



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

**EVELIN DAIANE SERAFIM SANTOS FRANCO**

**MODELAGEM CINÉTICA MICROBIANA APLICADA NA DEGRADAÇÃO DO  
PETRÓLEO DE CAMPOS PRESENTE NO SEDIMENTO DE MANGUEZAL**

Salvador  
2018

**EVELIN DAIANE SERAFIM SANTOS FRANCO**

**MODELAGEM CINÉTICA MICROBIANA APLICADA NA DEGRADAÇÃO DO  
PETRÓLEO DE CAMPOS PRESENTE NO SEDIMENTO DE MANGUEZAL**

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

Orientador: Prof. Dr. Ícaro Thiago Andrade Moreira

Salvador  
2018

A Deus, à minha família, aos meus amigos queridos e ao grupo de pesquisa, dedico este trabalho pelo apoio incondicional em todas as etapas da elaboração desta pesquisa.

## AGRADECIMENTOS

São tantos que contribuíram para a realização desta pesquisa que duas páginas não seriam suficientes para exaltar a grandiosa gratidão que sinto por todos.

Vou começar agradecendo aquele que tudo vê e que me guiou nas minhas decisões até hoje. Deus, obrigada pelo discernimento dado a mim e o foco nas escolhas que me conduziram até esta etapa.

Mãe, obrigada por ser esta parceira maravilhosa que investe no meu futuro e acredita no meu potencial e pelo exemplo de mulher guerreira.

Tia Isa, obrigada pelas broncas que me ajudaram a crescer, pelo carinho e por sempre está comigo nas horas mais difíceis.

Gabi, obrigada por ser esta prima querida que abre os meus olhos nas horas necessárias.

Emile, obrigada por existir em minha vida, te amo!

Maurão, obrigada por ser esta pessoa generosa e divertida que nos enche de alegria.

Vanderson, obrigada por ser este amigo maravilhoso que me ajuda nas horas importantes.

Tia Valquíria, obrigada por ser este exemplo de luta e responsabilidade.

Érica, obrigada por ser esta prima divertida e autêntica.

Emília, minha prima maluquinha. Obrigada por alegrar os nossos dias.

Tio Nato e tia Vanda, obrigada pelos conselhos.

Tia Valdete e Fátima, obrigada pelo apoio pelo carinho.

Tia Marlene, obrigada por está presente em todas as etapas importantes na minha vida e por ser tão especial.

Márcio, desejo a você muito sucesso na sua caminhada. E agradeço por todo apoio durante o mestrado. Apesar de nossa vida ter tomado rumos diferentes, saiba que serei eternamente grata pela sua ajuda.

Ícaro, professor do programa e orientador, obrigada por sempre ter acreditado no meu potencial e por ser um amigo maravilhoso. Sempre serei grata por tudo!

Mari, obrigada pela parceria no trabalho, pelos conselhos e pelo apoio. Sem você a nossa pesquisa não seria a mesma.

Jéssica, obrigada pelo apoio desde o projeto anterior e pela amizade.

Teu, obrigada por tudo. Você é um amigo muito especial, inteligente e agradável

Naiara, obrigada por ser esta amiga tão legal e por ter dividido conosco a sua inteligência.

Marcão, obrigada por ser este amigo tão generoso. Você, assim como

Mari e Jel foram fundamentais para a realização desta pesquisa.

Gilson, obrigada por tudo!

Meus queridos ICs (Ricardo, Juliana, Verônica e Trajano), obrigada pelo apoio, carinho e pelo tempo dedicado a pesquisa. Vocês foram fundamentais para o sucesso deste trabalho!

Ana Cecília e Joil, professores doutores do programa, agradeço pelos ensinamentos passados e pelos questionamentos, os quais muitas vezes eu não entendia, mas que foram fundamentais para este trabalho.

Ilene, agradeço pelas broncas nas reuniões de laboratório, brincadeira. Obrigada pelos conselhos e pelo carinho.

Adriana, obrigada pelas broncas, por ser esta pessoa firme, dedicada e pelo carinho.

Carlito, obrigada pelo apoio, pelos conselhos e pela amizade. Você é 10!

Gisele, Juci, Regina, Rui, Jorginho e Jan obrigada pelos ensinamentos passados. Apreendi muito com vocês e ainda tenho muito a aprender.

Aos meus novos amigos da UFBA (Lucas, Ana Clara, Lauro, Camila...), desejo sucesso para vocês nesta e nas próximas etapas a serem alcançadas e agradeço pela ajuda.

Cíntia, obrigada pela amizade, ajuda e conselhos.

Aos meus amigos da Unifacs (Samires, Lua, Adriele...), desejo um futuro brilhante e agradeço pelo apoio.

Minha querida Tutu, desejo muito sucesso para você. Obrigada por tudo!

Agradeço também a professora doutora Danúcia pela gentileza e pelos ensinamentos a mim passados.

As professoras doutoras Sarinha e Karina agradeço pela paciência e carinho.

A Alex agravo pela generosidade, pela alegria e por ficar diversas vezes até tarde no laboratório enquanto terminávamos de medir os parâmetros. Obrigada, Alex!

Agradeço também ao Programa de Pós-Graduação pela infraestrutura, pela equipe competente de professores e técnicos.

Agreço também ao professor doutor José Ângelo, o qual com sua sabedoria e generosidade me deu a primeira oportunidade como iniciação científica.

Agradeço também a professora doutora Olívia pelo apoio intelectual e pelo esforço na viabilização desta pesquisa.

Ao CNPq agradeço pelo fomento.

FRANCO, Evelin Daiane Serafim Santos Franco. **Modelagem cinética microbiana aplicada para a degradação do petróleo de Campos presente em sedimento de manguezal**. 85 f. il. 2018. Dissertação (Mestrado em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente) - Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2018.

## RESUMO

Os derramamentos petrolíferos são um dos principais aspectos ambientais que afetam a salubridade e a diversidade de microrganismos em ecossistema de manguezal. A dificuldade de acesso a este ecossistema limita a adoção de técnicas de remediação. O uso da modelagem cinética para a compreensão da cinética de bioprocessos é uma ferramenta promissora e relevante para prever os bioprodutos que podem ser gerados durante a mineralização de compostos e para redução de custos com a aplicação de tecnologias prolongadas de remediação. Dentre as tecnologias comumente utilizadas para o tratamento de sedimentos contaminados por petróleo estão a biorremediação e a fitorremediação, as quais possuem como principais vantagens o baixo custo e impacto ambiental adverso ao ecossistema. Para elaboração deste trabalho realizou-se pesquisas bibliográfica, de campo e experimental. Os resultados utilizados para elaboração desta dissertação foram distribuídos em três artigos. O primeiro artigo foi uma revisão sistemática, cujo objetivo foi comprovar a aplicabilidade do modelo Monod e das versões adaptadas deste modelo na avaliação da cinética de biodegradação de poluentes orgânicos em solos e sedimentos. O objetivo do segundo artigo foi avaliar a eficiência do biorreator na cinética de biodegradação do sedimento de manguezal contaminado com petróleo da bacia de Campos. No terceiro artigo verificou-se a validade do modelo de Simkins e Alexander (1984) aplicado para explicar a biodegradação do sedimento de manguezal contaminado por petróleo da bacia de Campos. Foi comprovado através da revisão sistemática que o modelo de Monod e as versões adaptadas deste modelo podem auxiliar na avaliação da cinética de bioprocessos, na compreensão e previsão da biodegradação de poluentes orgânicos e na otimização da eficiência de biorreatores. Por meio do terceiro artigo foi possível constatar a validade da aplicação do modelo de Simkins e Alexander (1984) para explicar o processo de biodegradação do sedimento de manguezal contaminado por petróleo da bacia de Campos. No segundo artigo foi verificado que o biorreator utilizado nesta pesquisa foi eficiente para avaliar a cinética de biodegradação dos hidrocarbonetos totais do petróleo.

**Palavras-chave:** Modelagem cinética. Biodegradação. Petróleo. Sedimento

FRANCO, Evelin Daiane Serafim Santos Franco. **Modelagem cinética microbiana aplicada para a degradação do petróleo de Campos presente em sedimento de manguezal**. 85 pp. ill. 2018. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2018.

## ABSTRACT

Oil spills are one of the main environmental aspects that affect the health and diversity of microorganisms in the mangrove ecosystem. The difficulty of access to this ecosystem limits the adoption of remediation techniques. The use of kinetic modeling to understand the kinetics of bioprocesses is a promising and relevant tool to predict the bioproducts that can be generated during the mineralization of compounds and to reduce costs with the application of extended remediation technologies. Among the technologies commonly used for the treatment of oil-contaminated sediments are bioremediation and phytoremediation, which have as main advantages the low cost and adverse environmental impact to the ecosystem. For the preparation of this work, bibliographical, field and experimental research was carried out. The results used to elaborate this dissertation were distributed in three articles. The first article was a systematic review, whose objective was to prove the applicability of the Monod model and the adapted versions of this model in the evaluation of the biodegradation kinetics of organic pollutants in soils and sediments. The objective of the second article was to evaluate the efficiency of the bioreactor in the biodegradation kinetics of Campos basin oil - contaminated mangrove sediments. In the third article we verified the validity of the model of Simkins and Alexander (1984) applied to explain the biodegradation of the oil-contaminated mangrove sediment of the Campos basin. It has been proven through the systematic review that the Monod model and the adapted versions of this model can assist in the evaluation of the bioprocess kinetics, in the understanding and prediction of the biodegradation of organic pollutants and in the optimization of the efficiency of bioreactors. By means of the third article, it was possible to verify the validity of the application of the model of Simkins and Alexander (1984) to explain the process of biodegradation of mangrove sediment contaminated by oil in the Campos basin. In the second article, it was verified that the bioreactor used in this research was efficient to evaluate the biodegradation kinetics of total petroleum hydrocarbons.

**Keywords:** Kinetic modeling. Biodegradation. Petroleum. Sediment

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BTS	Baía de Todos os Santos
HTPs	Hidrocarbonetos Totais do Petróleo
HPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
UFCs	Unidades Formadoras de Colônias
COT	Carbono Orgânico Total
$\mu$	Taxa de crescimento específico de microrganismos
$\mu_{máx}$	Taxa máxima de crescimento de microrganismos
S	Concentração de substrato no tempo t (dias)
S <sub>0</sub>	Concentração de substrato inicial
D	Densidade de Unidades Formadoras de Colônias no tempo t (dias)
D <sub>0</sub>	Densidade de Unidades Formadoras de Colônias inicial
X <sub>0</sub>	Produto do inverso do rendimento pela densidade no tempo inicial
B <sub>0</sub>	Número de UFCs no tempo inicial
K <sub>s</sub>	Constante de meia saturação
K <sub>d</sub>	Constante de decaimento celular
K <sub>N</sub>	Constante de meia saturação para o nitrogênio
N	Concentração de nitrogênio
C <sub>s</sub>	Concentração do diesel adsorvido no sedimento
C <sub>T</sub>	Concentração total
C <sub>V</sub>	Concentração volatilizada na fase gasosa
C <sub>A</sub>	Concentração Dissolvida na fase líquida
C <sub>NAPL</sub>	Livre como fase orgânica pura/ kg de massa seca do sedimento
K	Constante cinética

$K_{NAPL-V}$  Coeficiente de transferência de massa entre a fase NAPL e a fase gasosa

$J_N$  Fluxo de flutuação irreversível de parte do diesel presente no solo

$X_{m\acute{a}x}$  Máxima capacidade nos poros médios

$f_A$  Taxa constante de massa de água e do solo

$[HPA_{TE}]$  Concentração total de HPAs extraídos

BEXP Decaimento bi-exponencial

FODED Decaimento exponencial de dupla primeira ordem

FOTC Decaimento compartimentado de segunda e primeira ordem

$K_1$  Constante cinética de primeira ordem

$K_2$  Constante cinética de segunda ordem

$M_{sorb}$  Concentração sorvida no solo

$M_{sol}$  Concentração em solução

A Fase aquosa

X Concentração de biomassa capaz de degradar óleo diesel

$\alpha$  Coeficiente da taxa de propagação de diesel não adsorvido

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>16</b>
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>17</b>
3.1	PESQUISA DE ESCRITÓRIO	17
3.2	DESCRIÇÃO DA ÁREA DE AMOSTRAGEM	17
3.3	MONTAGEM DO BIORREATOR	18
3.4	ANÁLISES LABORATORIAIS	20
3.5	CONTROLE DE QUALIDADE	22
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	22
3.7	MODELAGEM CINÉTICA	22
<b>4</b>	<b>MODELAGEM CINÉTICA MICROBIANA COMO FERRAMENTA DO PROCESSO DE BIODEGRADAÇÃO EM SEDIMENTOS E SOLOS</b>	<b>25</b>
4.1	INTRODUÇÃO	25
4.2	CRITÉRIO APLICADO PARA SELEÇÃO DOS ARTIGOS	26
4.3	MODELO CINÉTICO DE MONOD	31
4.4	MODELOS ADAPTADOS DE MONOD E APLICADOS EM SEDIMENTOS	32
<b>4.4.1</b>	<b>Modelo BIOB</b>	<b>32</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Modelo Cinético de 1ª ordem</b>	<b>36</b>
4.5	MODELOS CINÉTICOS APLICADOS EM SOLOS	39
4.6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	41

4.7	AGRADECIMENTOS	44
<b>5</b>	<b>AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DO BIORREATOR NA CINÉTICA DE BIODEGRADAÇÃO DE SEDIMENTO DE MANGUEZAL CONTAMINADO POR PETRÓLEO DA BACIA DE CAMPOS</b>	<b>45</b>
5.1	INTRODUÇÃO	46
5.2	MATERIAIS E MÉTODOS	48
5.2.1	Área de estudo e amostragem	48
5.2.2	Caracterização do biorreator	48
5.2.3	Análises físico-químicas	52
5.2.4	Análise estatística	53
5.2.5	Modelo cinético	53
5.2.6	Controle de qualidade do experimento	54
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.3.1	Caracterização da matriz sólida	54
5.3.2	Caracterização da matriz líquida	56
5.3.3	Caracterização do petróleo	56
5.3.4	Análise estatística e avaliação da biodegradação	57
5.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
5.5	AGRADECIMENTOS	66
<b>6</b>	<b>MODELAGEM CINÉTICA APLICADA PARA BIODEGRADAÇÃO DE SEDIMENTO DE MANGUEZAL CONTAMINADO POR PETRÓLEO DA BACIA DE CAMPOS</b>	<b>67</b>
6.1	INTRODUÇÃO	68
6.2	MATERIAIS E MÉTODOS	70
6.2.1	Procedimentos de amostragem e análises químicas necessárias para obtenção das variáveis do modelo	70

<b>6.2.2</b>	<b>Modelagem cinética</b>	<b>71</b>
6.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
6.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
6.5	AGRADECIMENTOS	<b>78</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>79</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>80</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A indústria petrolífera é responsável por disponibilizar cerca de 5,5 milhões de toneladas de petróleo em águas costeiras, sendo o ecossistema de manguezal um dos mais sensíveis a estes acidentes petrolíferos (ITOPH, NOAA, 2016).

A Baía de Todos os Santos (BTS), uma das maiores baías brasileiras, possui uma riqueza de ecossistema de manguezal e uma população de 3,6 milhões de habitantes (IBGE, 2010). Apesar da relevância social, econômica e ambiental desta baía, estudos demonstram que a atividade petrolífera vem comprometendo a qualidade dos ecossistemas nela inseridos (NASCIMENTO et al., 2017). Fatores associados as características do ecossistema podem intensificar os impactos oriundos de um acidente com petróleo e limitar a implementação de tecnologias de remediação (DUKE, 2016).

É importante ressaltar que os poluentes orgânicos, como o petróleo, podem desencadear efeitos nocivos a micro e macrobiota (REN et al., 2018). A ecotoxicidade dos microrganismos a contaminação petrolífera dependerá dos ciclos biogeoquímicos (nitrogênio, enxofre, oxigênio, água, dentre outros) e das rochas que ocorrem no ecossistema, do tipo de ecossistema, da composição mineralógica do argilomineral, da porosidade e permeabilidade existente na fase sólida, da quantidade de matéria orgânica, das condições de oxirredução da matriz, da hidrodinâmica e da estrutura química do poluente (CHENG et al., 2012; TRIKI et al., 2017). Estes fatores influenciam na biodegradação petróleo, assim como na seleção do biorreator que será utilizado na avaliação da eficiência da tecnologia de remediação (MROZIC; STEFANSKA, 2014; SRINIVASAN; SARMAH; ROCHA, 2014).

A legislação brasileira e o acesso ao ecossistema de manguezal dificultam a adoção de tecnologias de remediação (DUKE, 2016). Os métodos ex situ como o uso de biorreatores, são adotados para simulação tecnologias biológicas de remediação (fitorremediação e a biorremediação) (AMIN et al., 2017; ASIF et al., 2017; BOONNORAT et al., 2016; DUCAN et al., 2017; LUO et al., 2016; JUNIOR; CRUZ, 2016; GONZÁLEZ et al., 2006). A fitorremediação consiste no uso de plantas e de microrganismos associados a raiz da planta com o objetivo de conter, degradar ou estimular a degradação de compostos orgânicos (SÁNCHEZ et al., 2018). A biorremediação é uma tecnologia que utiliza microrganismos ou atividade enzimática oriunda destes microrganismos com o objetivo degradar os compostos orgânicos

presentes em áreas contaminadas (AGNELLO et al., 2016). Os biorreatores são sistemas controlados e catalíticos, nos quais a microbiota ou a atividade enzimática associada a ela efetua a quebra de molécula orgânica até que o substrato não possa mais ser metabolizado (AMIN et al., 2017; ASIF et al., 2017; DUCAN et al., 2017). Através destes sistemas é possível avaliar a cinética na qual ocorrem os bioprocessos e a depender do objetivo da pesquisa avaliar a velocidade de consumo do substrato, a velocidade de crescimento celular e a velocidade de geração de produtos (BALBINO JUNIOR; CRUS, 2016).

Avaliar a cinética de biodegradação é relevante para a previsão e controle dos compostos intermediários sintetizados durante a aplicação de biotecnologias (TRIGUEIROS, 2008; FIRMO, 2013). Através da cinética é possível também estimar o tempo necessário para a reabilitação de uma área e reduzir custos com a aplicação de técnicas prolongadas de degradação (TRIGUEIROS, 2008).

A modelagem cinética é uma ferramenta utilizada para avaliação da cinética de degradação microbiana. Monod (1942) foi um dos primeiros estudiosos a relacionar através de um modelo cinético a taxa de crescimento de microrganismos e a concentração do substrato. Conforme o estudo feito por Monod a taxa de crescimento microbiano dependia da concentração do nutriente limitante, o qual poderia ser uma fonte de carbono, como um hidrocarboneto do petróleo, por exemplo (MONOD, 1942). Com o passar do tempo, Powell (1967), Beolchini et al. (2010), Fernández et al. (2016) e Dong et al. (2017) adaptaram o modelo de Monod com o objetivo de estudar outros sistemas e avaliar outros bioprocessos.

Portanto, a hipótese desta pesquisa foi: “ A densidade microbiana cresce de forma a favorecer a degradação do petróleo de campos adsorvido no sedimento de manguezal”.

Para responder à pergunta desta pesquisa os resultados desta dissertação foram distribuídos em três artigos. No primeiro artigo o principal objetivo foi comprovar a aplicabilidade do modelo de Monod e das versões adaptadas deste modelo na avaliação da cinética de biodegradação de poluentes orgânicos em solos e sedimentos. No segundo artigo buscou-se avaliar a eficiência de um biorreator tipo bandeja, não enzimático, com fundo perfurado e heterogêneo, cuja operação foi contínua para avaliar a cinética de biodegradação do sedimento de manguezal contaminado com petróleo da bacia de campos. No terceiro artigo visou-se verificar a validade do modelo de Simkins e Alexander (1984) aplicado para avaliar a cinética de

biodegradação do sedimento de manguezal contaminado por petróleo da bacia de Campos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a cinética de biodegradação do petróleo da bacia de Campos presente em sedimento de manguezal da Baía de Todos os Santos (BTS).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir, através de uma revisão sistemática, um critério de seleção de artigos que comprove a aplicabilidade do modelo de Monod e das versões modificadas deste modelo na avaliação da cinética de bioprocessos em solos e sedimentos, visando justificar a escolha da aplicação do modelo de Simkins e Alexander para avaliar a cinética de biodegradação do petróleo da bacia de Campos presente no sedimento de manguezal;
- avaliar o perfil do óleo antes da adição ao sistema, visando-se verificar as possíveis perdas por fotodegradação e diluição;
- montar o biorreator aberto para simulação das condições de um ecossistema de manguezal;
- monitorar e avaliar as alterações temporais de parâmetros físico-químicos e de nutrientes na água e no sedimento e verificar a influência destas alterações na cinética de biodegradação;
- monitorar as alterações temporais das concentrações de hidrocarbonetos totais e policíclicos aromáticos, visando-se avaliar a cinética de hidrocarbonetos;
- avaliar a validade do modelo de Simkins e Alexander para explicação da biodegradação do petróleo de Campos presente no sedimento de manguezal;
- avaliar a velocidade de assimilação dos Hidrocarbonetos Totais de Petróleo pelos microrganismos endógenos do sedimento;
- avaliar a eficiência de biodegradação do biorreator.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais e métodos utilizados para elaboração desta dissertação foram subdivididos nos seguintes tópicos: pesquisa de escritório, descrição da área de amostragem, montagem do biorreator, análises laboratoriais, análise estatística e modelagem cinética.

#### 3.1 PESQUISA DE ESCRITÓRIO

O embasamento teórico científico necessário para contextualização do tema foi realizado através da leitura de artigos científicos, teses e dissertações. A seleção destes documentos foi efetuada conforme os seguintes critérios: ano de publicação e o fator de impacto das revistas.

O primeiro artigo desta dissertação foi uma revisão sistemática. Buscou-se selecionar artigos de relevância científica que abordassem a importância do modelo de Monod e das versões adaptadas na compreensão da biodegradação de solos e sedimentos.

Os artigos posteriores foram elaborados através dos dados experimentais obtidos por meio do biorreator.

