov.br/arquivos/Round_13/areas_oferecidas_r13/Sumarios_Geologicos/Sumario_Geologico_Bacia_Campos_R13.pdf). 2015. Acesso em: 20 set. 2017.
- CAI, B.; MA, J.; YAN, G.; DAI, X.; LI, M.; GUO, S. Comparison of phytoremediation, bioaugmentation and natural attenuation for remediating saline soil contaminated by heavy crude oil. **Biochemical Engineering Journal**, v. 112, p. 170–177, ago. 2016.
- CALIXTO, E. **Contribuições para plano de contingência para derramamento de petróleo e derivados no Brasil**. 301f. 2011. Tese (Doutorado em Planejamento Energético) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

CARVALHO, M. **Mapeamento da sensibilidade ao impacto por óleo de um segmento da costa entre os estados do Rio Grande do Norte e Ceará utilizando imagens ETM+/LANDSAT 7 e geoprocessamento.** 186f. 2003. Dissertação (Mestrado em Sensoriamento Remoto) – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, 2003.

CETESB – COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Aspectos físicos e químicos do óleo.** Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/gerenciamento-de-ricos/vazamento-de-oleo/222-aspectos-fisico-quimicos>. 2005. Acesso em: 03 abr. 2016.

CHAUDHRY, Q.; BLOM-ZANDSTRA, M.; GUPTA, S.; JONER, E.J. Utilizing the synergy between plants and rhizosphere microorganisms to enhance breakdown of organic pollutants in the environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 12, p. 34–48, jan. 2005.

CHEN, F., TAN, M., MA, J., ZHANG, S., LI, G., QU, J. Efficient remediation of PAH-metal co-contaminated soil using microbial-plant combination: A greenhouse study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 302, p. 250–261, 2016.

CICCILLO, F.; FIORE, A.; BEVIVINO, A.; DALMASTRI, C.; TABLACCHIONI, S.; CHIARINI, L. Effects of two different application methods of *Burkholderia ambifaria* MCI 7 on plant rhizospheric bacterial diversity. **Environmental Microbiology**, v. 4, p. 238–245, 2002.

COIMBRA, M.A.C. **Avaliação dos resultados analíticos de hidrocarbonetos como instrumento jurídico em caso de derrames de petróleo:** mangue de Bertioga. 110f. 2006. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Química e Geológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

DASHTI, N.; ALI, N.; KHANAFER, M.; AL-AWADHI, H; SORKHOH, N; RADWAN, S. Olive-pomace harbors bacteria with the potential for hydrocarbon-biodegradation, nitrogen-fixation and mercury-resistance: Promising material for waste-oil-bioremediation. **Journal of Environmental Management**, v. 155, p. 49–57, 2015.

DICKSON, A.; LEAF, A.L.; HOSNER, J.F. **Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries.** *Forestry Chronicle*, v. 36, p. 10–13, 1960.

DOUGLAS, G.S.; OWENS, E.H.; HARDENSTINE, J.H.; PRINCE, R. The OSSA II Pipeline Oil Spill: the Character and Weathering of the Spilled Oil. **Spill Science & Technology Bulletin**, v. 7, p. 135–148, nov. 2002.

FAKSNESS, L.G.; BRANDVIK, P.J. Distribution of water soluble components from Arctic marine oil spills – a combined laboratory and field study. **Cold Regions Science and Technology**, v. 54, p. 97–105, abr. 2008.

FERNANDEZ-BAYO, J.D.; NOGALES, R.; ROMERO, E. Evaluation of the sorption process for imidacloprid and diuron in eight agricultural soils from southern Europe using various kinetic models. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 5266–5272, 2008.

FLORES-SERRANO, R.M.; ITURBE-ARGÜELLES, R.; PÉREZ-CASIMIRO, G.; RAMÍREZ-GONZÁLEZ, A.; FLORES-GUIDO, J.S.; KATÚN-BALAM, J.M. Ecological risk assessment for small omnivorous mammals exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons: A case study in northeastern Mexico. **Science of the Total Environment**, v. 476, p. 218–227, ago. 2014.