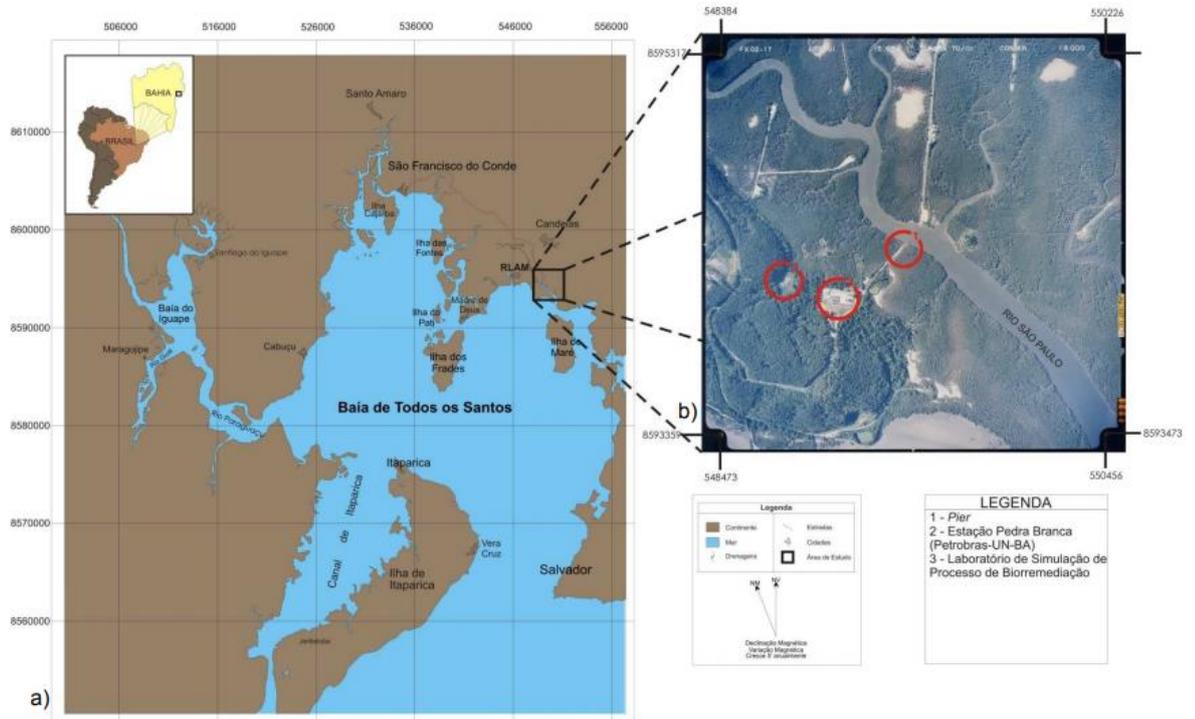
#### 3.2 DESCRIÇÃO DA ÁREA DE AMOSTRAGEM

A coleta das amostras de sedimento de manguezal foi realizada no período chuvoso, durante a maré baixa e com o auxílio de testemunhadores de metal inoxidável (diâmetro = 10 cm e capacidade máxima = 30 cm). O ponto de amostragem foi a Estação Pedra Branca (Petrobrás – UM – BA), na porção norte da Baía de Todos os Santos (BTS), cuja coordenada foi 12° 44' 26,0" (S) e 38° 31' 53,9" (W). O sedimento depois de coletado e armazenado em recipientes de alumínio foi homogeneizado em recipiente de vidro e disposto no biorreator.

As amostras de água do estuário do rio São Paulo foram coletadas no ponto 1 (píer), situado também na BTS, entre as cidades de Cadeias e São Francisco do Conde, conforme a figura 1. Posteriormente, as amostras de água foram armazenadas em recipiente com capacidade de 20 L e acondicionadas até a chegada

ao Laboratório de Estudos do Petróleo (LEPETRO), local onde foi montado o biorreator.

**Figura 1-** Localização da área de estudo e dos pontos amostrais



Fonte: Moreira (2010).

É importante ressaltar que conforme Moreira (2010) e Silva (2015) o sedimento de manguezal, situado na Estação Pedra Branca, não apresentou indícios de contaminação por petróleo.

### 3.3 MONTAGEM DO BIORREATOR

O biorreator foi construído anteriormente por Moreira et al. (2012) e modificado pela equipe de pesquisadores formada por Bonfim, M.P.S., Franco, E. D. S. S., Silva, J. V. L e Santos, N.C. Este sistema apresentou duas tubulações, conforme foi possível observar na figura 2, uma operando por recalque e outra por gravidade. Além das tubulações, o sistema também apresentou uma bomba (consumo= 11 W, Q= 650 L/h = 0,18 L/s e  $H_{manométrica}$  da bomba = 120 cm= 1,20 m), dois reservatórios e uma bóia de nível. Com o intuito de controlar a circulação da água de estuário no sistema, um *timer* foi utilizado para efetuar as programações das marés alta e baixa em horários similares a estação de Madre de Deus. Desta forma, buscou-se reproduzir em tempo real a variação destas

marés. E, para tal a bomba foi programada para desligar no pico da maré alta e ligar no pico da maré baixa.

O reservatório superior do biorreator foi composto de 6 mini reservatórios, cobertos com um tecido no fundo e com pequenos orifícios para facilitar a percolação de água e manter o sedimento de manguezal em contato com a água de estuário. E o reservatório inferior apresentou um orifício na parte superior onde ficava a bomba conectada a tubulação de recalque e a válvula onde fazia-se o controle também da vazão da água que descia por gravidade (figura 2).

**Figura 2** – Biorreator aplicado na simulação dos biotratamentos



Fonte: autora (2018).

O delineamento experimental foi composto de 6 unidades de simulação, sendo que 3 representaram o tratamento sem contaminação por petróleo e 3 com contaminação petrolífera. A concentração de petróleo utilizada para a contaminação do sedimento foi obtida pela equação 1, a densidade do óleo da bacia de campos (d) foi de  $0,881423 \text{ g cm}^{-3}$ , a massa de sedimento (m) foi pesada e a massa de petróleo foi definida como 1% da massa de sedimento. O volume de petróleo (v) foi medido com o auxílio de uma proveta e calculado conforme a equação 1. Dois bioprocessos foram avaliados durante a operação do biorreator. Na etapa 1 (T0, T20, T42, T62, T99) apenas a biorremediação e na etapa 2 (T118, T133, T153 e T187) a biorremediação mais a fitorremediação com a espécie *Rhizophora mangle*.

A metodologia de homogeneização do sedimento foi diferente nas respectivas etapas, na primeira todo o sedimento dos seis minis reservatórios da unidade de

simulação eram homogeneizados. Já na etapa posterior apenas o sedimento referente ao mini reservatório da muda retirada era misturado.

$$v = \frac{m}{d} \quad (1)$$

### 3.4 ANÁLISES LABORATORIAIS

Os parâmetros físico-químicos como pH, temperatura, oxigênio dissolvido (OD) e salinidade foram obtidos através de uma sonda multi parâmetros, modelo D-54, Horiba. Visou-se com estes parâmetros caracterizar a água de estuário utilizada para simulação da variação das marés (alta e baixa), assim como monitorar as características da água durante os biotratamentos.

Os nutrientes fósforo, nitrogênio total, carbono orgânico total, assim como as concentrações de HTPs e HPAs no sedimento foram monitorados nos respectivos tempos amostrais, conforme a figura 2. Além destes nutrientes também se monitorou a concentração de fósforo assimilável e fosfato na água.

O carbono orgânico total e o nitrogênio total foram determinados nas amostras de sedimento através do analisador de partículas LECO, método ASTM D5373. As amostras foram liofilizadas, desagregadas com auxílio de um cadinho e um pistilo de Ágata. Posteriormente, efetuou-se a peneiração destas amostras com uma peneira (2 mm), a maceração utilizando os mesmos materiais da etapa da desagregação e a peneiração com uma peneira de 80 mesh.

A concentração de fosfato nas amostras de água foi obtida por cromatografia iônica (EMBRAPA, 2007) e a concentração de fósforo assimilável em água por meio do método LEPETRO 023 (GRASSHOFF, 1983).

A textura do sedimento foi determinada por difração a laser, com auxílio do equipamento analisador de partículas, marca Cilas 1064 e a concentração de fósforo no sedimento foi obtida por espectrofotometria molecular (OLSEN et al., 1982).

Os extratos dos hidrocarbonetos totais do petróleo (HTPs) e dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) foram extraídos do sedimento de manguezal pelo método 3051 A (extração microndas). Posteriormente, houve a adição destes extratos em dois cromatógrafos gasosos. A leitura dos HTPs foi realizada no cromatógrafo movido a gás (VARIAN), modelo CP3800, com coluna capilar DB 5 e

detector de ionização de chama (CG/FID). Os HPAs foram detectados no cromatógrafo a gás (VARIAN), acoplado a um espectrômetro de massas (GC/MS).

O método da U.S. EPA 3510C (extração líquido-líquido) foi aplicado para extração de HTP e HPA da água de estuário do rio São Paulo, utilizada para simulação das marés no biorreator. Os funis de extração foram preenchidos com água e diclorometano e os extratos foram posteriormente concentrados, com o auxílio de um rotovaporador (modelo R-215) e transferidos para vials. Nos vials as amostras foram injetadas nos cromatógrafos gasosos para a detecção de HTP e HPA.

A técnica de clean up foi aplicada para separação da fração aromática dos extratos removidos do sedimento de manguezal. Foi utilizada uma mistura contendo uma proporção de 4:1 de n-hexano e DCM para a eluição da fração aromática da coluna cromatográfica.

Durante 180 dias realizou-se as coletas de amostras de sedimento para contagem das unidades formadoras de colônias (UFCs). A técnica de micro gotas de Romeiro (2001) foi aplicada para este procedimento, no qual iniciou-se com a preparação do meio de cultura, com Agar Nutriente vertido em meio de cultura. Posteriormente, as placas petris foram colocadas em uma câmara de germinação para garantir a esterilização do meio de cultura. Em seguida, uma alíquota das amostras de sedimento foi adicionada a solução contendo de água salina e Tween. Estas amostras foram diluídas em série, totalizando 8 diluições. Utilizou-se duas placas de petri por amostra, divididas em quatro quadrantes, sendo um quadrante para cada diluição. Adicionou-se por quadrante 4 gotas de uma mesma diluição. Ao fim deste processo, estas placas foram novamente colocadas na câmara de germinação e procedeu-se a contagem das UFCs no período de 24 horas. O número das UFCs foi obtido por meio das equações 2, 3 e 4.

$$V_{\text{valor Referência}} = 10^{-1} + 10^{-2} + 10^{-3} + 10^{-4} + (10^{-6} \times 10) + (10^{-7} \times 100) + (10^{-8} \times 1000) \quad (2)$$

$$V_{\text{valor Referência } 2} = V_{\text{valor Referência}} / 4 / 100 \quad (3)$$

$$V_{\text{valor Referência } 3} = V_{\text{valor Referência } 2} \times 10^{(\text{última diluição onde foi identificada alguma colônia})} \quad (4)$$

As colônias foram identificadas até a quinta diluição, sendo por isso utilizado na fórmula  $10^5$ .

### 3.5 CONTROLE DE QUALIDADE

O percentual de recuperação dos analitos nas amostras foi avaliado através da adição do surrogate (Terfenil D4). A recuperação das amostras ficou na faixa 60 a 120%, considerada aceitável para análise de extração (RIBANI et al., 2004). Para garantir qualidade analítica 1 branco para cada lote de 10 amostras foi realizado, assim como feitas réplicas de bancada. Os reagentes n-hexano (96% de pureza), acetona (99,8% pureza) e o Diclorometano (99,8% de pureza) foram da marca MERCK e o Tween 80 da marca USP SYNTH.

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A diferença entre os tratamentos foi observada por meio da análise de variância não paramétrica. O teste de Tukey foi utilizado para identificar o intervalo de tempo onde esta diferença foi significativa e o Levene teste foi aplicado para verificar a homogeneidade das variâncias.

### 3.7 MODELAGEM CINÉTICA

Uma das formulações precursoras a relacionar a taxa de crescimento de microrganismos com a concentração do substrato foi o modelo de Monod. De acordo com a teoria de Monod (1942) era possível explicar a mineralização de compostos pelos microrganismos utilizando uma relação cinética entre a taxa de crescimento de microrganismos e a concentração de um determinado substrato, o qual poderia ser uma substância química, um composto ou uma mistura utilizada como fonte de carbono pelos microrganismos. A priori este modelo foi desenvolvido para sistemas fechados e que operavam a pressão ou volume constantes. A medida que novos estudos foram efetuados este modelo passou por adaptações, com objetivo de avaliar a velocidade de crescimento de substrato e de crescimento celular (BEOLCHINI et al., 2010; NASSERI et al., 2010). Desta forma, outros biorreatores foram desenvolvidos sem a necessidade de serem fechados e de operarem em batelada, surgindo assim os biorreatores abertos ou semiabertos, cuja a operação poderia ser contínua ou semi-contínua.

Conforme a equação 5, a qual correspondeu ao modelo de Monod o símbolo  $\mu$  representou a taxa de crescimento específico de microrganismos, o S foi a concentração do substrato (contaminante de interesse), o  $\mu_x$  foi considerada a taxa de máxima de crescimento microbiano. O  $\mu$  foi calculado através da equação 6, na qual o D representou a quantidade de colônias no tempo T e D0 o número de colônias no tempo inicial (SAKTHIPRIVA; DOBLE; SANGWAI, 2017). O Ks foi a concentração de meia saturação, este parâmetro foi obtido quando a taxa de crescimento específico foi metade da taxa máxima conforme Koch (1982).

$$\mu = (\mu_x \cdot S) / (K_s + S) \quad (5)$$

$$\mu = (\ln D - \ln D_0) / (T - T_0) \quad (6)$$

O modelo de Monod foi utilizado para obtenção da constante de meia saturação e o modelo Simkins e Alexander (1984) para obtenção da velocidade de consumo dos hidrocarbonetos totais do petróleo. Conforme a equação 7, a taxa máxima correspondeu a máxima taxa de crescimento microbiano e foi obtida através da curva de crescimento de microrganismos (BEOLCHINI et al., 2010). O S correspondeu a concentração no tempo t, o S0 foi a concentração no tempo zero, o X0 foi o produto do inverso do rendimento (q) e a densidade de unidades formadoras de colônias no tempo zero (B0).

$$\text{Velocidade de consumo do substrato} = \mu_{\text{máx.}} \cdot S (S_0 - X_0 - S) / (K_s + S) \quad (7)$$

O ajuste do modelo de Simkins e Alexander (1984) foi realizado através das funções exponenciais expdec 1 e expdec 2 no programa OriginPro 8, onde selecionou-se a função que obteve maior valor de R<sup>2</sup>. Este ajuste foi proposto anteriormente por Napoleão et al. (2013) para o modelo de Zhang e Chuang (1999).

Através das funções Exp dec 1 e Exp dec 2 foram gerados dois modelos. As equações 8 e 9 representam respectivamente os modelos das funções Exp dec 1 e Exp dec 2.

$$y = y_0 + A_1 \cdot e^{-\frac{x}{t_1}} \quad (8)$$

$$y = y_0 + A_1 \cdot e^{-\frac{x}{t_1}} + A_2 \cdot e^{-\frac{x}{t_2}} \quad (9)$$

A validação do modelo ocorreu através do método de regressão linear simples, no qual realizou-se o cruzamento gráfico entre o valor da velocidade estimada pelo

valor da velocidade observada no experimento, este procedimento foi efetuado no programa Excel versão 2010. Foi considerado válido o modelo que apresentou valor de  $R^2$  mais próximo a 1.

## 4 MODELAGEM CINÉTICA MICROBIANA COMO UMA FERRAMENTA PARA O ENTENDIMENTO DO PROCESSO DE BIODEGRADAÇÃO EM SEDIMENTOS E SOLOS

### RESUMO

Os poluentes orgânicos são produtos químicos lançados nos ecossistemas por meio de atividades antropogênicas e podem ser encontrados no ambiente dissolvidos em meio líquido, suspensos em fase gasosa ou ainda adsorvidos em fase sólida. Desta forma, quando presentes na fase sólida podem ser absorvidos pela microbiota e utilizados para o crescimento celular e na geração de produtos. Neste contexto, os estudos cinéticos microbianos têm propiciado uma melhor compreensão do processo de biodegradação. Sendo assim, este artigo visa abordar, por meio de uma revisão sistemática da literatura, a aplicabilidade do modelo de Monod e de versões adaptadas deste modelo na avaliação da cinética de biodegradação de poluentes orgânicos em solos e sedimentos. Com base nos artigos selecionados foi possível identificar que o modelo de Monod e as versões adaptadas deste modelo auxiliaram na previsão da eficiência de bioprocessos, na velocidade de degradação e geração de produtos, além da otimização da eficiência de biorreatores.

**Palavras-chaves:** Biodegradação, Modelagem cinética, Solos, Sedimentos

### ABSTRACT

Organic pollutants are chemicals released into ecosystems by anthropogenic activities and can be found in the environment dissolved in liquid medium, suspended in the gas phase or adsorbed on solid phase. Thus, when present in the solid phase can be absorbed by the microbiota and used for cell growth and product generation. In this context, microbial kinetic studies have provided a better understanding of the biodegradation process. Thus, this article aims to approach, through a systematic review of the literature, the applicability of the Monod model and adapted versions of this model in the evaluation of the biodegradation kinetics of organic pollutants in soils and sediments. Based on the selected articles, it was possible to identify that the Monod model and the adapted versions of this model helped predict the efficiency of bioprocesses, the speed of degradation and generation of products, and optimization of the efficiency of bioreactors.

**Keywords:** Biodegradation, Kinetic modeling, Soils, Sediments

### 4.1 INTRODUÇÃO

Os poluentes orgânicos oriundos da indústria petrolífera e da agricultura podem ser biodisponibilizados no ambiente em função da afinidade química com a fase sólida, dos processos biogeoquímicos, do tipo de ecossistema e das características da matriz (CHENG et al., 2012; TRIKI et al., 2017). Estes fatores influenciam na

geoquímica destes compostos, no processo de biodegradação e na escolha do biorreator (MROZIC; STEFANSKA, 2014; SRINIVASAN; SARMAH; ROCHA, 2014).

A biodegradação é o processo de metabolização do contaminante através de catalizadores liberados pelos organismos durante a degradação do composto orgânicos (VOLGT et al., 2017). Neste contexto, a modelagem cinética microbiana é uma ferramenta promissora que auxilia na previsão das velocidades de crescimento microbiano, de assimilação do substrato e de geração dos produtos (BEOLCHINI et al., 2010; GENG et al., 2014; RAJAMANICKAM et al., 2017)

Os biorreatores são sistemas catalíticos que irão propiciar a biodegradação e são classificados de acordo com a operação (batelada, contínuo e semi-contínuo), número de fases (homogêneo ou heterogêneo) e quanto a geometria (tubulares ou de tanque agitado) (GEED et al., 2017; JUNIOR; CRUZ, 2016; OONK et al., 2013).

Um dos primeiros pensadores a buscar explicações sobre o processo de metabolização do substrato<sup>1</sup> foi Monod. Este estudioso desenvolveu um modelo cinético microbiano, que partia da seguinte premissa: “ a taxa de crescimento microbiano dependia da concentração do nutriente limitante” (MONOD, 1942). E, com base nesta premissa, outros modelos foram desenvolvidos, como por exemplo, as formulações de Powell (1967), Beolchini et al. (2010), Fernández et al. (2016) e Dong et al. (2017). Portanto, o objetivo deste artigo foi comprovar, através de uma revisão sistemática, a aplicabilidade do modelo de Monod e das versões modificadas deste modelo na avaliação da cinética de biodegradação de poluentes orgânicos em solos e sedimentos. A revisão sistemática é uma modalidade de pesquisa voltada para sistematizar as informações importantes a respeito de um determinado tema (GALVÃO; PEREIRA, 2014).

#### 4.2 CRITÉRIO APLICADO PARA A SELEÇÃO DOS ARTIGOS

A elaboração desta pesquisa foi realizada através de um critério, no qual a etapa inicial consistiu na seleção das três bases dados que abordassem sobre o modelo de Monod e as adaptações deste. Sendo assim, o parâmetro adotado foi o ano de publicação e o fator de impacto das revistas listadas nas bases. Na etapa posterior, o intuito foi de avaliar a abundância nestas plataformas. Logo, a Science Direct apresentou maior quantidade de trabalhos para a maioria das palavras chaves

---

<sup>1</sup> Concentração do nutriente ou contaminante (MONOD, 1942)

utilizadas, conforme ilustrado nas tabelas 1, 2 ,3 e 4. Entretanto, também foram utilizadas as referências da Scopus para compor este artigo.

Esta revisão foi organizada em três seções. Na primeira seção buscou-se caracterizar o modelo de Monod. Nas seções posteriores foram comparados os modelos aplicados para sedimentos e solos com o modelo desenvolvido por Monod (1942). Assim, buscou-se investigar os critérios que motivaram a efetuação de alterações nos modelos pelos autores.

**Quadro 01-** Número de trabalhos publicados nas bases de dados da Science Direct, Scopus e Scielo por conjunto de palavras-chaves pesquisadas (parte 1)

Base de dados	Palavras –chaves	Total de artigos registrados em cada base	Data	% de artigos
Science Direct	Praia. Sedimento. Modelagem cinética.	303	01 de setembro/2017	100
Scopus	Biodegradação	0		0
Scielo	(Bloco 1)	0		0

Fonte: autora (2017).

**Quadro 02-** Número de trabalhos publicados nas bases de dados da Science Direct, Scopus e Scielo por conjunto de palavras-chaves pesquisadas (parte 2)

Science Direct	Solo. Sedimento. Modelagem cinética.	1273	01 de setembro/2017	100
Scopus	Biodegradação	0		0
Scielo	(Bloco 2)	0		0
Science Direct	Contaminação. Biodegradação. Cinética	1692		100
Scopus	microbiana. Petróleo	0		0
Scielo	(Bloco 3)	0		0
Science Direct	Modelagem cinética microbiana. Solo.	987		100
Scopus	Sedimento. Biodegradação	0		0
Scielo	(Bloco 4)	0		0
Science Direct	Poluentes. Geoquímica. Ambiente	7052	19 de novembro/2017	100
Scopus	(Bloco 5)	3		0
Scielo		0		0
Science Direct	Poluentes orgânicos. Biodisponibilidade.	31064	19 de novembro/2017	99,91
Scopus	Ecossistema	343		1,09
Scielo	(Bloco 9)	0		0

Fonte: autora (2017).

**Quadro 03** - Número de trabalhos publicados nas bases de dados da Science Direct, Scopus e Scielo por conjunto de palavras-chaves pesquisadas (parte 3)

<b>Science Direct</b>	Biorreatores.	5811	01 de setembro/2017	99,4
<b>Scopus</b>	Características.	33		0,6
<b>Scielo</b>	Biodegradação (Bloco 6)	1		0
<b>Science Direct</b>	Biorreatores.	1852	01 de setembro/2017	93,7
<b>Scopus</b>	Biodegradação.	124		6,3
<b>Scielo</b>	Sedimento (Bloco 7)	0		0
<b>Science Direct</b>	Cinética de Monod (Bloco 8)	9675		99,9
<b>Scopus</b>		0		0
<b>Scielo</b>		8		0,1

Fonte: autora (2017).