FRENZEL, M.; SCARLETT, A.; ROWLAND, S.J.; GALLOWAY, T.S.; BURTON, S.K.; LAPPIN-SCOTT, H.; BOOTH, A.M. Complications with remediation strategies involving the biodegradation and detoxification of recalcitrant contaminant aromatic hydrocarbons. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 4093–4101, set. 2010.

GERHARDT, K.E.; HUANG, X.; GLICK, B.; GREENBERG, B. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. **Plant Science**, v. 176, p. 20–30, jan. 2009.

GREENBERG, B.M. Development and field tests of a multi-process phytoremediation system for decontamination of soils. **Canadian Reclamation**, v. 1, p. 27–29, jan. 2006.

HAIDER, K. Microbe-soil-organic contaminant interactions. Em: ADRIANO, D.C. *et al.* (Ed). **Bioremediation of contaminated soils**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, 1999. p. 33-51.

HATJE, V.; ANDRADE, J.B. **Baía de Todos os Santos: aspectos oceanográficos**. 2. ed. Salvador: Edefba, 2009. 304 p.

HUANG, X.D.; EL-ALAWI, Y.; PENROSE, D.M.; GLICK, B.R.; GREENBERG, B.M. A multi-process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils. **Environmental Pollution**, v. 130, p. 465–476, ago. 2004.

HUNT, R. **Plant growth curves: the functional approach to plant growth analysis**. London: Edward Arnold, 1982.

IARC – INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures**. Disponível em: <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono92.pdf>. Acesso em 10 jul. 2016.

ITOPF – INTERNATIONAL TANKER OWNERS POLLUTION FEDERATION LIMITED. **The sea empress oil spill: environmental impact and recovery**. London, United Kingdom. Disponível em: <http://www.itopf.com/dispersa.html>. Acesso em: 03 jun. 2017.

JESUS, R.S. **Metais traço em sedimentos e no molusco bivalve *Anomalocardia brasiliana* (GMELIN, 1791), municípios de Madre de Deus e de Saubara, Bahia**. 101f. 2011. Dissertação (Mestrado em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente) – Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, 2011.

KANJILAL, B. Enhanced Marine Oil Spill Response Regime for Southern British Columbia, Canada. **Aquatic Procedia**, v. 3, p. 74–84, mar. 2015.

KE, L.; WANG, W.Q.; WONG, T.W.Y.; WONG, Y.S.; TAM, N.F.Y. Removal of pyrene from contaminated sediments by mangrove microcosms. **Chemosphere**, v. 51, p. 25–34, abr. 2003.

KE, L.; ZHANG, C.; WONG, Y.S.; TAM, N.F.Y. Dose and accumulative effects of spent lubricating oil on four common mangrove plants in South China. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 74, p. 55–66, jan. 2011.

KHELIFA, A.; STOFFYN-EGLI, P.; HILL, P.S.; LEE, K. Characteristics of oil droplets stabilized by mineral particles: effect of oil types and temperature. **Spill Science and Technology Bulletin**, v. 8, p. 3–8, fev. 2002.

KRONBAUER, M.L. **Uso da bioaumentação para remediação de solos contaminados por óleo diesel. (Santa Cruz do Sul, Brasil)**. 102f. 2014. Dissertação (Mestrado em Gestão e Tecnologia Ambiental) – Universidade de Santa Cruz do Sul, 2014.

KUIPER I.; LAGENDIJK, E.L.; BLOEMBERG, G.V.; LUGTENBERG, B.J. Rhizoremediation: A beneficial plant-microbe interaction. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 17, p. 6–15, jan. 2004.

KUMAR, A.G.; VIJAYAKUMAR, L.; JOSHI, G.; PETER, D.M.; DHARANI, G.; KIRUBAGARAN, R. Biodegradation of complex hydrocarbons in spent engine oil by novel bacterial consortium isolated from deep sea sediment. **Bioresource Technology**, v. 170, p. 556–564, out. 2014.

LANDI, L.; VALORI, F.; ASCHER, J.; RENELLA, G.; FALCHINI, L.; NANNIPIERI, P. Root exudate effects on the bacterial communities, CO<sub>2</sub> evolution, nitrogen transformations and ATP content of rhizosphere and bulk soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, p. 509–516, jan. 2006.

LIEBEG, E. W.; CUTRIGHT, T.J. The investigation of enhanced bioremediation through the addition of macro and micro nutrients in a PAH contaminated soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 44, p. 55–64, jan. 1999.

LIMA, D.F. **Biorremediação em sedimentos impactados por petróleo na Baía de Todos os Santos, Bahia: avaliação da degradação de hidrocarbonetos saturados**. 234f. 2010. Dissertação (Mestrado em Geologia) – Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, 2010.

MARCHAL, R.; PENET, S.; SOLANO-SERENA, F.; VANDECASTEE, J. P. Gasoline and diesel oil biodegradation. **Oil & Gas Science Technology**, v. 58, p. 441–448, 2004.

MARIANO, A.P. **Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel**. 162f. 2006. Tese (Doutorado em Meio Ambiente) – Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2006.

MCCARTHY, K; ROJAS, K; NIEMANN, M; PALMOWSKI, D.; PETERS, K; STANKIEWICZ, A. Basic petroleum geochemistry for source rock evaluation. **Oilfield review summer**, v. 23, p. 1–12, jun, 2011.

MILAZZO, A.D.D. **Biodisponibilidade e bioconcentração de metais em ecossistema manguezal do estuário do rio São Paulo, Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil**. 87f. 2011. Dissertação (Mestrado em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente) – Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, 2011.

MMA – MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Atlas de sensibilidade ambiental ao óleo da Bacia Marítima de Santos**. Brasília, 2007.

MOREIRA, I.T.A. **Avaliação da eficiência de modelos de remediação aplicados em sedimentos de manguezal impactados por atividades petrolíferas**. 163f. 2011. Dissertação (Mestrado em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente) – Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, 2011.

MOREIRA, I.T.A.; OLIVEIRA, O. M.C.; TRIGUIS, J.A.; SANTOS, A.M.P.; QUEIROZ, A.F.S.; FERREIRA, S.L.C.; MARTINS, C.M.S.; SILVA, A.C.M.; FALCÃO, B.A. Phytoremediation in mangrove sediments impacted by persistent total petroleum hydrocarbons (TPH's) using *Avicennia schaueriana*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 67, p. 130–136, jan. 2013.

MULABAGAL, V. F.; YIN, G.F.; JOHN, J.S.; HAYWORTH, T.P.; CLEMENT. Chemical fingerprinting of petroleum biomarkers in Deepwater Horizon oil spill samples collected from Alabama shoreline. **Marine Pollution Bulletin**, v. 70, p. 147–154, jan. 2013.

OLIVEIRA, V.; GOMES, N.C.M.; ALMEIDA, A.; SILVA, A.M.S.; SILVA, H.; CUNHA, A. Microbe-Assisted Phytoremediation of Hydrocarbons in Estuarine Environments. **Microbial Ecology**, v. 69, p. 1–12, jul. 2014.

OUVRARD, S.; LEGLIZE, P.; MOREL, J. L. PAH Phytoremediation: Rhizodegradation or Rhizoattenuation?. **International Journal of Phytoremediation**, v. 16, p. 46–61, set. 2014.

OVERSTREET, R.; GALT, J.A. **Physical Processes Affecting the Movement and Spreading of Oils in Inland Waters**. Materials Response and Assessment Division, 46 f, set. 1995.

PAQUIN, D.; OGOSHI, R; CAMPBELL, S.; LI, Q. Bench-Scale Phytoremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Contaminated Marine Sediment with Tropical Plants. **International Journal Of Phytoremediation**, v. 4, p. 297–313, out. 2002.

PLETSCH, M.; CHARLWOOD, B.V.; ARAÚJO, B.S. Fitorremediação de água e solos poluídos. **Biociência, Ciências e Desenvolvimento**, v. 34, p. 26–29. 2004.

PRINCE, R.C.; CLARK, J.R. Bioremediation of marine oil spills. **Studies in Surface Science and Catalysis**. R. Vasquez-Duhalt and Quintero-Ramirez (editors), Chapter 18, p. 495 – 512, 2004.

QUEIROZ, A. F.; CELINO, J. J. Manguezais e ecossistemas estuarinos da Baía de Todos os Santos. In: QUEIROZ, A. F.; CELINO, J. J. (Org.). **Avaliação de ambientes na Baía de Todos os Santos**: aspectos geoquímicos, geofísicos e biológicos. Salvador: UFBA, 2008. p. 39–58.