**Quadro 04** - Comparação de busca realizada em setembro e outubro nos trabalhos publicados na base Science Direct

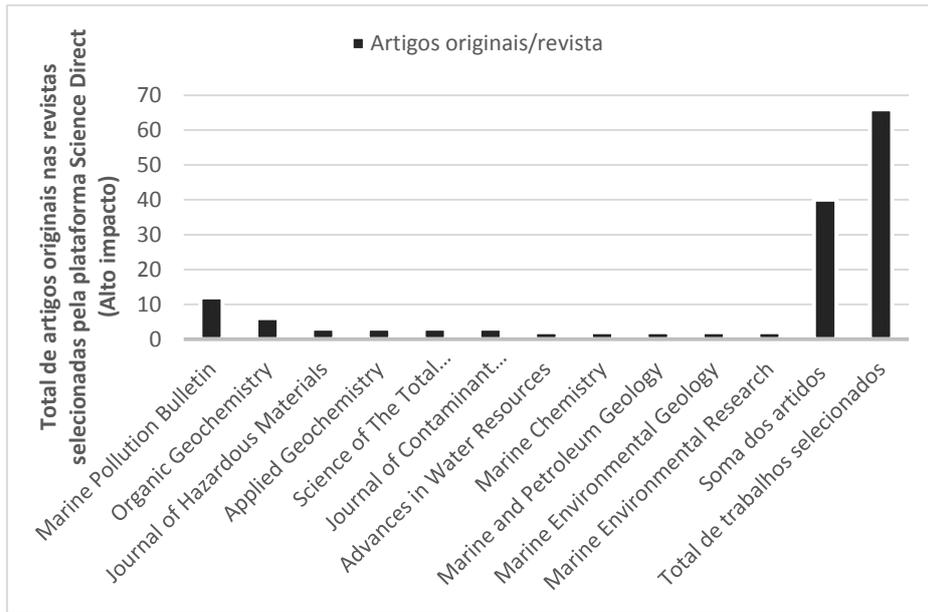
Base de dados	Palavras – chaves	Total de artigos / bloco	Data 2	Data 1	Total de artigos registrados/bloco	Diferença (Data 1- Data 2)
<b>Science Direct</b>	Bloco 1	336	01 de outubro/ 2017	01 de setembro/ 2017	303	33
	Bloco 2	1286			1273	15
	Bloco 3	1724			1692	32
	Bloco 4	997			987	10
	Bloco 5	7112			7052	60
	Bloco 6	5902			5811	91
	Bloco 7	1871			1852	19
	Bloco 8	9732			9675	57

Fonte: autora (2017).

Analisando as figuras 3 e 4, observou-se maior número de publicações de artigos originais e de revisão sobre a aplicação da modelagem cinética para

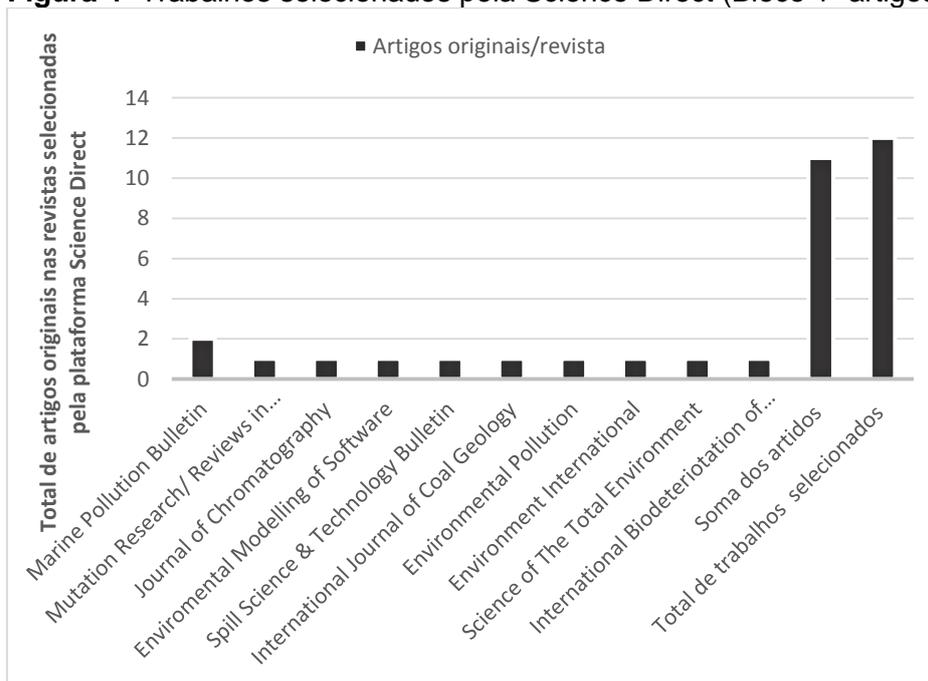
sedimentos de praia nas revistas Marine Pollution Bulletin, Organic Geochemistry e a Journal of Hazardous Materials. Em relação ao número de publicações, houve redução na quantidade de artigos originais publicados no período de 2010 a 2012 e aumento a partir de 2013 (figura 3). Porém ao ampliar a busca contemplando outros tipos de sedimentos e solos, identificou-se redução no número de originais de modelos adaptados para solos e sedimentos (Figura 4).

**Figura 3-** Trabalhos selecionados pela Science Direct (Bloco 1- artigos originais)



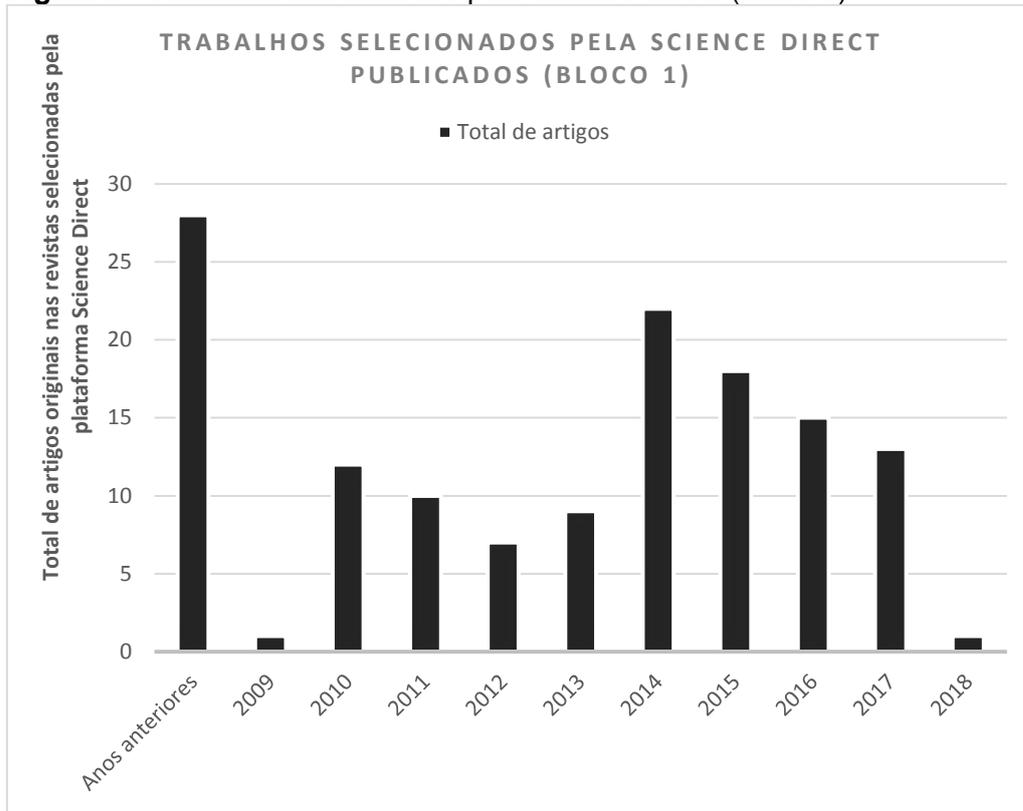
Fonte: autora (2017).

**Figura 4-** Trabalhos selecionados pela Science Direct (Bloco 1- artigos de revisão)



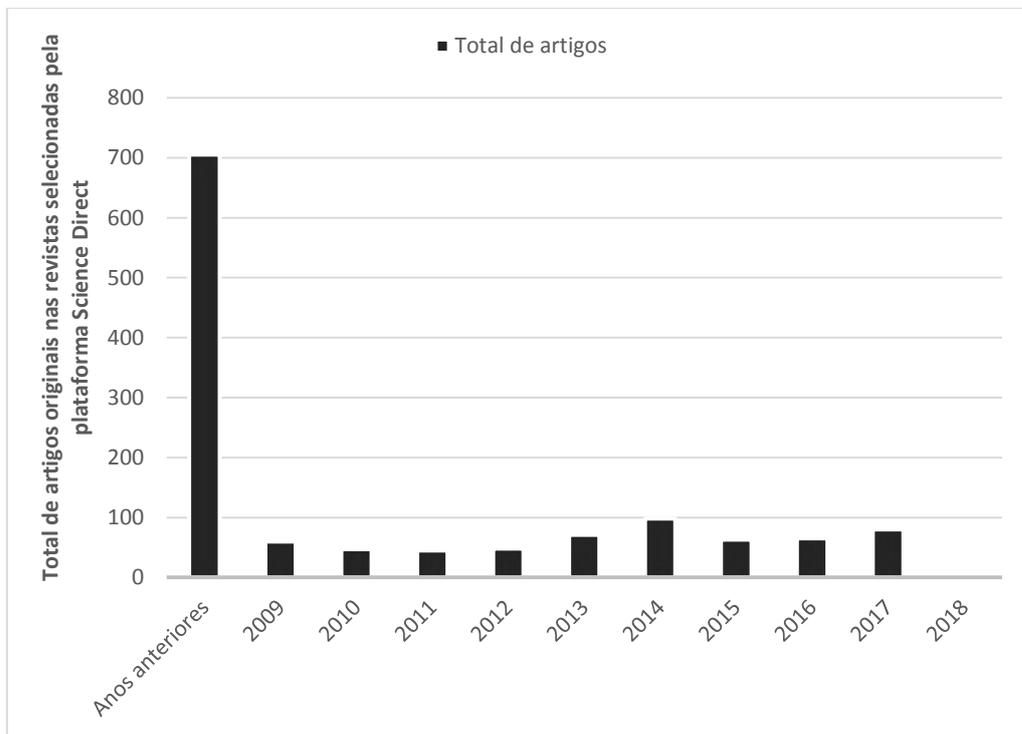
Fonte: autora (2017).

**Figura 5 - Trabalhos selecionados pela Science Direct (Bloco 1)**



Fonte: autora (2017).

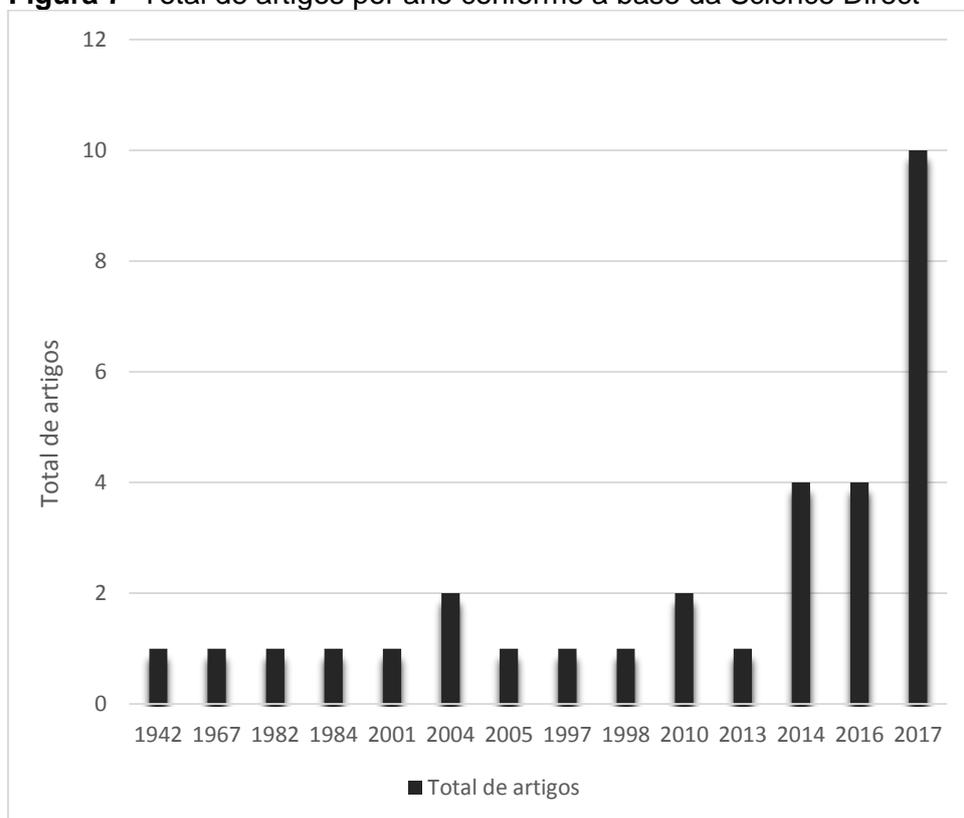
**Figura 6 - Trabalhos selecionados pela Science Direct (Bloco 2)**



Fonte: autora (2017).

Conforme a figura 7 foi possível observar que houve aumento na quantidade de artigos publicados sobre modelos aplicados para avaliação da cinética de biodegradação de poluentes orgânicos em comparação a 1942, quando foi desenvolvido o modelo de Monod.

**Figura 7-** Total de artigos por ano conforme a base da Science Direct



**Fonte:** autor (2017).

### 4.3 MODELO CINÉTICO DE MONOD

O modelo de monod foi desenvolvido em 1942 para simular o processo de mineralização do substrato em sistemas fechados e que operavam em batelada. Conforme Monod (1942) existia uma relação cinética entre a taxa de crescimento de microrganismos e a concentração do substrato (equação 1). Na equação 10 a taxa de crescimento específico foi representada pelo símbolo  $\mu$ , a concentração do substrato por  $S$  e a taxa máxima de crescimento microbiano por  $\mu_x$ . Esta constante varia conforme o tipo de microrganismo, as condições do sistema e a depender do produto químico. Além disto, a concentração de meia saturação ( $K_s$ ) é obtida quando a taxa de crescimento específico é metade da taxa máxima (GAUDI et al., 1971).

$$\mu = (\mu_x \cdot S)/(K_s + S) \quad (10)$$

#### 4.4 MODELOS ADAPTADOS DE MONOD E APLICADOS EM SEDIMENTOS

Ao longo do tempo várias adaptações deste modelo foram desenvolvidas, com o intuito de entender a biodegradação de diferentes contaminantes em sistemas biológicos distintos, denominados biorreatores.

Os biorreatores são sistemas catalíticos onde são sintetizados bioprodutos, através de enzimas liberadas pelos microrganismos, durante o processo de biorremediação (BADINO JUNIOR; CRUZ, 2016). Alguns fatores, como por exemplo, o tipo de contaminante e o objetivo do estudo podem influenciar na escolha destes sistemas e, conseqüentemente, na seleção do modelo microbiano, conforme pode ser visto nos quadros 1 e 2. Sendo assim, estes receptáculos podem apresentar geometria tubular ou do tipo tanque perfeitamente agitado, como também conter mais de uma fase (heterogêneo), assim como operar em batelada, fluxo contínuo ou semi-contínuo (AMIN et al., 2017; ASIF et al., 2017; BADINO JUNIOR; CRUZ, 2016; BOONNORAT et al., 2016; DUCAN et al., 2017; LUO et al., 2016; GONZÁLEZ et al., 2006). Todavia, para que estas classificações sejam estabelecidas são consideradas as condições de temperatura, volume e pressão nestes reatores.

##### 4.4.1 Modelo BIOB

Geng et al. (2016) desenvolveram um modelo cinético para simular a biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos e alcanos em sedimentos de praias contaminados por petróleo, tal formulação foi denominada BIOB. Este modelo foi desenvolvido para três biorreatores heterogêneos que operaram em batelada, simulando três tratamentos. Sendo o controle composto por 2 fases, sedimento de praia mais água, o contaminado 1 composto por água, nutrientes solúveis em água mais sedimento e o contaminado 2 continha água, nutrientes e um inoculo com bactérias degradadoras de petróleo.

Visando-se monitorar os processos físico-químicos de remoção do petróleo foi utilizada inicialmente a formulação 11, onde o K representou a constante cinética de primeira ordem e o h a concentração de hopano no sedimento (mg/kg) (El-Kadi, 2001; Geng et al., 2016). Posteriormente, os hopanos normalizados foram acrescentados às equações 4 e 5.

**Quadro 5-** Fatores que interferem na escolha dos biorreatores

Autor (ano)	Biorreator			Objetivo	Substrato
	Operação	Geometria	Fechado/aberto/semi-aberto		
<b>Jin et al. (2017)</b>	Batelada	Não informado	Fechado	Avaliar a eficiência de biodegradação de sedimentos contaminados por benzoapireno de cespas isoladas de <i>Pseudomonas sp.</i>	Benzoapireno
<b>Souza et al. (2014)</b>	Batelada	Tubular	Fechado	Avaliar a eficiência da biodigestão e incineração em relação ao efeito estufa, geração de co-produtos e energia gerada.	Biogás
<b>Woo, Lee e Park (2004)</b>	Batelada	Frascos de 250 ml (geometria não informada)	Fechado	Investigar o efeito das taxas de transferência de massa e do conteúdo do solo na biorremediação.	Fenantreno
<b>Jee et al. (1998)</b>	Batelada	Frascos de 300 ml (geometria não informada)	Fechado	Avaliar a biorremediação do fenantreno em sedimentos contaminados num biorreator.	Fenantreno
<b>Lewis (2017)</b>	Batelada	Tanque perfeitamente agitado	Fechado	Avaliar a biodegradação de HPAs oriundos de resíduos de preservação da madeira em solos contaminados.	HPAs
<b>Beolchini et al. (2010)</b>	Contínuo	Frascos de 100 ml (Geometria não informada)	Aberto	Avaliar o efeito do aporte nutricional e de areia na cinética de crescimento microbiano e biodegradação dos hidrocarbonetos.	HPAs e alifáticos
<b>Li et al. (2008)</b>	Batelada	Tubular	Fechado	Testar o método de consórcios isolados na biodegradação dos 16 HPAs prioritários	HPAs
<b>Partovinia, Naeimpoor e Hejazi (2010)</b>	Batelada	Tanque perfeitamente agitado	Fechado	Investigar a eficiência de biodegradação de uma bactéria indígena em solos argilosos contaminados por n-hexadecano	N-hexadecano

Fonte: autor (2017).

**Quadro 6-** Fatores que interferem na escolha dos biorreatores (continuação do quadro1)

<b>Nasseri et al. (2010)</b>	Semi-contínuo	<b>Frascos de 300 ml (Geometria não informada)</b>	Semi-aberto	<b>Estudar os efeitos da bioacumulação de bactérias isoladas e consórcios com alta capacidade de biodegradação de HPAs</b>	<b>Fenantreno</b>
<b>Collina et al. (2005)</b>	Batelada	Frascos de 700 ml (Geometria não informada)	Fechado	Investigar a influência das taxas de agitação e de fluxo do reator modificado nas taxas de biodegradação e volatilização	Naftaleno
<b>Woo, Jeon e Park (2004)</b>	Batelada	Frascos de 250 ml (Geometria não informada)	Fechado	Investigar os efeitos de um surfactante nanionico (Triton X-100) e da indução metabólica na taxa de biodegradação do fenantreno no solo.	Fenantreno
<b>Lee et al. (2001)</b>	Batelada	Frascos de 250 ml (Geometria não informada)	Fechado	Avaliar a aplicação de solventes para enriquecimento da biovariabilidade de HPAs para biorremediação de solos contaminados.	HPAs
<b>Barbeau et al. (1997)</b>	Batelada	Tanque perfeitamente agitado	Fechado	Avaliar o efeito da bioaumentação em solos contaminados por PCP (pentaclorofenol).	PCP

Fonte: autor (2017).

$$\frac{dh}{dt} = -K \cdot h \quad (11)$$

A taxa de crescimento de biomassa foi obtida por meio da formulação 12, utilizando um modelo de Monod Dual, o BIOB. Nesta equação o  $\mu$  é limitada pela concentração de hidrocarbonetos (S) e de nitrogênio (N), além da máxima capacidade de biomassa nos poros médios ( $X_{m\acute{a}x}$ ). O  $K_S$  representou a constante de meia saturação, igual ao modelo de Monod. Já o  $K_N$  foi expresso no modelo 3 como constante de meia saturação para o nitrogênio, medido na fase líquida.

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \left(1 - \frac{X}{X_{m\acute{a}x}}\right) \cdot \frac{S}{S+K_S} \cdot \frac{N}{N+K_N} \quad (12)$$

As velocidades de crescimento de microrganismos e de consumo do substrato foram determinadas por meio das equações 13 e 14, obtidas a partir do modelo desenvolvido por Geng et al. (2016). O símbolo  $K_d$  correspondeu a taxa de decaimento de biomassa ( $\text{dia}^{-1}$ ) e o  $y_x$  é o coeficiente de produção de biomassa dado em mg X/mg S.

$$\frac{dx}{dt} = (\mu - K_d) \cdot X + \left(\frac{X}{h} \cdot \frac{dh}{dt}\right) \quad (13)$$

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu}{y_x} \cdot X + \frac{S}{h} \cdot \frac{dh}{dt} \quad (14)$$

Posteriormente, foi avaliada a sensibilidade dos parâmetros cinéticos estimados ( $X_{m\acute{a}x}$ ,  $K_d$ ,  $K_S$ ,  $K_N$  e  $y_x$ ) (equação 15) (GENG et al., 2016). Onde o F representou o valor da função objeto de otimização, o número de observações foi exposto como n e a quantidade de parâmetros estimada por  $\rho$ .

$$\sigma^2 = \left(\frac{F}{n-\rho}\right) \quad (15)$$

#### 4.4.2 Versão modificada do modelo de Monod com crescimento

Beolchini et al. (2010) adaptaram a versão logística do modelo semi-empírico de Monod com Crescimento, visando estudar os impactos do input de nutrientes e de

areia na cinética de crescimento microbiano e na biodegradação do substrato (equações 16 e 17). O motivo que levou a modificação do modelo foi o interesse em monitorar o decréscimo da abundância posterior a fase estacionária. E, para tal, estes pesquisadores utilizaram quatro biorreatores, com o intuito de simular 4 tratamentos (controle, nutriente, areia e nutriente mais areia). No quadro 2 foi realizada uma análise comparativa dos modelos de Monod, BIOB, Monod com crescimento e da versão modificada por Beolchini et al. (2010) para elucidar os critérios estabelecidos pelos autores na modelagem cinética microbiana.

$$\frac{dC}{dt} = \frac{1}{Y} \cdot K X \cdot (1 - B) \quad (16)$$

$$\frac{dX}{dt} = K X \cdot (1 - BX) + K_0 \left| \int_0^t X(t) dt \right| \quad 36$$

A equação 18 corresponde ao modelo de monod com crescimento. Esta formulação foi utilizada por Simkins e Alexander (1984) para determinar a velocidade de consumo do substrato. Nesta equação o  $X_0 = qB_0$  e o  $B_0$  é a densidade microbiana no tempo zero. Além disto, conforme estes autores, o valor do inverso do rendimento ( $q$ ) é constante quando não há entrada de nutrientes (bioestimulação). Entretanto, como Beolchini et al. (2010) trabalharam com imput nutricional, o  $q$  foi considerado variável ao longo do tempo.

$$\frac{-dS}{dt} = \mu_x \cdot S \cdot (S_0 + X_0 - S) / (K_s + S) \quad (18)$$

Nos quadros 3 e 4 foi possível observar ao comparar os modelos adaptados com o modelo original que apesar das alterações efetuadas na modelagem, todos partiram da mesma premissa. Confirmando desta forma, que a cinética de biodegradação poderia ser explicada através das variáveis dependentes concentração do substrato e a quantidade de microrganismos. Porém as técnicas de ajustes e os parâmetros estimados foram modificadas conforme a limitação do modelo e o objetivo do estudo.