RANJAN, R.K.; ROUTH, J.; RAMANATHAN, A.L. Bulk organic matter characteristics in the Pichavaram mangrove - estuarine complex, south-eastern India. **Applied Geochemistry**, v. 25, p.1176–1186, ago. 2010.

REILLEY K.A.; BANKS, M.K.; SCHWAB, A.P. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. **Journal of Environmental Quality**, v. 25, p. 212–219, ago. 1996.

REN, C.; KONG, C.; BIAN, B.; LIU, W.; LI, Y.; LUO, Y.; ZHI-HONG, X. Enhanced phytoremediation of soils contaminated with PAHs by arbuscular mycorrhiza and rhizobium. **International Journal Of Phytoremediation**, v. 19, n. 9, p.789–797, fev. 2017.

RENTZ, J.A., ALVAREZ, P.J.J., SCHNOOR, J.L. Benzo[a]pyrene co-metabolism in the presence of plant root extracts and exudates: implications for phytoremediation. **Environmental Pollution**, v. 136, p. 477–484, ago. 2005.

REYES, C.Y.; TRIGUIS, J.A.; CERQUEIRA, J.R.; MEDEIROS, N.C.; MACIEL, I.C.; OLIVEIRA, O.M.C. Geochemistry of petroleum: asphaltenes as a source of geochemistry information. **Cadernos de Geociências**, v. 12, p. 84–101, abr. 2015.

RICHTER, O.; NGUYEN, H.A.; NGUYEN, K.L.; NGUYEN, V.P.; BIESTER, B.; SCHMIDT, P. Phytoremediation by mangrove trees: Experimental studies and model development. **Chemical Engineering Journal**, v. 294, p.389–399, jun. 2016.

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. 5. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2001. 503p.

ROMEIRO, R. S., 2001. **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa: UFV. 279p.

ROSA, A.P. **Processos de biorremediação na mitigação do impacto ambiental, devido a eventuais derrames de óleo na bacia de campos - experimentos laboratoriais**. 131f. 2001. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Reservatório e Exploração de Petróleo) – Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro, 2001.

SANTOS, M.G.S.; MACCARINI, M.; BAGGIO, M.R.; MARTINS, R.F.; ROA, Z.N. **Aspectos Toxicológicos dos Hidrocarbonetos de Petróleo – Exposição a Hidrocarbonetos Monocíclicos Aromáticos**. 102f. 2005. Monografia (Especialização em Engenharia Ambiental), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SEGURA, A.; RODRÍGUEZ-CONDE, S.; RAMOS, C.; RAMOS, J.L. Bacterial responses and interactions with plants during rhizoremediation. **Microbial Biotechnology**, v. 2, p. 452–64, abr. 2009.

SILVA, J.A.F. **Sistematização e Avaliação de Técnicas de Investigação Aplicadas à Caracterização e Diagnóstico de Área Contaminada por Hidrocarbonetos de Petróleo.** 160f. 2002. Dissertação (Mestrado em Geociências) – Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2002.

SILVA, J.V.L. **Eficiência do mangue vermelho (*Rhizophora mangle*) na fitorremediação de sedimentos de manguezal contaminados por petróleo.** 120f. 2016. Monografia (Graduação em Oceanografia) – Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.

SONG, H.; WANG, Y.S.; SUN, C.C.; WANG, Y.T.; PENG, Y.L.; CHENG, H. Effects of pyrene on antioxidant systems and lipid peroxidation level in mangrove plants, *Bruguiera gymnorrhiza*. **Ecotoxicology**, v. 21, p. 1625–1632, set. 2012.

SOUZA, V. S.; VIDAL-TORRADO, P.; GARCIA-GONZALEZ, M. T.; OTERO, X. L., MACIAS, F. Soil mineralogy of mangrove forests from the state of Sao Paulo, Southeastern Brazil. **Soil Science Society of America Journal**, v. 1, p. 1–10, fev. 2008.

STATSOFT Inc. **STATISTICA for the Windows operating system.** Release 9. Tulsa: EUA, StatSoft. 2009.