#### 4.4.3 Modelo cinético de 1º ordem

Chen et al. (2008) aplicaram um design experimental ortogonal, visando-se investigar os efeitos da temperatura, da salinidade, da adição de nutrientes, do tamanho do inóculo e da concentração de fenantreno na cinética de biodegradação.

**Quadro 7** - Comparação das versões alteradas de Monod com o modelo original.

Autor (ano)	Variáveis dependentes	Modelos	Técnica de ajuste dos parâmetros estimados	Parâmetros estimados	Fator limitante	SUBST./MICRO.	MATRIZ	OPERAÇÃO
<b>Monod (1942)</b>	Abundância de microrganismos + Concentração do substrato	$\mu = (\mu_x \cdot S)/(K_s + S)$	Análise de regressão não linear	$\mu_x$ e $K_s$	$\mu_x$	<i>Lactose</i> e <i>Glicose/ Escherichia coli</i> e <i>Bacillus subtilis</i>	Água /Sedimento	Batelada
<b>Geng et al. (2016)</b>		$\frac{dx}{dt} = (\mu - K_d) \cdot X + \left(\frac{X}{h} \cdot \frac{dh}{dt}\right)$ $\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu}{y_x} \cdot X + \frac{S}{h} \cdot \frac{dh}{dt}$ $\mu = \mu_{\text{máx}} \cdot \left(1 - \frac{X}{X_{\text{máx}}}\right) \cdot \frac{S}{S + K_S} \cdot \frac{N}{N + K_N}$	Análise de sensibilidade	$K_d$ , $K_S$ , $\mu_{\text{máx}}$ , $K_N$ e $y_x$	$X_{\text{máx}}$ , N e S	HPAs ALCANOS /Não identificado	Sedimento de praia	Batelada

Fonte: autor (2017).

Quadro 8 – Continuação do quadro 2

Simkins e Alexander (1984)		$\frac{-dS}{dt} = \mu_x \cdot S \cdot (S_0 + X_0 - S) / (K_s + S)$	Análise de regressão não linear	$\mu_x, q, X_0$ e $K_s$	$\mu_x$	Benzoato/ <i>Pseudomonas</i> <i>sp.</i>	Água	Batelada
Beolchini et al. (2010)		$\frac{dC}{dt} = \frac{1}{Y} \cdot K X \cdot (1 - B)$  $\frac{dX}{dt} = K X \cdot (1 - BX) + K_0 \int_0^t X(t) dt$  $X(0) = X_0$ e $C(0) = C_0$ (X-Biomassa e C –Concentração)	Análise de regressão não linear	B, K, $K_0$ e Y	$K_0$ (Pode ser a predação ou um nutriente limitante)	HPAs ALCANOS /Procariontes	Sedimento de praia	Contínuo

Fonte: autor (2017).

O modelo utilizado por estes estudiosos foi o cinético de primeira ordem e os microrganismos estudados foram da espécie *Shinigomonas sp.* Na equação 19 o C representou a concentração deste substrato no tempo t e C<sub>0</sub> foi exposto neste modelo como a concentração inicial. Assim como nos trabalhos de Monod (1942), Simkins e Alexander (1984) e Geng et al. (2016) o sistema utilizado operou em batelada.

$$C = C_0 \cdot e^{-kt} \quad (19)$$

#### 4.5 MODELOS CINÉTICOS APLICADOS EM SOLOS

Fernández et al. (2016) criaram um modelo para avaliar o processo de biorremediação em solos argilosos poluídos com óleo diesel em um biorreator heterogêneo, composto de 4 fases (ar, água, NAPL e solo). Este modelo foi o resultado da combinação do modelo de monod com o modelo de transferência de massas, o qual foi aplicado para as quatro fases. Conforme formulado pelos autores na equação 20, a variação total da concentração do substrato foi considerada a soma das variações nas quatro fases. Nesta formulação os coeficientes C<sub>s</sub>, C<sub>T</sub>, C<sub>V</sub>, C<sub>A</sub> e C<sub>NAPL</sub> são respectivamente as concentrações do diesel adsorvida no sedimento, total, volatilizada na fase gasosa, dissolvida na fase líquida e livre como fase orgânica pura/kg de massa seca do sedimento. As equações 21, 22, 23, 24 e 25 foram desenvolvidas para representar os processos de degradação e transporte de massa nas fases sólida, líquida, NAPL e gasosa, respectivamente. Onde o f<sub>A</sub> correspondeu a taxa constante de massa de água e do solo.

$$\frac{dC_T}{dt} = \frac{dC_s}{dt} + f_A \cdot \frac{dC_A}{dt} + \frac{dC_{NAPL}}{dt} + \frac{dC_V}{dt} \quad (20)$$

$$\frac{dC_s}{dt} = J_n - f_A \cdot K_{S-A} \cdot (C_{Ae} - C_A) - (\mu_{m\acute{a}x} \cdot (C_A - C_{Al}) \cdot X) / (K_S/f_A + C_A - C_{Al}) \quad (21)$$

$$\frac{dC_A}{dt} = K_{S-A} \cdot (C_{Ae} - C_A) + K_{NAPL-A} \cdot (C_{Ae} - C_A) - (\mu_{m\acute{a}x} \cdot (C_A - C_{Al}) \cdot X) / (K_S/f_A + C_A - C_{Al}) \quad (22)$$

$$\frac{dC_{NAPL}}{dt} = -J_n - K_{NAPL-V} \cdot (C_{VE} - C_V) - f_A \cdot K_{NAPL-A} \cdot (C_{Ae} - C_A) - (\mu_{m\acute{a}x} \cdot (C_{NAPL} - C_{NAPLI}) / K_S + C_{NAPL} - C_{NAPLI}) \cdot X \cdot \frac{1}{Y_{x/s}} \quad (23)$$

$$\frac{dC_V}{dt} = K_{NAPL-v} \cdot (C_{VE} - C_V) \quad (24)$$

$$\frac{dX}{dt} = ((\mu_{\text{máx}} \cdot (C_A - C_{AI}) \cdot X) / (K_S + C_A - C_{AI})) + (\mu_{\text{máx}} \cdot (C_{NAPL} - C_{NAPLI})) \cdot X - K_d \cdot X) / (K_S + C_{NAPL} - C_{NAPLI}) \quad (25)$$

Srinivasan et al. (2014) aplicaram três modelos não lineares bifásicos para avaliar o processo de dissipação de químicos orgânicos em solos. Sendo assim, solos com variadas condições de concentração, temperatura e profundidade foram testados. Estes modelos foram denominados como: decaimento bi-exponencial (BEXP), decaimento exponencial de dupla primeira ordem (FODED) e o decaimento compartimentado de segunda e primeira ordem (FOTC), os quais podem ser observados, respectivamente, nas equações 26, 27 e 28.

Na equação 26 o M corresponde a concentração do contaminante no tempo medido, o  $M_0$  é a concentração no tempo zero e  $K_1$  e  $K_2$  são as constantes cinéticas de primeira e segunda ordem, respectivamente.

$$M = \frac{K_1 \cdot M_0}{(K_1 + K_2 \cdot M_0) e^{K_1 \cdot t} - K_2 \cdot M_0} \quad (26)$$

Na equação 27 o  $M_{\text{sorb}}$  é a concentração sorvida no solo e o  $M_{\text{sol}}$  representa a concentração em solução.

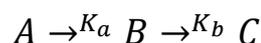
$$M(t) = M_1(t) + M_2(t) = M_{\text{sol}} \cdot e^{-K_1 \cdot t} + M_{\text{sorb}} \cdot e^{-K_2 \cdot t} \quad (27)$$

$$M = M_0 \cdot e^{-(k_1 + K_R)t} + M_0 \cdot \frac{k_R}{K_1 + K_R + K_2} \cdot (e^{-K_2 \cdot t} - e^{-(K_1 + K_R)t}) \quad (28)$$

Deary et al. (2016) propuseram um modelo de dupla exponencial para estudar o processo de biodegradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em solos, na presença e ausência de chumbo e cádmio como co-contaminantes (equação 29). Este modelo considerou que os 16 HPAs analisados estavam dispostos em fases distintas e em níveis diferenciados de biodisponibilidade no solo. Conforme os resultados obtidos por estes autores, o cádmio e o chumbo exerceram um efeito deletério na taxa de crescimento de microrganismos e, conseqüentemente no processo de biodegradação. Na formulação 29 a concentração total de HPAs extraídos foi expressa como  $[HPA_{TE}]$ , as constantes cinéticas dos processos sequenciados como  $K_a$  e  $K_b$  (figura 2) e as frações de  $[HPA_{TE}]$  como  $\sigma_A$  e  $\sigma_B$ .

$$[HPA_{TE}] = [HPA_{TE}]_0 \cdot \sigma_A \cdot e^{-K_a t} + [HPA_{TE}]_0 \cdot \sigma_B \cdot e^{-K_b t} \quad (29)$$

**Figura 8** - Esquema ilustrativo dos processos envolvidos na reação



**Fonte:** Deary et al. (2016).

Nos quadros 5 e 6 foram comparados os modelos de Fernández et al. (2016), Srinivasan et al. (2014) e Deary et al. (2016). E, conforme postulados nos modelos, a fase do contaminante, assim como as condições do ambiente que se busca estudar interferem no processo de biodegradação e, conseqüentemente na modelagem cinética.

#### 4.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os poluentes orgânicos podem estar no ambiente associados a matrizes sólidas, dispersos no ar ou dissolvidos em meio líquido. Todavia, para que isto ocorra são necessárias interações destes compostos com as matrizes avaliadas. Em sedimentos e solos, por exemplo, o tipo de matriz, a estrutura química do contaminante, a solubilidade em água, a porosidade, a permeabilidade e a hidrodinâmica vão interferir no acesso destes compostos a microbiota. Logo, buscando entender estes processos, Fernández-Fernández (2016) e Srinivasan et al. (2014) estudaram a cinética de microbiana de Monod combinada com modelos de adsorção e de transferência de massas. Estas versões adaptadas do modelo precursor vêm auxiliando na compreensão dos mecanismos que interferem na biodegradação. Desta forma, identificou-se uma grande demanda por pesquisas voltadas a modelar também os fatores que interferem na biodegradação, como a salinidade, a temperatura, a textura da matriz sólida, o tamanho do inócuo, as características de operação e geometria do sistema, o pH e as perdas por processos físicos de remoção do contaminante, como por exemplo, a volatilização.

Os biorreatores são sistemas catalíticos aplicados no controle da eficiência de bioprocessos e são escolhidos de forma concordante ao objetivo do estudo. É válido ressaltar que esta seleção é embasada em critérios como o tipo de escoamento, a quantidade de fases envolvidas, assim como a matriz e o contaminante. Nestes sistemas as reações de catabolismo podem ser aceleradas pela adição de nutrientes ou de microrganismos e, os fatores adversos podem ser estimados por meio modelos

**Quadro 9-** Análise comparativa das versões adaptadas do modelo de Monod aplicadas para biodegradação em solos (parte 1)

Autor (ano)	Modelos	Técnica de ajuste dos parâmetros estimados	Parâmetros estimados	Programa	Substrato	Operação
Fernández et al. (2016)	$\frac{dC_t}{dt} = \frac{dC_S}{dt} + f_A \cdot \frac{dC_A}{dt} + \frac{dC_{NAPL}}{dt} + \frac{dC_V}{dt}$ $\frac{dC_S}{dt} = J_n - f_A \cdot K_{S-A} \cdot (C_{Ae} - C_A) - (\mu_{m\acute{a}x} \cdot (C_A - C_{AI}) \cdot X) / (K_S / f_A + C_A - C_{AI})$ $\frac{dC_A}{dt} = K_{S-A} \cdot (C_{Ae} - C_A) + K_{NAPL-A} \cdot (C_{Ae} - C_A) - (\mu_{m\acute{a}x} \cdot (C_A - C_{AI}) \cdot X) / (K_S / f_A + C_A - C_{AI})$ $\frac{dC_{NAPL}}{dt} = -J_n - K_{NAPL-V} \cdot (C_{VE} - C_V) - f_A \cdot K_{NAPL-A} \cdot (C_{Ae} - C_A) - (\mu_{m\acute{a}x} \cdot (C_{NAPL} - C_{NAPLI}) / (K_S + C_{NAPL} - C_{NAPLI}) \cdot X \cdot \frac{1}{Y_{X/S}})$ $\frac{dC_V}{dt} = K_{NAPL-V} \cdot (C_{VE} - C_V)$ $\frac{dX}{dt} = ((\mu_{m\acute{a}x} \cdot (C_A - C_{AI}) \cdot X) / (K_S + C_A - C_{AI})) + (\mu_{m\acute{a}x} \cdot (C_{NAPL} - C_{NAPLI}) \cdot X - K_d \cdot X) / (K_S + C_{NAPL} - C_{NAPLI})$	Análise de regressão não linear	K <sub>S-A</sub> , K <sub>NAPL-A</sub> , K <sub>NAPL</sub> , μ <sub>máx</sub> , K <sub>S</sub> , Y <sub>X/S</sub> , K <sub>d</sub> e o &	Estatístico R	Diesel (HTPs)	Batelada

Fonte: autor (2017).

**Quadro 10-** Análise comparativa das versões adaptadas do modelo de Monod aplicadas para biodegradação (parte 2)

Autor (ano)	Modelos	Técnica de ajuste dos parâmetros estimados	Parâmetros estimados	Programa	Substrato	Operação
Srinivasan et al. (2014)	$M = \frac{K1 \cdot M_0}{(K1 + K2 \cdot M_0)e^{K1 \cdot t} - K2 \cdot M_0}$ $M(t) = M_1(t) + M_2(t) = M_{sol} \cdot e^{-K1 \cdot t} + M_{sorb} \cdot e^{-K2 \cdot t}$ $M = M_0 \cdot e^{-(k_1 + K_R)t} + M_0 \cdot \frac{k_R}{K_1 + K_R + K_2} \cdot (e^{-K_2 \cdot t} - e^{-(K_1 + K_R)t})$	Gradiente reduzido não linear generalizado	$K_1, K_2$ e $K_R$	Excel Solver	Químicos orgânicos	Batelada
Deary et al. (2016)	$[HPA_{TE}] = [HPA_{TE}]_0 \cdot \sigma_A \cdot e^{-K_a t} + [HPA_{TE}]_0 \cdot \sigma_B \cdot e^{-K_b t}$	Análise de regressão não linear	$\sigma_A, \sigma_B, K_a$ e $K_b$	Mathcard 15	HPAs	

Fonte: autor (2017).

cinéticos microbianos. Portanto, a modelagem cinética microbiana de Monod e adaptações são ferramentas que podem auxiliar na compreensão da biodegradação de poluentes orgânicos, na quantificação da eficiência de bioprocessos, na previsão das velocidades de degradação dos compostos e na geração de produtos. Além da otimização dos sistemas.

Apesar da relevância temática, poucos trabalhos de modelagem cinética microbiana têm sido aplicados para solos e sedimentos. Além disto, mais de 90% destas pesquisas foram desenvolvidas em sistemas que operaram em batelada, provavelmente para garantir um melhor controle dos intermediários gerados.

#### 4.7 AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado graças ao suporte intelectual do Programa de Pós-graduação em Geoquímica Petróleo e Meio Ambiente, à infraestrutura do Laboratório de Estudos do Petróleo- LEPETRO e ao fomento do CNPq.

## 5 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DO BIORREATOR NA CINÉTICA DE BIODEGRADAÇÃO DO SEDIMENTO DE MANGUEZAL CONTAMINADO POR PETRÓLEO DA BACIA DE CAMPOS

### RESUMO

O ecossistema de manguezal apesar da relevância ecológica e social é constantemente afetado por derramamentos petrolíferos que comprometem a qualidade ambiental e afetam a diversidade microbológica. Os biorreatores são sistemas catalíticos que vêm sendo aplicados para compreender a cinética na qual ocorrem os bioprocessos. O objetivo deste artigo foi avaliar a eficiência do biorreator na cinética de biodegradação de hidrocarbonetos totais do petróleo (HTPs) da bacia de Campos presentes no sedimento de manguezal. Os HTPs foram determinados por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama, a contagem das unidades formadoras de colônias foi efetuada através da técnica de micro gotas e a velocidade de consumo dos HTPs foi calculada através da aplicação do modelo de Simkins e Alexander (1984). O biorreator tipo bandeja, heterogêneo, de fundo perfurado e operação contínua foi eficiente em relação a cinética de biodegradação dos hidrocarbonetos totais do petróleo. O procedimento experimental contribuiu para a eficiência dos bioprocessos. A velocidade de consumo foi significativamente distinta nas unidades de simulação do tratamento contaminado, apesar de terem sido realizados os mesmos procedimentos experimentais.

**Palavras-chave:** Biorreator. Degradação. Sedimento. Geoquímica

### ABSTRACT

The mangrove ecosystem despite ecological and social relevance is constantly affected by oil spills that compromise environmental quality and affect microbiological diversity. Bioreactors are catalytic systems that have been applied to understand the kinetics in which bioprocesses occur. The objective of this article was to evaluate the efficiency of the bioreactor in the biodegradation kinetics of total petroleum hydrocarbons (HTPs) of the Campos basin present in the mangrove sediment. The HTPs were determined by gas chromatography with flame ionization detector, the counting of the colony forming units was done using the micro droplets technique and the consumption rate of the HTPs was calculated using the model of Simkins and Alexander (1984). The bioreactor type tray, heterogeneous, perforated bottom and continuous operation was efficient in relation to the biodegradation kinetics of total petroleum hydrocarbons. The experimental procedure contributed to the efficiency of bioprocesses. The consumption velocity was significantly different in the simulation units of the contaminated treatment, although the same experimental procedures were performed.

**Keywords:** Bioreactor. Degradation. Sediment. Geochemistry

## 5.1 INTRODUÇÃO

A interação dos poluentes orgânicos com matrizes ambientais pode resultar em efeitos deletérios a micro e macrobiota (REN et al., 2018). Os ciclos biogeoquímicos (nitrogênio, enxofre, oxigênio, água, dentre outros), assim como o intemperismo, a composição mineralógica do argilomineral, a porosidade, a permeabilidade, a quantidade de matéria orgânica, as condições de oxirredução da matriz, a hidrodinâmica e a estrutura química do poluente são fatores que vão influenciar no crescimento dos microrganismos e, conseqüentemente no processo de biodegradação<sup>2</sup> (BAYER, 2012; BULMER et al., 2017).

No caso do petróleo, por exemplo, a biodegradação pode ocorrer em duas fases, inicialmente rápida, com elevada abundância de poucas espécies, e posteriormente lenta, com alta riqueza de espécies e pouca abundância (GRATIVOL et al., 2017; KAPLAN; KITTS, 2006). Assim, os derramamentos de petróleo em zonas costeiras representam uma das principais causas de morte de plantas, animais e microrganismos em ecossistema de manguezal (CABRAL et al, 2016; DUCAN et al., 2017; MADI et al., 2016; UCHÔA, 2014).

O petróleo lançado de forma inadequada no sedimento de manguezal pode ficar adsorvido nesta matriz sólida e servir de alimento para bactérias que possuem a capacidade de utiliza-lo como fonte de carbono, para o crescimento celular ou para geração de novos compostos (GONZÁLEZ; MARQUÉS, 2016; JUNIOR; CRUZ, 2016).

A simulação das condições físico-químicas de ecossistemas em biorreatores tem sido uma estratégia eficaz para avaliar a velocidade de biodegradação de poluentes orgânicos (BADINO JUNIOR; CRUZ, 2016). Estes sistemas também conhecidos como reatores bioquímicos e reatores biológicos são utilizados com o objetivo identificar rotas metabólicas de degradação, assim como visando entender a cinética de bioprocessos (AMIN et al., 2017; ASIF et al., 2017; DUCAN et al., 2017).

Quando o objetivo do estudo consiste em avaliar a cinética de geração de produto é fundamental utilizar sistemas fechados, para evitar a perda de compostos para a atmosfera por volatilização (HERRERA et al., 2017). Logo, o uso de reatores

---

<sup>2</sup> Quebra de moléculas orgânicas por ação de enzimas oriundas dos microrganismos durante o catabolismo do substrato (FISCHER; MANEFIELD; BOMBACH, 2016)

que operam em batelada, ou seja, em pressão ou volume constantes, é comum quando se deseja gerar pequenas quantidade de produto e ter maior controle do processo (JUNIOR; CRUZ, 2016). Porém há biorreatores que operam de forma semi-contínua e contínua, geralmente utilizados quando o intuito é apenas mensurar as velocidades de consumo de substrato e de crescimento celular (HERRERA et al., 2017). Além disto, estes reatores bioquímicos podem ser homogêneos (uma fase) ou heterogêneos (mais de uma fase), apresentar uma geometria tubular (em forma de tubulações) ou de tanque agitado (forma de tanque com agitador no centro do biorreator) (HERRERA et al., 2017).

Os reatores biológicos podem ter ou não células vivas, denominados respectivamente como não enzimáticos e enzimáticos (RIZZO et al., 2007). Além disto, conforme as condições de agitação do sistema, o tipo e as características do microrganismo estes reatores podem estar em fase aquosa e em fase não aquosa (sem água livre) (SALLES, 2013). Sendo que os biorreatores em fase aquosa podem ser classificados de acordo com as condições do meio de cultura em células ou enzimas livres (agitados mecanicamente –STR, de fluxo pistolado e os agitados pneumaticamente), células ou enzimas imóveis em suporte (reatores de leito fluido e de leito fixo) e células ou enzimas retidas em membranas (reatores com membrana plana ou fibras ocas) (DUCAN et al., 2017; RIZZO et al., 2006).

Os reatores bioquímicos em fase não aquosa podem ser classificados em quatro grupos e requerem maior controle das condições de operação (SALLES, 2013). São exemplos destes tipos de sistemas os de aeração superficial e sem agitação (reatores bandejas), com aeração na superfície e com agitação (tambor rotativo), com aeração forçada e sem agitação (biorreator empacotado) e com a aeração forçada e com agitação (RIZZO et al., 2007).

Neste estudo avaliou-se a eficiência de um biorreator tipo bandeja, não enzimático, com fundo perfurado e heterogêneo para avaliar a cinética de biodegradação do petróleo da bacia de Campos presente em sedimento de manguezal.

## 5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais métodos foram divididos em área de estudo e amostragem, caracterização do biorreator, análise estatística, modelo cinético e controle de qualidade do experimento.

### 5.2.1 Área de estudo e amostragem

Em agosto de 2016, período chuvoso, foi realizada a amostragem da água de estuário e do sedimento que compuseram o biorreator. O sedimento de manguezal foi coletado no ponto 2 (Estação de Pedra Branca) e a água no ponto 1 (Píer), situados na porção norte da baía de Todos os Santos –BTS (12° 44' 26,0" (S) e 38° 31' 53,9" (W)), nas imediações da Refinaria Landulfo Alves de Mataripe – RLAM (figura 9). A coleta do sedimento foi realizada durante a maré baixa, utilizando testemunhadores de metal inoxidável e posteriormente armazenado em recipientes de alumínio. E a água distribuída em reservatórios com capacidade de 20L. O ponto três não foi utilizado nest pesquisa, pois as análises físico-químicas foram efetuadas no Laboratório de Estudos do Petróleo –LEPETRO/UFBA.

### 5.2.2 Caracterização do biorreator

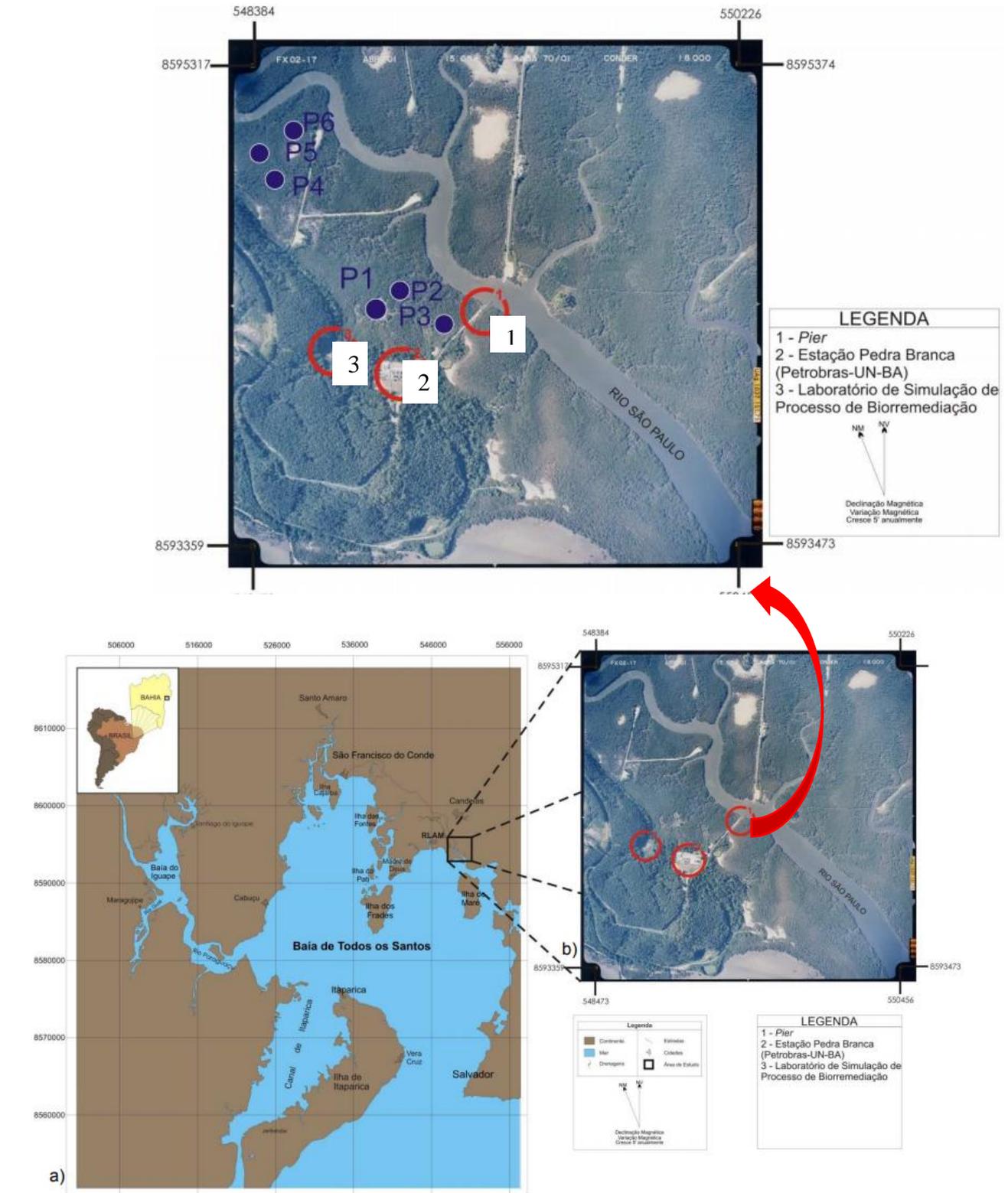
O biorreator utilizado para avaliação da cinética de biodegradação do petróleo foi caracterizado como heterogêneo, por apresentar água, sedimento e o petróleo (BADINO JUNIOR; CRUZ, 2016). Este biorreator foi anteriormente desenvolvido por Moreira et al. (2012) e adaptado pela equipe de pesquisadores formada por Bonfim, M.P.S., Franco, E. D. S. S., Silva, J. V. L e Santos, N.C.

O delineamento experimental foi composto de dois tratamentos (com contaminação por petróleo e sem contaminação). E, para verificar se o óleo interferia no crescimento de colônias comparou-se os parâmetros do tratamento contaminado com o tratamento sem petróleo.

O biorreator utilizado apresentou a soma dos trechos de subida igual a 138,8 cm e a soma dos trechos de descida igual a 19,5 cm. Além disto, a quantidade e os acessórios foram os mesmos para cada unidade de simulação que compôs cada

tratamento, visando tornar similares as perdas de carga entre os sistemas, conforme as tabelas 1 e 2. Cada biorreator foi denominado de unidade de simulação.

**Figura 9-** Localização dos pontos de amostragem



Fonte: Adaptado de Moreira (2010).

**Quadro 11-** Dimensões e quantidades de acessórios utilizados por unidade de simulação de descida

<b>Acessórios/unidade de simulação</b>	<b>Trechos/ Unidade de simulação</b>	<b>Tubulação/unidade de simulação</b>
<b>1 Adaptador para bóia (luva de redução)</b>	$T_1 = 14,2 \text{ cm}$	SUBIDA
<b>3 Joelhos de 90°</b>	$T_2 = 68,8 \text{ cm}$	
<b>1 Adaptador para bomba</b>	$T_3 = 16,8 \text{ cm}$	
<b>1 Entrada (m)</b>	$T_4 = 39 \text{ cm}$	
<b>1 Saída (m)</b>	Soma dos trechos= 138,8 cm	

Fonte: autor (2017).

**Quadro 12 -** Dimensões e quantidades de acessórios utilizados por unidade de simulação de subida

<b>Acessórios/unidade de simulação</b>	<b>Trechos/ Unidade de simulação</b>	<b>Tubulação/unidade de simulação</b>
<b>1 Adaptador de frange (luva de redução)</b>	$T_1 = 14,2 \text{ cm}$	DESCIDA
<b>2 joelhos de 90°</b>	$T_2 = 68,8 \text{ cm}$	
<b>1 adaptador de torneira (luva de redução)</b>	$T_3 = 16,8 \text{ cm}$	
<b>Entrada (m)</b>	Soma dos trechos= 19,5 cm	
<b>Saída (m)</b>		

Fonte: autor (2017).

Ao todo foram montadas 6 unidades de simulação (3 controles e 3 contaminadas). Cada unidade tinha 2 tubulações, e para cada tubulação o fluxo de água escoava de forma distinta, além disto era composto de dois reservatórios, um timer, uma bomba (consumo= 11 w,  $Q = 650 \text{ L/h} = 0,18 \text{ L/s}$  e  $H_{\text{manométrica da bomba}} = 120 \text{ cm} = 1,20 \text{ m}$ ) e uma bóia de nível. O nível da maré baixa era controlado por uma frange localizada no próprio reservatório superior (34,2cm x 25,2cm x 35 cm) e o da maré alta pela bóia de nível (figura 10).

O biorreator apresentou geometria tubular e formato tipo bandeja, com furos na parte inferior para permitir um maior contato da água que circulava no sistema por tubulação com o sedimento disposto nos reservatórios menores inseridos no reservatório superior. A velocidade  $v_{\text{recalque}} = 1,59 \text{ m/s}$ , a perda de carga distribuída

recalque= 0,031m/m, o nº de Reynolds recalque = 30286 (escoamento turbulento), a perda de carga localizada recalque = 0,73 m/m e a perda de carga total recalque = 0,76m/m.

**Figura 10-** Biorreator adaptado de Moreira et al. (2012)



Fonte: autor (2017).

Dois bioprocessos foram simulados no biorreator. Na etapa 1 (T0, T20, T42, T62, T99) apenas a biorremediação e na etapa 2 (T118, T133, T153 e T187) a biorremediação mais a fitorremediação com a espécie *Rizhophora mangle*. O processo de homogeneização do sedimento foi diferente. Quando não tinha a planta todo o sedimento referente a respectiva unidade de simulação era homogeneizado. Entretanto quando se adicionou o mangue vermelho apenas o sedimento referente ao mini reservatório foi misturado.

Os valores do índice preferencial de carbono no tratamento controle indicaram que a fonte de hidrocarboneto não era petrolífera, comprovando assim que o sedimento utilizado para a montagem do sistema de referência não estava contaminado com petróleo. Mas, para o sedimento contaminado artificialmente em laboratório estes valores foram próximos a um, indicando uma contribuição petrolífera. O índice preferencial de carbono é um parâmetro utilizado para estimar se os hidrocarbonetos são oriundos do petróleo ou possuem origem natural. Sendo para tal, definido que valores distantes de um e próximos de quatro e sete podem indicar

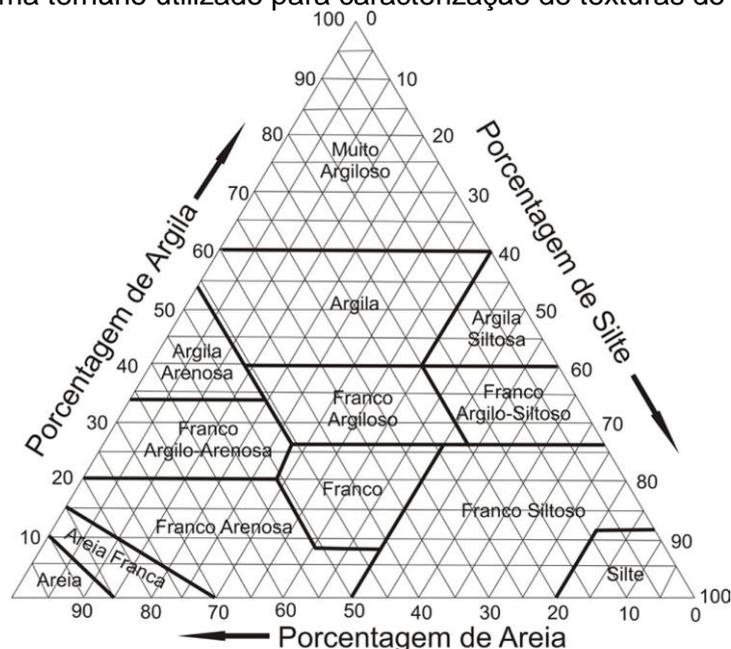
origem biogênica, já quando próximos a um podem representar uma possível contribuição petrogênica (ABOUL-KASSIM; SIMONEIT, 1996).

As amostras de sedimento foram homogeneizadas, divididas e distribuídas nos reservatórios menores (22,8 cm x 10,1 cm x 10,1 cm). Sendo que 84 kg deste montante de sedimento foi contaminado com 0,5 L de petróleo da bacia de Campos e uma parcela removida para caracterização do sedimento e análises químicas. O procedimento pré-analítico das amostras utilizadas para as análises de HTP e HPA consistiu na liofilização por 72 horas e na posterior desagregação e peneiração em malha de 2mm.

### 5.2.3 Análises físico-químicas

A textura da matriz sólida foi obtida por meio da análise granulométrica realizada em um analisador de partículas (Modelo Cilas 1064), por meio do método de difração a laser. Posteriormente adicionou-se os valores obtidos em um diagrama ternário desenvolvido pela U.S.D.A. (1951) para caracterização da textura do sedimento da muda e do sedimento de manguezal (figura 11)

**Figura 11-** Diagrama ternário utilizado para caracterização de texturas do sedimento.



Fonte: U.S.D.A. (1951) *apud* Lemos e Santos (1996).

O método 3051A (extração em microndas) foi utilizado para a determinação de HTP e HPA no sedimento. Posteriormente, os extratos foram injetados em um cromatógrafo movido a gás (marca VARIAN, modelo CP3800), com coluna capilar DB 5 e detector de ionização de chama (CG/FID) para a determinação dos hidrocarbonetos totais do petróleo. Os HPAs foram detectados por cromatografia gasosa (marca VARIAN) acoplado a um espectrômetro de massas (GC/MS).

Nas amostras de água o método de extração aplicado foi o da U.S. EPA 3510C (extração líquido-líquido). Posteriormente, houve a concentração deste extrato com o auxílio de um rotovaporador, modelo R-215 e, por fim, transferidos para vials e encaminhados para leitura nos cromatógrafos gasosos. A leitura de HTP foi realizada no cromatógrafo a gás, modelo CP3800, com coluna capilar DB 5 e detector de ionização de chama (CG/FID) e a determinação de HPA no cromatógrafo a gás (VARIAN), acoplado a um espectrômetro de massas (GC/MS).

As unidades formadoras de colônias foram contadas através da aplicação da técnica de micro gotas de Romeiro (2001) e o meio de cultura utilizado foi o Agar Nutriente.

#### **5.2.4 Análise estatística**

A análise de variância não paramétrica foi utilizada para verificar a diferença entre os tratamentos. Uma vez observada diferença significativa fez-se o teste de Tukey, para identificar em qual intervalo de tempo esta diferença foi significativa e o Levene teste para observar a homogeneidade das variâncias.

#### **5.2.5 Modelo cinético**

Os modelos cinéticos desde 1942 são aplicados para a compreensão do processo de metabolização de compostos pelos microrganismos e um dos precursores deste tipo de estudo foi Monod. Este estudioso acreditava que o crescimento de microrganismos podia estar associado ao processo de degradação de compostos, os quais seriam utilizados como fonte de carbono pelos microrganismos. Este modelo foi testado e adaptado por diversos pesquisadores para sistemas em batelada, contínuo e semi-contínuo, sendo dois destes pensadores, Simkins e Alexander (1984).

Conforme postulado por Monod (1942) o  $\mu$  era a taxa de crescimento específico de microrganismos,  $\mu_{\text{máx}}$  a taxa máxima de crescimento da microbiota, o  $K_s$  a concentração de meia saturação e o  $S$  a concentração do contaminante no tempo  $t$  (equação 30).

$$\mu = (\mu_x \cdot S) / (K_s + S) \quad (30)$$

O modelo utilizado neste artigo foi o Simkins e Alexander (1984) (Equação 31). No qual o símbolo  $\mu_{\text{máx}}$  representa a taxa máxima de crescimento de microrganismos, o  $S$  a concentração de HTP no tempo  $t$  e o  $S_0$  a concentração de HTP no tempo zero, o  $K_s$  a concentração na qual a taxa de crescimento específico é a metade da taxa máxima, o  $X_0$  o produto do inverso do fator de rendimento ( $q$ ) vezes a densidade de microrganismos no tempo zero ( $B_0$ ).

$$\text{Velocidade de consumo do substrato} = \mu_{\text{máx}} \cdot S (S_0 - X_0 - S) / (K_s + S) \quad (31)$$

### 5.2.6 Controle de qualidade do experimento

Para avaliar o percentual de recuperação dos analitos nas amostras adicionou-se o surrogate (Terfenil D4). As amostras tiveram uma recuperação aceitável de 60 a 120% (RIBANI et al., 2004). Além disto foi realizado 1 branco para cada lote de 10 amostras, assim como feitas réplicas de bancada. Os reagentes n-hexano (96% de pureza), acetona (99,8% pureza) e o Diclorometano (99,8% de pureza) foram da marca MERCK e o Tween 80 da marca USP SYNTH.

## 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

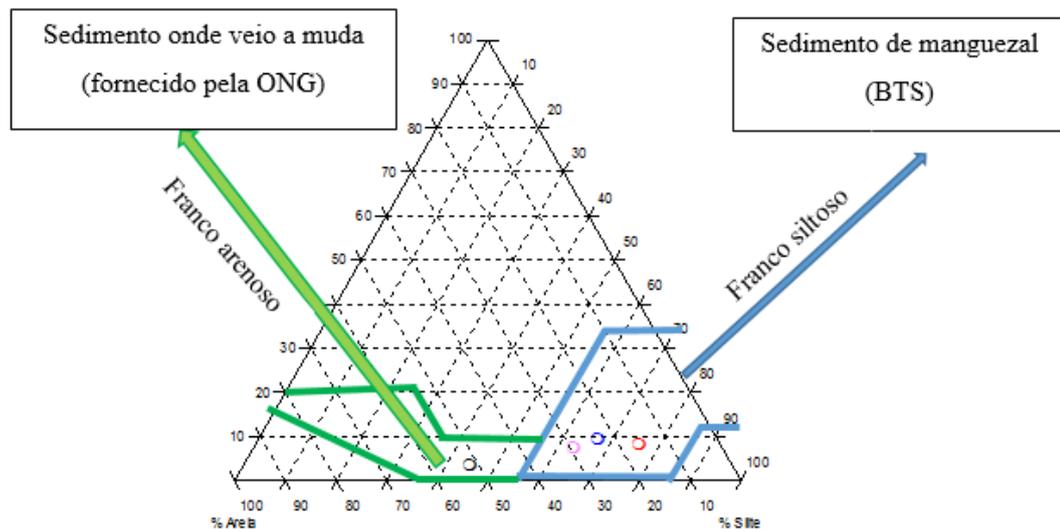
Os resultados e discussão foram subdivididos nas seguintes seções: caracterização da matriz sólida, caracterização da matriz líquida, caracterização do petróleo e análise estatística e avaliação da biodegradação.

### 5.3.1 Caracterização da matriz sólida

A textura do sedimento é um dos fatores que interfere na cinética de degradação microbiana em matrizes sólidas (FERNANDÉZ-FERNANDÉZ, 2014). As amostras de

sedimento de manguezal apresentaram textura franco siltosa, com a predominância de 75% da fração silte, enquanto que nas amostras do sedimento da muda a textura foi franco arenosa, com percentual de areia de 52,01% (figura 12).

**Figura 12-** Textura do sedimento obtida conforme o diagrama da USDA (1951)



Fonte: autora (2017).

Beolchini et al. (2010) avaliaram o efeito da adição de areia e de nutrientes na degradação de hidrocarbonetos e constataram que a areia potencializou o acréscimo no transporte de contaminantes, haja visto que a areia geralmente por ser mais permeável em comparação às partículas de granulometria fina propicia uma maior percolação de compostos. Todavia ao homogeneizar sedimentos de texturas distintas, como por exemplo, um sedimento arenoso com um argiloso, pode melhorar a percolação e o acúmulo de compostos orgânicos e da própria matéria orgânica, além de torná-los mais acessíveis aos microrganismos e às plantas (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010; ONO; KUBITZA, 2003). Assim, o aumento do número de colônias no primeiro tempo da etapa 2 pode ser justificado pela mistura do sedimento franco arenoso com o franco siltoso. Logo o processo de homogeneização do sedimento pode ter interferido na acessibilidade dos compostos aos microrganismos e conseqüentemente no crescimento das colônias.

### 5.3.2. Caracterização da matriz líquida

A água de estuário do rio São Paulo utilizada no biorreator foi enquadrada como água salina de classe 1 (BRASIL, 2005). As concentrações de oxigênio dissolvido, nitrito e de fósforo estavam em desconformidade com a resolução CONAMA 357, conforme as tabelas 3 e 4. O pH ficou na faixa de 6,5 a 8,5, considerada ideal para o crescimento de microrganismos e a temperatura manteve-se entre 25 a 30°C, indicada por Tate (1995) como uma faixa adequada para a metabolização de hidrocarbonetos do petróleo.

**Tabela 3-** Comparação das características físico-químicas da água utilizada no biorreator para simulação da variação de maré com as exigidas para a classe de corpo hídrico pela resolução CONAMA 357 (parte 1)

	<i>pH</i>	<i>OD</i> ( <i>mg L<sup>-1</sup></i> )	<i>TEMP. (°C)</i>	<i>SAL.</i>	<i>FÓSFORO</i> ( <i>mg L<sup>-1</sup></i> )
<b>Estuário do rio São Paulo</b>	7,22	4,45	27,68	34,3	0,1
<b>CONAMA 357</b>	6,5-8,5	Não pode ser < 6	44-45°C (crescimento de coliformes termo tolerantes)	≥ 30	0,062

Fonte: autora (2017).

**Tabela 4-** Comparação das características físico-químicas da água utilizada no biorreator para simulação da variação de maré com as exigidas para a classe de corpo hídrico pela resolução CONAMA 357 (parte 2)

	<b>Nitrito</b> ( <i>mg L<sup>-1</sup></i> )	<b>Nitrato</b> ( <i>mg L<sup>-1</sup></i> )	<b>Nitrogênio amoniacal</b> ( <i>mg L<sup>-1</sup></i> )
<b>Estuário do rio São Paulo</b>	0,13	0,13	0,13
<b>CONAMA 357</b>	0,07	0,40	0,40

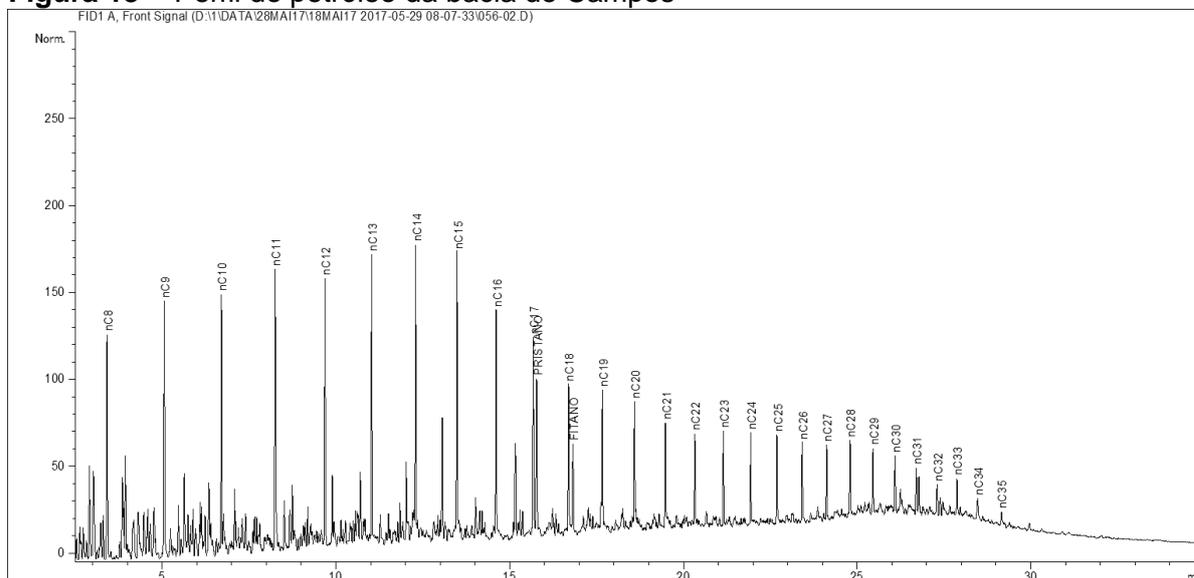
Fonte: autora (2017).