SUN, J.; KHELIFA, A.; ZHENG, A.X.; WANG, Z.; SO, L.L.; WONG, S.; YANG, C.; FIELDHOUSE, B. A laboratory study on the kinetics of the formation of oil–suspended particulate matter aggregates using the NIST-1941b sediment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, p. 1701–1707, jul. 2010.

TAM, N.F.Y.; WONG, Y.S. Effectiveness of bacterial inoculum and mangrove plants on remediation of sediment contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons. **Marine Pollution Bulletin**, v. 57, p. 716–726, abr. 2008.

TONINI, R.M.C.W. **Prospecção e análise da diversidade de bactérias com potencial para a degradação de compostos de petróleo no sedimento de dois manguezais do estado do Rio de Janeiro.** 155f. 2011. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Biociências e Biotecnologias, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro, 2011.

TRAN, T.C.; LOGAN, G.A.; GROSJEAN, E.; RYAN, D.; MARRIOTT, P.J. Use of comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry for the characterization of biodegradation and unresolved complex mixtures in petroleum. **Geochimica Et Cosmochimica Acta**, v. 74, p. 6468–6484, nov. 2010.

TRUU, J.; TRUU, M.; ESPENBERG, M.; NÖLVAK, H.; JUHANSON, J. Phytoremediation and plant-assisted bioremediation in soil and treatment wetlands: a review. **The Open Biotechnology Journal**, v. 9, p. 85–92, fev. 2015.

VANNUCCI, M. **Os manguezais e nós: uma síntese de percepções.** 2. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2002.

VEIGA, I. G. **Avaliação da origem dos hidrocarbonetos em sedimentos superficiais de manguezais da região norte da Baía de Todos os Santos, Bahia**. 205f. 2003. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Exploração de Petróleo) – Laboratório de Engenharia e Exploração de Petróleo, Universidade Norte Fluminense, Macaé. 2003.

VENOSA, A.D.; ZHU, X. Guidance for the bioremediation of oil-contaminated wetlands, marshes, and marine shorelines. Bioremediation of aquatic and terrestrial ecosystem. **Science Publishers**. 2006. 400 p.

VIDALI, M. Bioremediation: An overview. **Journal of Applied Chemistry**, v. 73, p. 1163–1172, jan. 2001.

WANG, W; ZHENG, Y; LEE, K. Chemical dispersion of oil with mineral fines in a low temperature environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 72, p. 205–212, maio 2013.

WANG, Y.; FANG, L.; LIN, L.; LUAN, T.; TAM, N. Effects of low molecular-weight organic acids and dehydrogenase activity in rhizosphere sediments of mangrove plants on phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Chemosphere**, v. 99, p.152–159, mar. 2014.

WINTER, W.R.; JAHNERT, R.J.; França, A.B. Bacia de Campos. **Boletim de Geociências da Petrobrás**, v. 15, p. 511–529, 2007.

XU, Y.; SUN, G.; JIN, J., LIU, Y.; LUO, M.; ZHONG, Z.; LIU, Z. Successful bioremediation of an aged and heavily contaminated soil using a microbial/plant combination strategy. **Journal Of Hazardous Materials**, v. 264, p. 430–438, jan. 2014.

YEUNG, P.Y.; JOHNSON R.L.; XU, J.G. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in soil as affected by heating and forced aeration. **Journal of Environmental Quality**, v. 26, p. 1511–1576, mar. 1997.

ZHANG, C.G; LEUNG, K.K.; WONG, Y.S.; TAM, N.F.Y. Germination, growth and physiological responses of mangrove plant (*Bruguiera gymnorrhiza*) to lubricating oil pollution. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, p.127-136, maio 2007.

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Rios, Mariana  
BIOPROCESSO PARA REMEDIAÇÃO DE SEDIMENTO DE  
MANGUEZAL CONTAMINADO PELO ÓLEO DA BACIA DE CAMPOS /  
Mariana Rios. -- Salvador, 2017.  
75 f. : il

Orientador: Ícaro Thiago Moreira.  
Dissertação (Mestrado - Geoquímica: Petróleo e Meio  
Ambiente) -- Universidade Federal da Bahia,  
Universidade Federal da Bahia, 2017.

1. Geoquímica. 2. Biorremediação. 3. Fitorremediação.  
I. Moreira, Ícaro Thiago. II. Título.