### 5.3.3 Caracterização do petróleo

Conforme foi observado no perfil, os alcanos lineares e os isoprenóides pristano e fitano estavam presentes e houve ausência da unidade complexa não resolvida (UCM) (figura 13), estes indícios são utilizados para caracterização do petróleo como não degradado. O grau API é uma escala hidrométrica empregada na classificação

de petróleos, e de acordo com este parâmetro o petróleo da bacia de campos foi considerado pesado (grau API =21,7) (REIS, 2015).

**Figura 13-** Perfil do petróleo da bacia de Campos



Fonte: autora (2017).

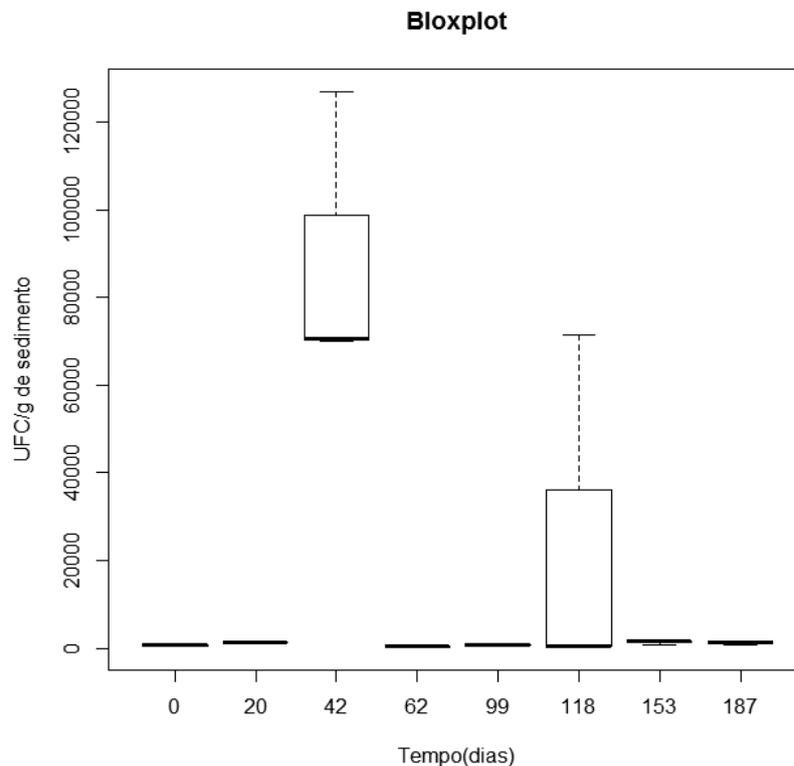
### 5. 3.4 Análise estatística e avaliação da biodegradação

O teste não paramétrico *Shapiro-wink* foi utilizado para verificar se os dados observados seguiam ou não uma distribuição normal. Uma vez verificado que os dados não seguiam uma distribuição normal, aplicou-se o teste de *Kruskal-Wallis* para avaliar se houve diferença significativa entre as unidades de simulação em relação à variação da quantidade de colônias no tempo. O mesmo procedimento foi realizado para a velocidade de consumo de HTP no tempo, pois também não apresentou distribuição normal.

Retirou-se dois dados considerados *outliers*, visando-se eliminar interferentes que levassem a interpretações equivocadas dos resultados.

As variâncias mostraram-se homogêneas, com nível de confiança de 5%. Houve diferença significativa, conforme o teste F e nível de probabilidade de 5%, em relação ao fator tempo entre as unidades 1, 2 e 3 do tratamento contaminado. Porém identificou-se similaridade em relação ao fator unidade, como pode-se observar na figura 14.

**Figura 14-** Bloxplot do número de UFC em relação ao tempo nas unidades com petróleo



Fonte: autora (2017).

Ao efetuar-se uma anova com interação entre as unidades 1, 2 e 3 em relação aos fatores tempo e unidade, identificou-se que não houve interação. Uma vez que apenas o tempo foi significativo, com nível de confiança de 5%.

A velocidade de consumo do substrato diferenciou-se significativamente entre as unidades, com nível de confiança de 5%, mas não em relação ao tempo, de modo que não houve interação da velocidade com o tempo e a unidade. Porém em determinados intervalos de tempo houve similaridade nas velocidades, conforme foi possível observar ao analisar a cinética dos biorreatores 2 e 3 do tratamento contaminado até o tempo 118. A partir do tempo 133 houve uma diferenciação na tendência da velocidade nestes sistemas. Enquanto que na unidade 2 nos tempos 118 ao 187 houve redução da velocidade, na unidade 3 a velocidade se manteve estável.

A presença ou o aumento da UCM é um indício que tem sido utilizado para explicar a biodegradação (FRYSINGER et al., 2003). Durante este processo a molécula orgânica ao ser quebrada pode se ligar a outras moléculas, gerando compostos

intermediários que não podem ser determinados no equipamento e que compreendem a UCM (FARRINGTON; QUINN, 1973).

Alguns compostos gerados durante metabolização do substrato podem inibir o crescimento de determinadas espécies de microrganismos, podendo reduzir a velocidade de consumo (OBEROI; PHILIP, 2017). Como aconteceu provavelmente com a unidade dois nos intervalos de 62 a 99 dias e de 153 a 187 dias, foi observado também aumento da UCM, ou seja, dos compostos intermediários.

Nos intervalos de 0 a 20 dias e de 99 a 118 houve redução da UCM nas três unidades, porém a velocidade foi distinta nestes intervalos. No período de 0 a 20 dias a velocidade aumentou nas três unidades, todavia ao analisar o segundo intervalo (99 a 118 dias) observou-se redução da velocidade apenas na unidade 2. Gough, Rhead e Rowland (1992) constataram que bactérias *Pseudomonas fluorescens*, as quais podem ser encontradas em sedimento de manguezal, eram capazes de degradar a UCM, haja visto que esta mistura pode ser formada também por compostos de estrutura mais simples, como hidrocarbonetos alifáticos e cíclicos.

Através do teste de Tukey verificou-se que houve uma diferença significativa do número de colônias no tempo, com nível de confiança de 5%, para os intervalos de 0-42 dias, 20-42 dias, 42-62 dias, 42-99 dias, 42-118 dias, 42-153 dias e 42-187 dias no tratamento contaminado. Nestes mesmos intervalos observou-se uma variação na concentração dos compostos nos biorreatores do tratamento contaminado. É válido ressaltar que no tempo 118 houve um aumento significativo no número de colônias, provavelmente por conta da presença da planta. Alguns estudiosos acreditam que a planta libera através da raiz compostos que favorecem a atividade metabólica de bactérias (MITTER et al., 2013).

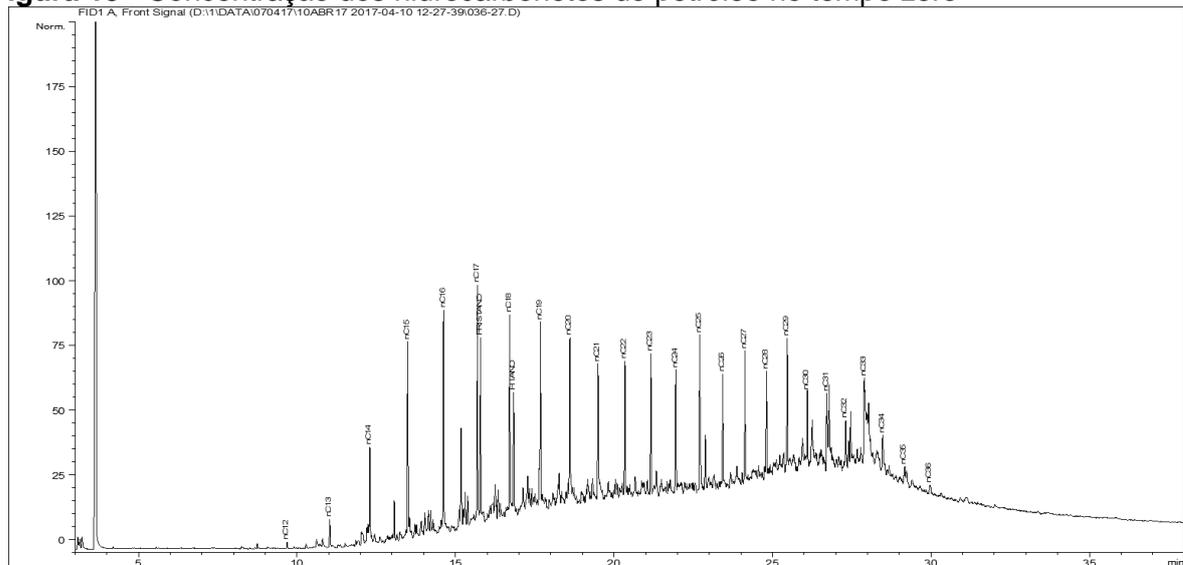
Nos sistemas sem o petróleo observou-se que o número de unidades formadoras de colônias alterou-se de forma significativa no tempo, com nível de confiança de 5% entre as unidades 1, 2 e 3 do tratamento controle. Os intervalos onde esta diferença foi significativa foram os de 0-153 dias, 62-153 dias e o de 118-153 dias.

Ao verificar se houve diferença significativa das UFCs entre as unidades 1, 2 e 3 do tratamento contaminado em relação ao volume de água no biorreator, constatou-se que não foi significativa, para o nível de confiança de 5%. De modo que a concentração de UFC não variou significativamente em relação a variação do volume de água do biorreator. Já a concentração de HTP no sedimento e na água variou de

forma significativa com a variação do volume do biorreator, para o nível de confiança de 5%.

Ao comparar o perfil do petróleo (figura 13) com a concentração dele no sedimento no tempo zero (montagem do sistema) (figura 15). Foi possível observar que os compostos mais leves foram rapidamente volatilizados.

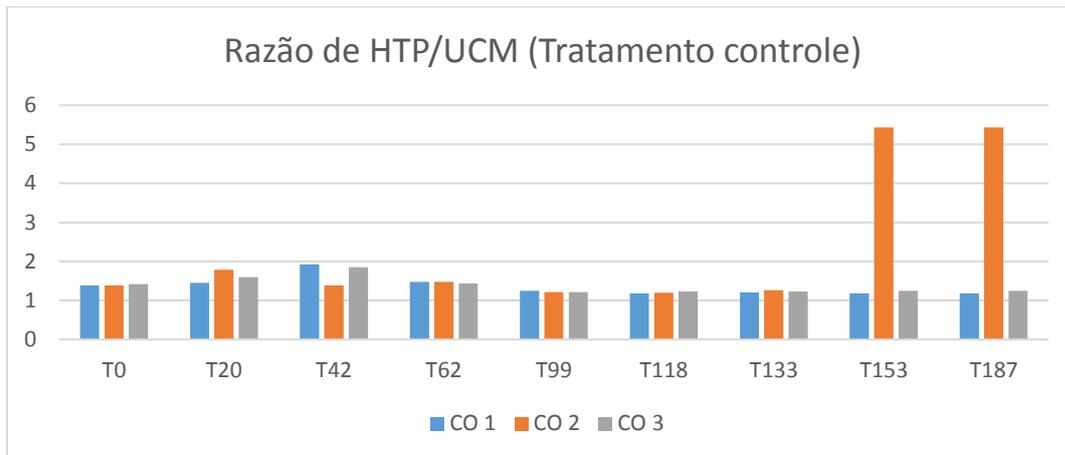
**Figura 15-** Concentração dos hidrocarbonetos do petróleo no tempo zero



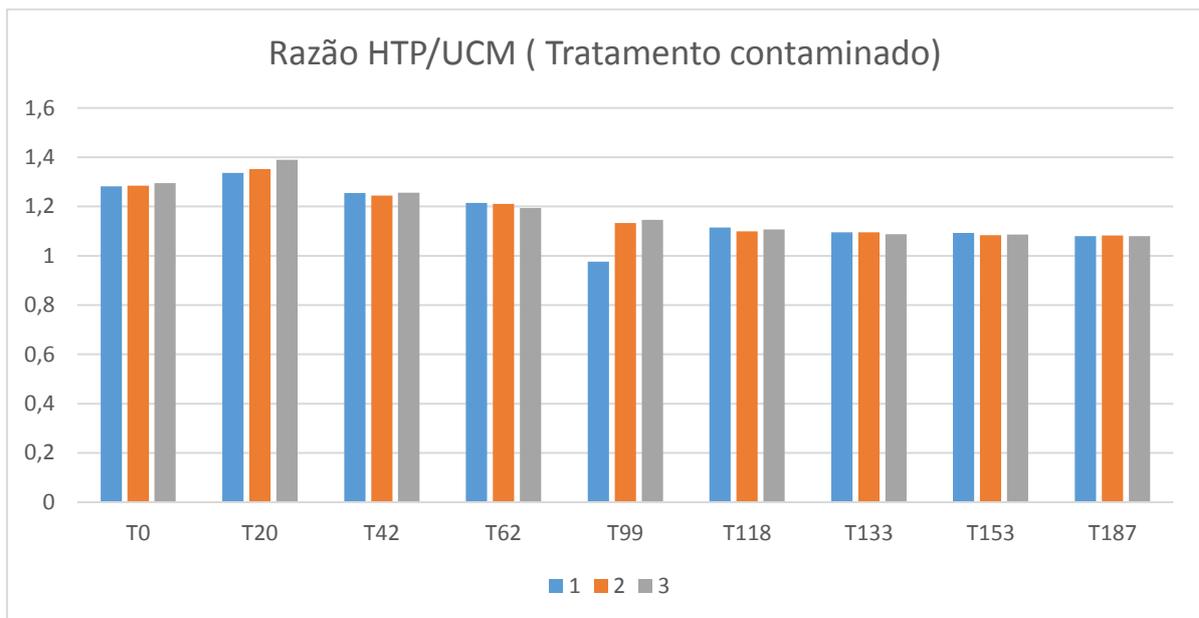
Fonte: autora (2017).

A razão HTP/UCM aumentou nos tempos 153, 187, 62 e no tempo 20 no controle 2 e apenas nos tempos 20 e 42 nos controles 1 e 3 (figura 16). Sendo que no tempo 20 do controle 2 houve redução da UCM e de HTP, porém a redução de HTP foi menor do que a UCM. Já no tempo 62 no mesmo sistema a concentração de HTP aumentou mais do que a de UCM. Nos tempos 153 e 187 houve redução de HTP e aumento da UCM. Todavia, como a concentração de HTP estava muito alta a razão HTP/UCM aumentou.

No tratamento contaminado a razão HTP/UCM aumentou nos três sistemas no tempo 20, porém a partir do tempo 42 até o tempo 99 houve redução desta razão nas três unidades (figura 17). Em contrapartida no tempo 118 houve aumento desta razão para a unidade um e redução para as unidades 2 e 3. No tempo 133 foi observada uma pequena redução na unidade 1 e uma constância desta razão para os demais sistemas com petróleo, e a partir do tempo 133 uma constância em todos os contaminados.

**Figura 16-** Razão HTP/UCM referente ao tratamento sem petróleo (controle)

Fonte: autora (2017).

**Figura 17-** Razão HTP/UCM (tratamento contaminado)

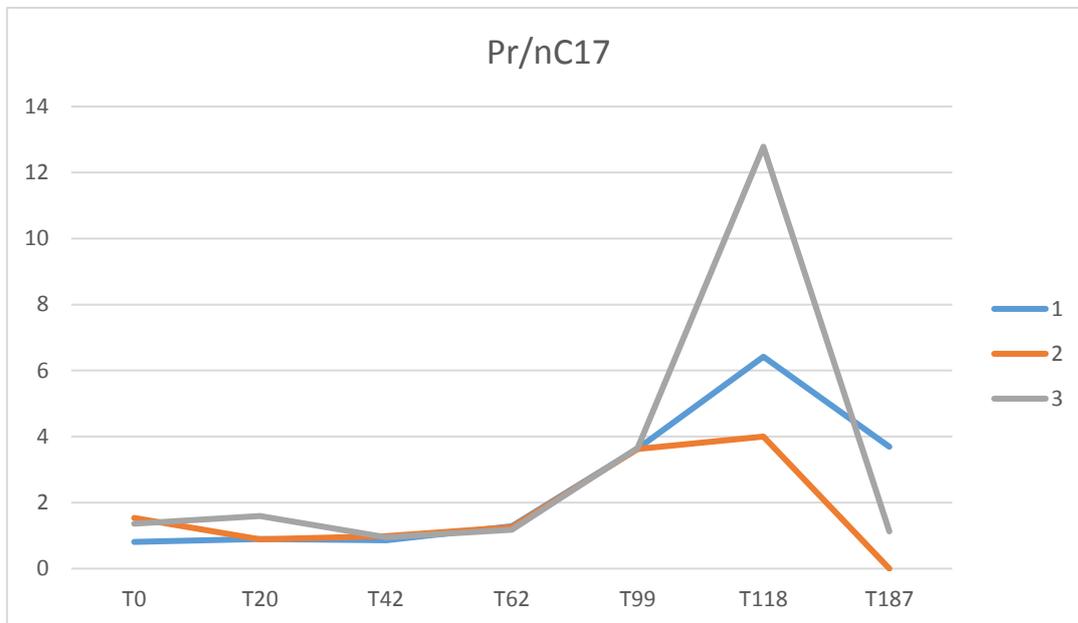
Fonte: autora (2017).

Ao comparar os perfis de HTP do sedimento contaminado por petróleo, observou-se que a UCM aumentou na unidade 1 nos intervalos de 42-62 dias, de 62-99 dias, de 133-153 dias e de 153-187 dias. Já em relação a unidade 2 o aumento ocorreu apenas nos períodos de 62 a 99 dias e de 153 a 187 dias.

Na unidade 3 foi identificado aumento de compostos intermediários nos intervalos de 20 a 42 dias e de 118 a 153 dias e aumento das unidades formadoras de colônias. Nos demais tempos houve redução da UCM nas três unidades do tratamento contaminado, porém o número de colônias aumentou nos períodos 62 a 99 dias nos três sistemas e reduziu nos tempos 42 e 62. Além disto a partir do tempo 99 as razões

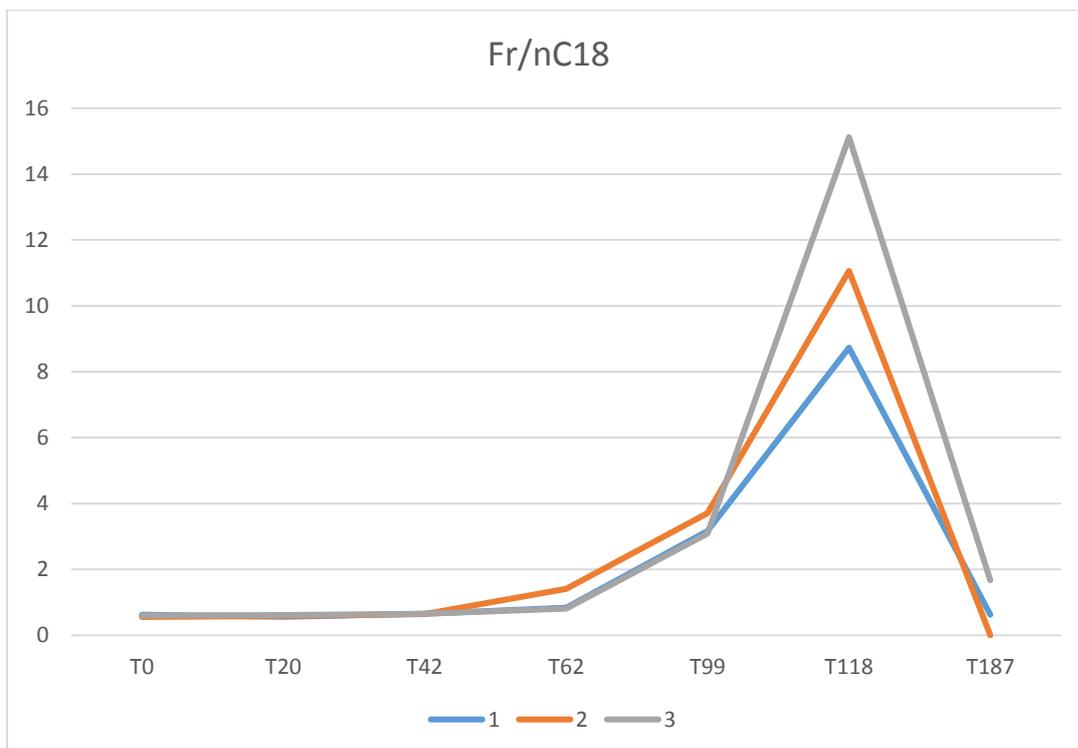
entre o Pr/nC17 e o Fr/nC18 foram maiores do que 2, o que indica que houve geração de resíduo degradado (figuras 18 e 19) (COLOMBO et al., 1989).

**Figura 18-** Razão Pr/nC17 nos tempos zero a 187 dias



Fonte: autora (2017).

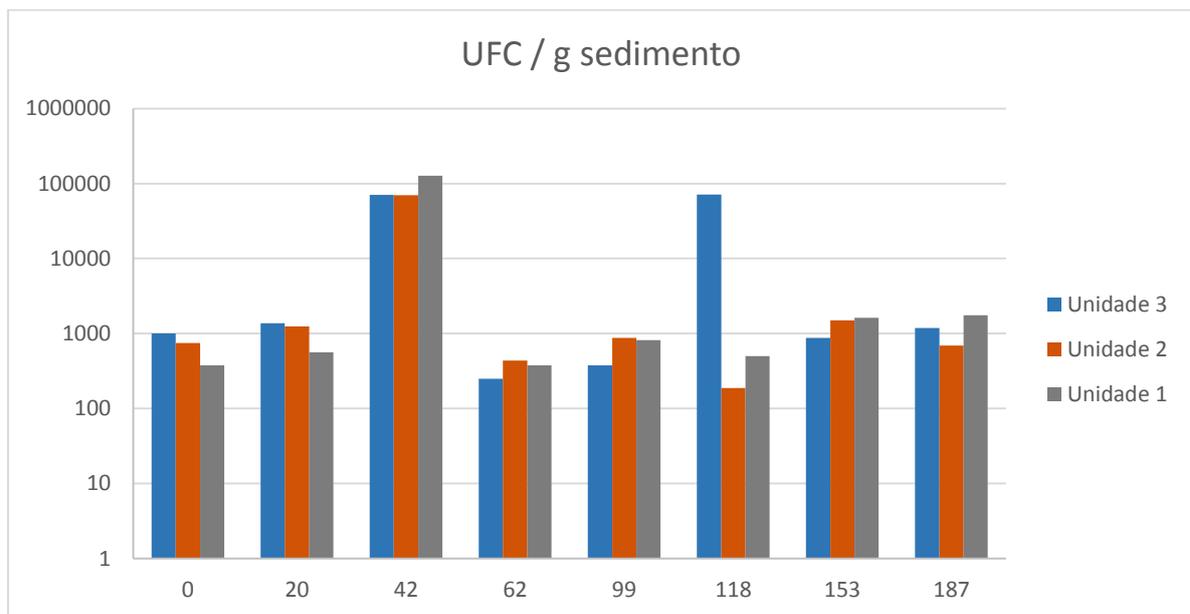
**Figura 19-** Razão Pr/nC18 nos tempos zero a 187 dias



Fonte: autora (2017)

No tempo 187 para as unidades 2 e 3 as razões entre o Pr/nC17 e o Fr/nC18 foram menores do que 2, de modo que provavelmente as bactérias podem ter consumido os intermediários sem gerar resíduo degradado. Contudo a quantidade de colônias no período de 153 a 187 dias reduziu no biorreator 2 e aumentou na unidade 3, logo é possível que alguns intermediários gerados no tempo 153 no biorreator 2 possam ter inibido o crescimento de determinadas espécies de microrganismos no tempo 187, de modo que apenas as colônias tolerantes a estes compostos possam ter atuado metabolizando estes intermediários (figura 20). Já no caso do biorreator 3 provavelmente havia maior número de colônias tolerantes aos intermediários resultantes da metabolização do petróleo, o que pode justificar o aumento do número de colônias para este sistema durante este período.

**Figura 20-** Número de unidades formadoras de colônias nos tempos zero a 187 dias (tratamento contaminado)



Fonte: autora (2017).

Nos sistemas denominados controles houve aumento no número de colônias nos intervalos de 0 a 42 dias (unidades 1 e 3), de 42 a 62 dias (unidade 2), de 62 a 99 dias (unidades 1 e 3) e de 118 a 153 dias (unidades 1, 2 e 3). Além disto houve redução das UFCs nos períodos de 0 a 20 dias (unidade 2), de 20 a 42 dias (unidades 1, 2 e 3), de 42 a 62 dias (unidades 1 e 3), de 62 a 99 dias (unidade 2), de 99 a 118 dias (unidade 1) e de 153 a 187 dias (unidades 1, 2 e 3).

Ao avaliar a concentração de HPAs no intervalo de 20 a 42 dias na unidade 1 do contaminado observou-se que houve aumento de todos os leves e alguns pesados como o benzoapireno, dibenzo (ah) antraceno, benzo (ghi) perileno, criseno, benzoantraceno e pireno. É válido ressaltar que não houve aumento de UCM e nem geração de resíduo degradado neste período, porém ocorreu aumento na quantidade de unidades formadoras de colônias e redução na concentração do benzo (b) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno e do fluoranteno.

No intervalo de 42 a 62 dias os compostos que tiveram aumento de concentração foram o naftaleno, pireno, benzo (k) fluoranteno, benzo (a) pireno, dibenzo (ah) antraceno. Em contrapartida houve redução neste período do acenaftaleno, acenaftileno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzoantraceno, criseno, benzo (b) fluoranteno, benzo (ghi) perileno. Além disto, neste período houve aumento da UCM e redução no número de colônias. No período de 62 a 99 dias houve aumento do acenaftaleno e do benzo (k) fluoranteno e os demais compostos policíclicos aromáticos tiveram redução da concentração, além do aumento no número de UFCs e da UCM. No intervalo de 99 a 118 dias houve aumento do fluoranteno e redução dos demais compostos, não houve aumento da UCM, mas o número de unidades formadoras de colônias aumentou.

O aumento da concentração dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de baixos pesos moleculares e de alguns pesados como o benzoapireno, dibenzo (ah) antraceno, benzo (ghi) perileno, criseno, benzoantraceno e pireno foi acompanhado da redução do benzo (b) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno e do fluoranteno. Como não houve geração de resíduo degradado e nem aumento da UCM, provavelmente a quebra destes três compostos resultou no aumento da concentração dos demais no tratamento 1. Já no período de 42 a 62 dias a quebra do pireno, benzoantraceno, criseno, benzo (b) fluoranteno, benzo (ghi) perileno pode ter resultado na geração de compostos intermediários e no aumento do naftaleno, benzo (k) fluoranteno, benzo (a) pireno, dibenzo (ah) antraceno.

No intervalo de 62 a 99 dias houve aumento no número de colônias e geração de resíduo degradado, possivelmente por conta da biodegradação dos HPAs de baixos pesos moleculares e da maioria dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de altos pesos moleculares. Exceto o acenaftaleno e o benzo (k) fluoranteno que aumentaram neste período na unidade 1. Existem bactérias em sedimentos de manguezal que

possuem a capacidade de utilizar o fenantreno como fonte inicial para a degradação do pireno e do fluoranteno, como por exemplo as *Shinigomonas sp.* (ZHONG et al., 2010). Além destas bactérias podem ser encontradas outros grupos de microrganismos capazes de degradar hidrocarbonetos, como as *Pseudomonas*, *Marinobacter*, *Alcanivorax*, *Microbulbifer*, dentre outros (BRITO et al., 2006).

Durante o processo de biodegradação é possível ocorrer a geração de metabólitos que podem se ligar aos compostos policíclicos presentes no sedimento e gerar outros compostos, os quais poderão ou não sofrer metabolização novamente (LUAN et al., 2006). Alguns fatores como a toxicidade e a estabilidade química dos intermediários influenciam na capacidade de degradação de bactérias e conseqüentemente no cometabolismo (JAQUES et al., 2008). Logo o aumento do acenaftaleno e do benzo (k) fluoranteno pode ter sido em função do cometabolismo dos demais compostos.

Nos intervalos de T0-T20 e T42-T62 o aumento dos HPAs de baixos pesos moleculares e de alguns compostos pesados foi observado em pelo menos um dos intervalos e pode ser justificado pela degradação dos demais compostos policíclicos aromáticos por ação microbiana na unidade 2. No período de 99 a 118 dias houve redução dos demais compostos e aumento do criseno e o benzo (b) fluoranteno. É importante ressaltar que a planta foi adicionada as unidades de simulação no tempo 99. Logo este aumento durante o intervalo de 99 a 118 dias pode ter sido oriundo dos exsudatos liberados pela planta ou em função da degradação dos demais compostos. Alguns estudos têm mostrado que uma das fontes naturais de liberação de HPAs são os exsudatos que as plantas excretam através da rizosfera (KAUSHIK; HARITASH, 2006). Daane et al. (2002) perceberam que as bactérias associadas a rizosfera de sedimentos salinos, como as *Pseudomonas* (gram-negativas e gram-positivas) e as *Paenibacillus* (gram-positivas) utilizavam o fenantreno e o naftaleno para a degradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

Em relação a unidade 3 a degradação do benzo (k) fluoranteno e do acenaftaleno pode ter resultado no aumento de quase todos os policíclicos leves e pesados no período de 0 a 20 dias. Já no intervalo de 20 a 42 dias a biodegradação do benzo (a) pireno pode ter resultado no aumento dos demais compostos policíclicos aromáticos. E no período de 99 a 118 dias o aumento de todos os leves, provavelmente ocorreu por conta da quebra das moléculas mais pesadas. Uma das possíveis possibilidades relatadas por pesquisadores para a degradação dos hidrocarbonetos de altos pesos

moleculares é o cometabolismo. Por meio deste processo os HPAs de baixos pesos moleculares são a priori metabolizados e utilizados no processo de degradação dos HPAs de altos pesos moleculares (BOUCHEZ; BLANCHET; VANDECASTEELE, 1995; JUHASZ; NAIDU, 2000).

#### 5.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O biorreator utilizado para avaliação da velocidade de consumo dos hidrocarbonetos totais do petróleo foi eficiente na biodegradação. O procedimento experimental contribuiu para a eficiência dos biotratamentos. A velocidade de consumo foi significativamente distinta nas unidades de simulação do tratamento contaminado, comprovando que apesar de terem sido realizados os mesmos procedimentos experimentais, cada unidade de simulação se comportou como um sistema à parte em relação a cinética.

O número de unidades formadoras de colônias não foi significativamente distinto entre os três sistemas que compuseram o tratamento contaminado, porém variou de forma significativa no tempo.

#### 5.5 AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi desenvolvido com o apoio técnico-científico do Programa de Pós-graduação em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente e infraestrutura do Laboratório de Estudos do Petróleo. O projeto de pesquisa foi realizado graças ao fomento do CNPq.

## 6 MODELAGEM CINÉTICA APLICADA PARA BIODEGRADAÇÃO DE SEDIMENTO DE MANGUEZAL CONTAMINADO POR PETRÓLEO DA BACIA DE CAMPOS

### RESUMO

A modelagem cinética é uma ferramenta promissora utilizada na avaliação da cinética de biodegradação de compostos orgânicos. Por meio dos modelos cinéticos é possível avaliar a velocidade na qual ocorre a metabolização de compostos, o crescimento de células microbianas e a geração de produtos. Neste artigo, verificou-se a aplicabilidade do modelo de Simkins e Alexander (1984) para avaliação da biodegradação do petróleo da bacia de Campos presente no sedimento de manguezal da Baía de Todos os Santos- BTS. Para realização desta pesquisa aplicou-se as funções Exp dec 1 e Exp dec 2 para verificar se os dados observados no experimento se ajustavam ao modelo desenvolvido por Simkins e Alexander (1984). Ao aplicar o ajuste com as funções Exp dec 1 e Exp dec 2, gerou-se dois modelos, um para cada função e, posteriormente, foi utilizado o método de regressão linear simples para validação dos modelos do ajuste. O modelo de Simkins e Alexander (1984) mostrou-se válido para a biodegradação do sedimento de manguezal contaminado por petróleo da bacia de Campos e a função Exp dec 1 apresentou melhor ajuste dos dados experimentais ao modelo, com o  $R^2$  de 0,98.

**Palavras-chave:** Validação. Modelo cinético. Biodegradação. Petróleo. Manguezal. Sedimento.

### ABSTRACT

Kinetic modeling is a promising tool used to evaluate the biodegradation kinetics of organic compounds. By means of kinetic models it is possible to evaluate the speed at which compound metabolism occurs, the growth of microbial cells and the generation of products. In this article, we verified the applicability of the Simkins and Alexander (1984) model for the evaluation of the biodegradation of the Campos basin oil present in the Bay of All Saints-BTS mangrove sediment. To perform this research, the functions Exp dec 1 and Exp dec 2 were applied to verify if the data observed in the experiment fit the model developed by Simkins and Alexander (1984). When applying the adjustment with the functions Exp dec 1 and Exp dec 2, two models were generated, one for each function and later, the simple linear regression method was used to validate the adjustment models. The model of Simkins and Alexander (1984) was valid for the biodegradation of the oil-contaminated mangrove sediment of the Campos basin and the Exp dec 1 function presented better adjustment of the experimental data to the model, with  $R^2$  of 0.98.

**Keywords:** Validation. Kinetic model. Biodegradation. Petroleum. Mangrove. Sediment.

## 6.1 INTRODUÇÃO

O sedimento a depender da composição e estrutura dos argilominerais, do conteúdo de matéria orgânica e das condições físico-químicas do ecossistema pode apresentar uma distribuição distinta de contaminantes (BURTON, 2002; GESAMP, 1990; ZHAO et al., 2010). No caso do sedimento de manguezal, por exemplo, a baixa hidrodinâmica, a influência da variação das marés e as condições de transporte de nutrientes podem contribuir para a adsorção de compostos orgânicos, como os hidrocarbonetos do petróleo (BENARD; PASCALINE; JEREMIE, 1996).

Os hidrocarbonetos podem ser disseminados nos ecossistemas pela atividade petrolífera, oriundos da queima incompleta da matéria orgânica, advir do lançamento na atmosfera pela atividade industrial ou pela atividade vulcânica (TISSOT; WELTE, 1984; THOMAS, 2004). Quando presentes no ambiente estes compostos podem interagir com o ciclo das rochas, o ciclo hidrológico e demais processos biogeoquímicos, sendo disponibilizados para a micro e macro biota (BAYEN, 2012; BULMER et al., 2017).

Os métodos biológicos como a fitorremediação e a biorremediação são utilizados no tratamento de matrizes contaminadas por hidrocarbonetos do petróleo e possuem como vantagens o baixo custo de aplicação e menor impacto nocivo ao meio ambiente (LIN; LAU; POH, 2016). A fitorremediação consiste no uso de plantas e microrganismos em simbiose que apresentam a capacidade de metabolizar determinados compostos orgânicos, como por exemplo, o petróleo (ALI; KHAN; SAJAD, 2013). E a biorremediação é a tecnologia na qual os microrganismos através da atividade enzimática quebram as moléculas orgânicas dos contaminantes até que a área afetada possa ser reabilitada (SHARMA; DANGI; SHUKLA, 2017). Tanto a fitorremediação como a biorremediação podem ser aplicadas fora do local contaminado (ex situ) (PITTARELLO et al., 2017)

A dificuldade de acesso ao ecossistema de manguezal, assim como a legislação brasileira limitam a adoção de tecnologias de remediação in situ neste tipo de ecossistema (DUKE, 2016). Sendo geralmente adotados métodos ex situ de tratamentos, como por exemplo o uso de biorreatores para simulação da biorremediação e fitorremediação de contaminantes (AMIN et al., 2017; EMBRAPA, 2014; NASCIMENTO, 2015). Os biorreatores são definidos como sistemas nos quais

a microbiota ou a atividade enzimática oriunda desta microbiota efetua a biodegradação de moléculas orgânicas até que o ambiente possa ser reabilitado (JUNIOR; CRUZ, 2016). A depender do objetivo que se busca com a aplicação destes sistemas é possível avaliar a velocidade na qual ocorre a metabolização do contaminante, o crescimento das células do microrganismo e a geração de produtos através da modelagem cinética (HERRERA et al., 2017).

Avaliar a cinética de degradação microbiana é importante para controlar e prever os compostos intermediários que podem ser gerados durante a aplicação de biotecnologias (TRIGUEIROS, 2008; FIRMO, 2013). Assim como estimar o tempo necessário para a reabilitação de uma área, sendo também relevante na redução de custos com a aplicação de técnicas prolongadas de degradação (TRIGUEIROS, 2008).

Um dos pesquisadores precursores que buscou compreender a cinética de biodegradação de contaminantes foi Monod (1942). Conforme postulado por Monod é possível entender a cinética de mineralização de substrato utilizando como variáveis apenas a concentração do substrato e a densidade de microrganismos. Posteriormente, Simkins e Alexander (1984) propuseram um estudo onde buscou-se determinar se as distintas curvas de consumo do substrato poderiam ser modeladas utilizando como variáveis apenas a concentração do substrato, a densidade populacional e os parâmetros da cinética clássica de Monod. Simkins e Alexander (1984) concluíram que a maior parcela da densidade nas formas das curvas de consumo é o resultado das relações entre a concentração do substrato (composto, substância ou mistura avaliada) e a densidade populacional e que a análise de regressão linear com modelos que abrangem estas variáveis é um método satisfatório para a análise da cinética de mineralização microbiana.

De 1984 até 2018 outros modelos foram adaptados para explicar diferentes processos metabólicos. Os modelos de Deary et al. (2016), Srinivasan et al. (2014) e Fernández et al. (2016) foram aplicados para explicar a biodegradação de compostos orgânicos em solos e os modelos de Geng et al. (2016) e Beolchini et al. (2010) aplicados para explicar a biodegradação em sedimentos, todos estes modelos foram versões modificadas do modelo clássico de Monod (1942). Os modelos de Geng et al. (2016) e Beolchini et al. (2010) tiveram os parâmetros cinéticos estimados ajustados de forma distinta. O modelo adaptado por Beolchini et al. (2010) foi ajustado por meio

da análise de regressão não linear e o modelo de Geng et al. (2016) pela análise de sensibilidade. O ajuste do modelo é importante para posterior validação, um modelo é considerado válido quando os dados observados são similares aos dados estimados e uma das formas de avaliar a qualidade do ajuste é através do valor do  $R^2$ .

O modelo de Beolchini et al. (2010) foi uma versão modificada do modelo de Simkins e Alexander (1984). A modificação foi realizada com o intuito de determinar a influência do input de nutrientes na cinética de crescimento microbiano e na mineralização do substrato.

O objetivo deste artigo foi de verificar a aplicabilidade do modelo de Simkins e Alexander (1984) para explicar a biodegradação do sedimento de manguezal contaminado por petróleo da bacia de Campos.

## 6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais e métodos que compuseram esta seção da dissertação foram subdivididos em procedimentos de amostragem e análises químicas necessárias para obtenção das variáveis do modelo e modelagem cinética.

### 6.2.1 Procedimentos de amostragem e análises químicas necessárias para obtenção das variáveis do modelo

As amostras de sedimento de manguezal utilizadas para composição do biorreator foram coletadas na estação Pedra Branca e as amostras de água no Píer, cuja localização situou-se nas imediações de Cadeias e São Francisco do Conde.

O sedimento de manguezal foi coletado no sistema nos tempos 0, 20, 42, 62, 99, 118, 153 e 187 dias de experimento para análises químicas. Estas amostras foram homogeneizadas e liofilizadas antes do procedimento analítico. O método utilizado para a extração dos hidrocarbonetos totais do petróleo foi o 3051 A (extração microndas). Os analitos extraídos foram detectados no cromatógrafo movido a gás (marca VARIAN, modelo CP3800), com coluna DB5 e detector de ionização de chama (CG/FID).

A técnica de micro gotas de Romeiro (2001) foi aplicada para a contagem de unidades formadoras de colônias.

O experimento utilizado para simulação do ecossistema de manguezal e obtenção dos parâmetros do modelo cinético foi composto de dois tratamentos, denominados referência (sem contaminação por petróleo) e contaminado por petróleo.

O controle de qualidade do experimento foi observado por meio do percentual de recuperação dos analitos nas amostras, obtido através da adição do padrão surrogate (Terfenil D4). A recuperação das amostras ficou numa faixa considerada aceitável (60% a 120%) (RIBANI et al., 2004). Realizou-se 1 branco para cada lote de 10 amostras e réplicas de bancada. Os reagentes n-hexano (96% de pureza), acetona (99,8% pureza) e o diclorometano (99,8% de pureza) foram da marca MERCK e o Tween 80 da marca USP SYNTH.

### **6.2.2 Modelagem cinética**

O modelo de Monod foi desenvolvido em 1942 com o objetivo de estudar processos de biodegradação em sistemas fechados e que operavam a pressão ou volume constantes. Com o passar dos anos o modelo de Monod passou por adaptações visando-se avaliar também a velocidade de consumo do substrato e de crescimento celular (BEOLCHINI et al., 2010; NASSERI et al., 2010). Assim como os modelos foram modificados, os sistemas também sofreram alterações nas formas de operação e geometria, com intuito de compreender outros processos metabólicos. Beolchini et al. (2010), por exemplo, adaptou o modelo de Simkins e Alexander (1984), com o objetivo de avaliar a influência do input nutricional na cinética de crescimento celular. O biorreator utilizado por Beolchini et al. (2010) operou de forma contínua, ou seja, houve adição de reagente (nutrientes) e retirada de produtos durante a operação do biorreator. Entretanto, o biorreator utilizado por Simkins e Alexander (1984), operou sem adição de reagentes, com remoção de produto só no final da reação e em condição de volume constante, caracterizando uma operação em batelada.

As variáveis destes modelos poderiam ser obtidas em sistemas abertos e que operavam de forma distinta ao modelo precursor, como por exemplo o modelo de Beolchini et al. (2010). Este modelo foi uma adaptação ao modelo de Simkins e Alexander (1984), o qual por sua vez foi desenvolvido a partir do modelo de Monod (1942).

A equação 32 corresponde ao modelo de Monod, na qual o símbolo  $\mu$  representou a taxa de crescimento específico de microrganismos, o S foi a concentração do substrato (contaminante de interesse), o  $\mu_x$  foi considerada a taxa de máxima de crescimento microbiano. O  $\mu$  foi calculado através da equação 2, na qual o D representou a quantidade de colônias no tempo T e D0 o número de colônias no tempo inicial (SAKTHIPRIVA; DOBLE; SANGWAI, 2017). O Ks foi a concentração de meia saturação, este parâmetro foi obtido quando a taxa de crescimento específico foi metade da taxa máxima conforme Koch (1982).

$$\mu = (\mu_x \cdot S) / (K_s + S) \quad (32)$$

$$\mu = (\ln D - \ln D_0) / (T - T_0) \quad (33)$$

O modelo de Monod foi utilizado para obtenção da constante de meia saturação e o modelo Simkins e Alexander (1984) para obtenção da velocidade de consumo dos hidrocarbonetos totais do petróleo. Conforme a equação 34, a taxa máxima correspondeu a máxima taxa de crescimento microbiano e foi obtida através da curva de crescimento de microrganismos (BEOLCHINI et al., 2010). O S correspondeu a concentração no tempo t, o S0 foi a concentração no tempo zero, o X0 foi o produto do inverso do rendimento (q) e a densidade de unidades formadoras de colônias no tempo zero (B0).

$$\text{Velocidade de consumo do substrato} = \mu_{\text{máx.}} \cdot S (S_0 - X_0 - S) / (K_s + S) \quad (34)$$

O ajuste do modelo de Simkins e Alexander (1984) foi realizado através das funções exponenciais expdec 1 e expdec 2 no programa OriginPro 8, onde selecionou-se a função que obteve maior valor de R<sup>2</sup>. Este ajuste foi proposto anteriormente por Napoleão et al. (2013) para o modelo de Zhang e Chuang (1999).

Através das funções Exp dec 1 e Exp dec 2 foram gerados dois modelos. As equações 35 e 36 representam respectivamente os modelos das funções Exp dec 1 e Exp dec 2.

$$y = y_0 + A_1 \cdot e^{-\frac{x}{t_1}} \quad (35)$$

$$y = y_0 + A_1 \cdot e^{-\frac{x}{t_1}} + A_2 \cdot e^{-\frac{x}{t_2}} \quad (36)$$

A validação do modelo ocorreu através do método de regressão linear simples, no qual realizou-se o cruzamento gráfico entre o valor da velocidade estimada pelo

valor da velocidade observada no experimento, este procedimento foi efetuado no programa Excel versão 2010. Foi considerado válido o modelo que apresentou valor de  $R^2$  mais próximo a 1.

### 6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

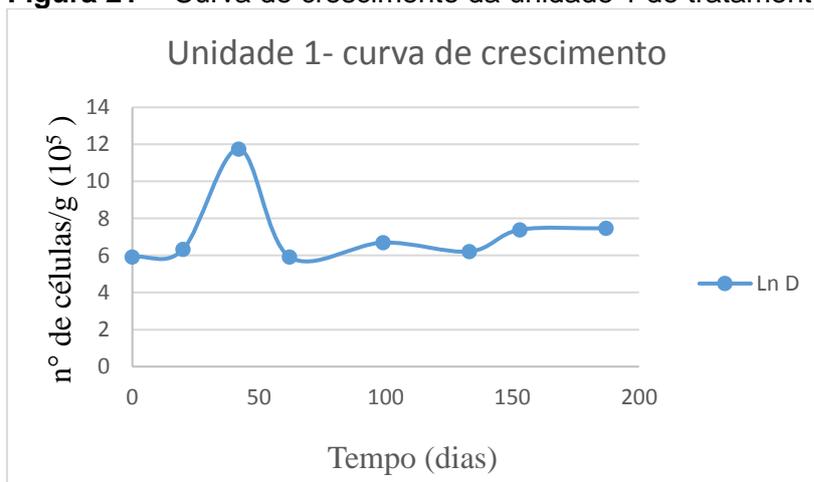
As taxas máxima e específica de crescimento de microrganismos foram similares nas unidades de simulação no tratamento contaminado, porém as velocidades obtidas foram distintas entre as unidades. No tratamento contaminado o valor da taxa máxima nas unidades de simulação variou de  $0,10 \text{ dia}^{-1}$  a  $0,14 \text{ dia}^{-1}$  e a temperatura esteve na faixa de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  a  $30^\circ\text{C}$ , um intervalo adequado para biodegradação de hidrocarbonetos do petróleo (TATE, 1995).

Um dos fatores que podem indicar a degradação de hidrocarbonetos do petróleo é o aumento do número de células de microrganismos. Sakthipriya, Doble, e Sangwai (2017) identificaram uma elevação no número de células da bactéria *Bacillus subtilis*, degradadora de hidrocarbonetos do petróleo, no experimento de biorremediação e observaram aumento da taxa de degradação. Analisando a curva de crescimento da unidade 1 foi possível observar que os microrganismos atingiram a fase estacionária na etapa final do experimento, a partir dos 153 dias de experimento (figura 21). Entretanto, observou-se variações de fases de morte e posterior crescimento nos intervalos de 42 a 62 dias (fase de morte), 62 a 99 dias (fase exponencial), 99 ao 118 (fase de morte) e 118 ao 153 (fase exponencial). Esta variação de fases de crescimento dos microrganismos no biorreator ocorreu provavelmente por conta dos intermediários gerados durante o processo de biodegradação. Foram observados aumento e diminuição de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nestes intervalos, bem como elevação e diminuição da mistura complexa não-resolvida (UCM) e aumento da razão Pr/nC17 e o Fr/nC18. Um dos indícios de degradação de hidrocarbonetos do petróleo consiste na elevação em relação a base do cromatograma, definida como UCM (QUINTÃO, 2015). Porém alguns microrganismos são capazes também de degradar a UCM, como observado por Nievas et al. (2008). Nela estão contidos compostos que não podem ser detectados pelo equipamento e que são gerados pela quebra e recombinação de

moléculas de determinados compostos (QUINTÃO, 2015). É importante ressaltar que a partir do tempo 118 foi adicionada a planta ao sistema, de modo que a planta pode ter estimulado o crescimento de microrganismos, através da liberação de compostos pela rizosfera (MITTER et al., 2013).

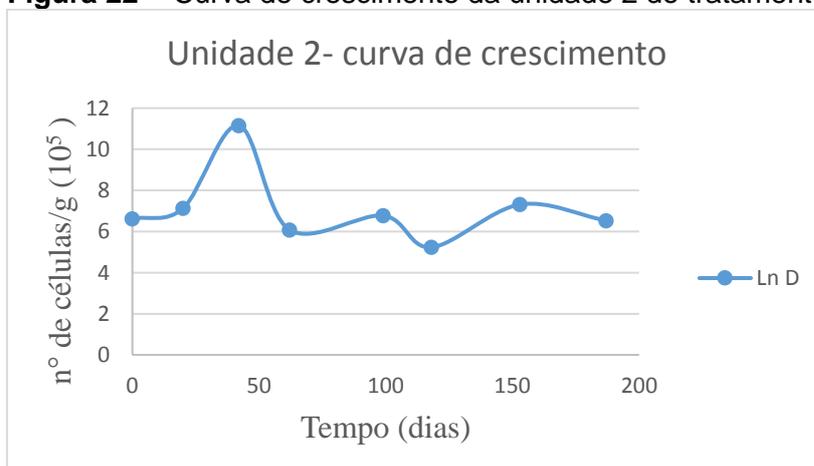
Conforme a figura 2 não foi observada fase estacionária de crescimento dos microrganismos em relação a unidade 2. Porém assim como na unidade 1 houve variação de fase de morte a exponencial nos intervalos de 42 a 62 dias (fase de morte), 62 a 99 dias (exponencial), 99 a 118 dias (morte), 118 a 153 dias (exponencial) e 153 a 187 dias (morte). O mesmo foi observado para a unidade 3, a qual também não apresentou fase estacionária, todavia houve variação de fase de morte a exponencial nos intervalos de 42 a 99 dias (morte), 99 a 118 dias (exponencial), 118 a 153 (morte) e 153 a 187 (exponencial) (figura 22).

**Figura 21** - Curva de crescimento da unidade 1 do tratamento contaminado

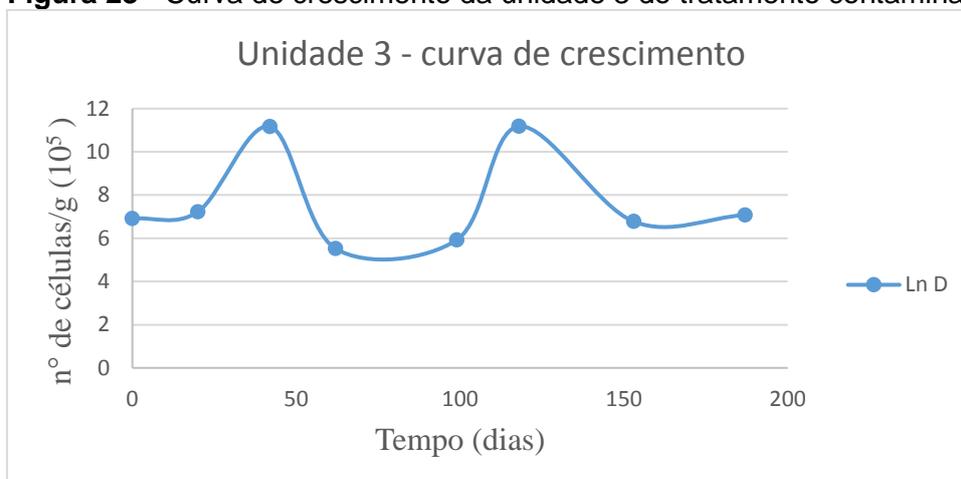


Fonte: autora (2018).

**Figura 22** - Curva de crescimento da unidade 2 do tratamento contaminado



Fonte: autora (2018).

**Figura 23** - Curva de crescimento da unidade 3 do tratamento contaminado

Fonte: autora (2018).

Conforme as tabelas 6,7 e 8 os modelos referentes as unidades um, dois e três apresentaram taxa de crescimento similares, porém a concentração final de microrganismos e de hidrocarbonetos totais do petróleo, o rendimento, a constante de semisaturação e o  $X_0$  foram maiores para as unidades 1 e 3. Em contrapartida a porcentagem de remoção foi maior para a unidade 2, a qual também apresentou degradação de UCM.

**Tabela 6** - Parâmetros referentes ao modelo

Unidades do tratamento contaminado	$\mu$ máx. (dia <sup>-1</sup> )	S (ppb)	S0 (ppb)	S0-S (ppb)	B	% remoção (HTP)
1	0,14	2470947,53	5064613,12	2593666	1750	50
2	0,11	1599447,8	9237017,45	7637570	687,5	82,68
3	0,1	2705434,9	6373550,02	3668115	1187,5	57,55

Fonte: autora (2018).

**Tabela 7** - Parâmetros utilizados no modelo

Unidades do tratamento contaminado	B0	q (ppb)	X0 (ppb)
1	375	1886,302245	707363,3419
2	750	-122201,1144	-91650835,8
3	1000	19563,28064	19563280,64

Fonte: autora (2018).

**Tabela 8** - Parâmetros estimados no modelo

Unidades do tratamento contaminado	$\mu$ (dia <sup>-1</sup> )	Ks (ppb)
1	0,07	2470947,533
2	0,055	1599447,8
3	0,05	2705434,9

Fonte: autora (2018).

Analisando os parâmetros do modelo de Simkins e Alexander (1984) e os gerados pelas funções Exp dec 1 e Exp Dec2 foi comprovado que a unidade 1 apresentou melhor ajuste em relação às unidades de simulação 2 e 3, apesar da condição experimental ter sido a mesma (tabelas 10 e 11). O valor do R<sup>2</sup> foi maior para a função Exp dec 1, a qual foi definida como mais adequada para o ajuste do modelo. Isso foi comprovado também ao comparar as velocidades estimadas pelas duas funções com as velocidades experimentais, as quais apresentaram valores mais próximos as velocidades estimadas pela função Exp dec 1.

**Tabela 9** - Velocidade estimada e experimental da unidade 1 do tratamento contaminado

Velocidade (T)	Velocidade experimental (ppb.dia <sup>-1</sup> )	Velocidade estimada (Usando a função Exp Dec 1) ( ppb.dia <sup>-1</sup> )	Velocidade estimada (Usando a função Exp Dec 2) ( ppb.dia <sup>-1</sup> )
Y (T=0)	0	0	0
Y (T=20)	106381,1958	89950,451	450070,36
Y (T=42)	147829,4347	145815,93	666909,26
Y (T=62)	164377,0023	176964,35	864035,52
Y (T=99)	202180,3996	207368,12	1228719,1
Y (T=118)	208199,918	215343,37	1415989,1
Y (T=153)	233046,4602	223350,53	1760960
Y (T=187)	231072,025	226840	2096074,7

Fonte: autora (2018).

**Tabela 10** - Parâmetros referentes ao ajuste do modelo da unidade 1 do tratamento contaminado para função Exp dec 1

R <sup>2</sup> (FUNÇÃO EXP DEC 1)	PARÂMETROS	VALORES	ERRO
<b>0,9843</b>	A1	-222294,1643	12651,7154
	Y0	229747,8159	8890,558
	t1	43,12133	6,35645

Fonte: autora (2018).

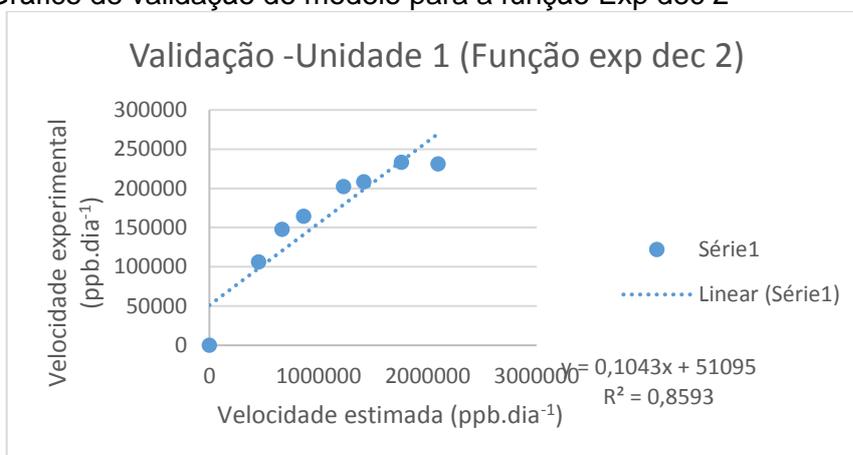
**Tabela 11-** Parâmetros referentes ao ajuste do modelo da unidade 1 do tratamento contaminado para função Exp dec 2

R <sup>2</sup> (FUNÇÃO EXP DEC 2)	PARÂMETROS	VALORES	PARÂMETROS	VALORES
0,8593	A1	-70653,7	A2	-182298
	Y0	252944,1	Y0	252944,1
	t1	7,16837	t2	80,00829

Fonte: autora (2018).

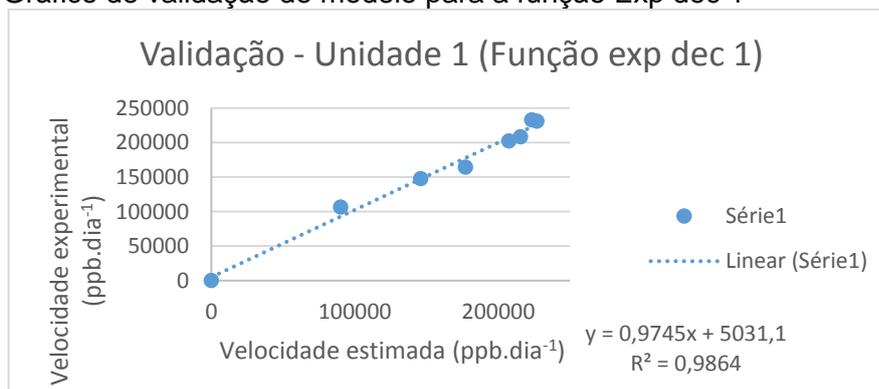
O modelo Simkins e Alexander (1984) foi considerado válido para avaliar a biodegradação do sedimento de manguezal contaminado com petróleo da bacia de Campos, uma vez que os valores das velocidades observadas e estimadas foram similares. Como também pelo fato do valor R<sup>2</sup> ter sido próximo a 1, comprovando assim que os dados observados se ajustaram ao modelo, conforme foi possível observar nas figuras 24 e 25. A regressão linear simples foi utilizada anteriormente para validação de modelos cinéticos por outros pesquisadores, como Detmann et al. (2005), Jerônimo e Kitzinger (2010) e Souza (2015).

**Figura 24 -** Gráfico de validação do modelo para a função Exp dec 2



Fonte: autora (2018).

**Figura 25 -** Gráfico de validação do modelo para a função Exp dec 1



Fonte: autora (2018).

#### 6.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O modelo de Simkins e Alexander (1984) foi considerado válido para explicação da biodegradação do sedimento de manguezal contaminado por petróleo da bacia de Campos e a função Exp Dec 1 foi a mais adequada para o ajuste deste modelo.

#### 6.5 AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado graças ao fomento do CNPq e ao apoio do Laboratório de estudos do Petróleo- LEPETRO e a equipe técnico-científica do programa de pós-graduação em geoquímica: petróleo e meio ambiente – POSPETRO.

## 7 CONCLUSÃO

Nesta pesquisa comprovou-se a importância da modelagem cinética no entendimento de bioprocessos aplicados a solos e sedimentos. Porém, também foi identificado poucos trabalhos de modelagem cinética microbiana aplicados para solos e sedimentos. Mais de 90% destas pesquisas foram desenvolvidas em sistemas que operaram em batelada, provavelmente para garantir um melhor controle dos intermediários gerados.

O biorreator utilizado para avaliação da velocidade de consumo dos hidrocarbonetos totais do petróleo foi eficiente na biodegradação, removendo até 57,5% da concentração de HTPs para a unidade 3, 50% da concentração de HTPs para a unidade 1 e 82,68% da concentração de HTPs para a unidade 2 do tratamento contaminado. O procedimento experimental contribuiu para a eficiência dos biotratamentos. A velocidade de consumo foi significativamente distinta nas unidades de simulação do tratamento contaminado, comprovando que apesar de terem sido realizados os mesmos procedimentos experimentais, cada unidade de simulação se comportou como um sistema à parte em relação a cinética.

O número de unidades formadoras de colônias não foi significativamente distinto entre os três sistemas que compuseram o tratamento contaminado, porém variou de forma significativa no tempo. Além disto, por meio desta pesquisa comprovou-se a aplicabilidade do modelo de Simkins e Alexander (1984) para explicação da biodegradação do sedimento de manguezal contaminado por petróleo da bacia de Campos.

O ajuste exponencial foi fundamental para comprovar que os dados observados no experimento se ajustaram ao modelo de Simkins e Alexander (1984), o qual foi válido estatisticamente para obtenção da velocidade de consumo dos hidrocarbonetos totais do petróleo. A função Exp Dec 1 foi a mais adequada para o ajuste deste modelo.

## REFERÊNCIAS

- ABOUL-KASSSIM, T.A.T; SIMONEIT, B. R. T. Lipid geochemistry of surficial sediments from the coastal environmental of Egypt. Aliphatic hydrocarbons – Characterization and sources. **Marine Chemistry**, v. 54, p. 135-158, 1996.
- ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, A. M. Phytoremediation of heavy metals – Concepts and applications. **Chemosphere**, v. 91, p. 869-881, 2013.
- AMIN, M. M.; BINA, B.; EBRAHIM, K.; YAVARI, Z.; MOHAMMADI, F. Biodegradation of natural and synthetic estrogens in moving bed bioreactor. **Chemical Engineering**, v.26, p. 396-399, 2017.
- ANDRADE, J. A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I.C.S.F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Elétrica Química**, v.35, n.3, p17-43, 2010.
- ASIF, M. B.; NGUYEN, L. N.; HAI, F. I.; PRINCE, W. E.; NGHIEM, L. D. Integration of an enzymatic bioreactor with membrane distillation for enhanced biodegradation of trace organic Contaminants. **International Biodeterioration e Biodegradation**, v.124, p.73-81, 2017.
- BADINO JUNIOR, A.C.; CRUS, A. J. G. **Reatores químicos e bioquímicos**. 1 ed. São Carlos, Universidade Federal de São Carlos. 2016, 193p.
- BAYEN, S. Occurrence, bioavailability and toxic effects of trace metal and organic contaminants in mangrove ecosystems: A review. **Environmental International**, v. 48, p.84-101, 2012.
- BARBEAU, C.; DESCHÊNES, L.; KARAMANEV, D.; COMEAU, Y.; SAMSON, R. Bioremediation of pentachlorophenol-n contaminated soil by bioaugmentation using activated soil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.48, p.745-752. 1997.
- BEOLCHINI, F.; ROCCHETTI, L.; REGOLI, F.; DELL' ANNA, A. Bioremediation of marine sediments contaminated by hydrocarbons: Experimental analysis and Kinetic modeling. **Journal of Hazardous Materials**, v.182, p.403-407. 2010.
- BERNARD, H.; PASCALINE, J.; JEREMIE, J.J. Distribution and origin of hydrocarbons in sediments from lagoons with fringing mangrove communities. **Marine Pollution Bulletin**, v. 32, p. 734-739, 1996.
- BOONNORAT, J. et al. Effects of hydraulic retention time and carbon to nitrogen ratio on micro-pollutant biodegradation in membrane bioreactor for leachate treatment. **Bioresource Technology**, v.219, p.53-63, 2016.
- BOUCHEZ, M., BLANCHET, D., VANDECASTEELE, J.P. Degradation of polycyclic aromatic-hydrocarbons by pure strains and by defined strain associations– inhibition phenomena and cometabolism. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.43, p.156– 164, 1995.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução n. 357**, de 2005. Dispõe sobre a classificação de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional, Brasília, DF, n. 053, p. 58-63, mar. 2005.

BRITO, E. M. S.; GUYANEAUD, R.; GOÑI-URRIZA M.; RANCHOU-PEYRUSE A.; VERBAERE, A.; CRAPEZ M.A.; WASSERMAN, J.C.; DURAN R. Characterization of hydrocarbon-blastic bacterial communities of mangrove sediments in Guanabara Bay, Brazil. **Research in Microbiology**, v.157, n.8, p.752-762, 2006.

BULMER, R. H.; SCHWENDENMANN, L.; LOHRER, A. M.; LUNDQUIST, C. J. Sediment carbon and nutrient fluxes from cleared and intact temperate mangrove ecosystems and adjacent sandflats. **Science of Total Environment**, v. 599-600, p. 1874-1884, 2017.

BURTON, G. A. Sediment quality criteria in use around the world. **Limnology**. v.3, p. 65-75, 2002.

CABRAL L. Anthropogenic impact on mangrove sediments triggers differential responses in the heavy metals and antibiotic resistomes of microbial communities. **Environmental Pollution**, v. 216, p.460-469, 2016.

CHEN, Y.; ZHOU, J. I.; CHENG, L.; ZHENG, J.; XU, J. Sediment and salinity effects on the bioaccumulation of sulfamethoxazole in zebrafish (*Danio rerio*). **Chemosphere**, v.180, p.467-475, 2017.

CHENG, Y. Challenges and solutions for biofiltration of hydrophobic volatile organic compounds. **Biotechnology Advances**, v.34, p.1091–1102, 2016.

COLINNA, E.; Bestetti, G.; Gennaro, P. Di; Franzetti, A.; F. GUGLIERSI; LASAGNI, M.; PITEA, D. Naphthalene biodegradation kinetics in an aerobic slurry-phase bioreactor. **Environment International**, v.31, p.167-171, 2005.

COLOMBO, J.C.; PELLETIER, E.; BROCHU, C.; KHALIL, M.; CATOGGIO, J.A. Determination of hydrocarbons sources using n-alkane and polyaromatic hydrocarbon distribution indexes. Case study: Rio de La Plate estuary, Argentina. **Environmental Science & Technology**, v. 23, n.7, 888-894 p., 1989.

DAANE, L.L.; BARNS, S. M.; LAUNEN, L.A.; PLLERON, N.J.; HÄGGBLOM, M.M. PAH-degradation by *Paenibacillus* spp. and description of *Paenibacillus naphthalenovorans* sp. nov., a naphthalene-degrading bacterium from the rhizosphere of salt marsh plants. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, p.131-139, 2002.

DEARY, M. E.; EKUMANKAMA, C. C.; CUMMINGS, S. P. Development of a novel kinetic model for the analyses of PAH biodegradation in the presence of lead and cadmium co-contaminants. **Journal of Hazardous Materials**, v.307, p.240-252, 2016.

DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; CABRAL, L. S.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R.; ZERVOUDAKIS, J. T.; LANA, R. P.; LEÃO, M. I.; MELO, A. J. N. Simulação e Validação de Parâmetros da Cinética Digestiva em Novilhos Mestiços Suplementados

a Pasto, por Intermédio do Sistema In Vitro de Produção de Gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n. 6, p. 2112-2122, 2005.

DONG, J.; DING, L.; CHI, Z.; LEI, J.; SU, Y. Kinetics of nitrobenzene degradation coupled to indigenous microorganism dissimilatory iron reduction stimulated by emulsified vegetable oil. **Journal Environmental Science**, v.54, p.206-216, 2017.

DUCAN, J.; BOKHARY, A.; FATEHI, P.; KONG, F.; LIN, H.; LIAO, B. Thermophilic membrane bioreactors: a review. **Bioresource Technology**, v. 243, 1180-1193p., 2017.

DUKE, N. C. Oil spill impacts on mangroves: recommendation for operation planning and action based on a global review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 109, p.700-715. 2016.

EL-KADI, A. I. Modeling hydrocarbon biodegradation in tidal aquifers with water-saturation and heat inhibition effects. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 51, n. 1-3, p.97-125. 2001.

EMBRAPA. **Cultivo in vitro de plantas**. L. Pedro Barrueto Cid, editor técnico. 3. ed. ampl. – Brasília, DF: Embrapa, 2014. 325 p.

MARCONDES, E.; LIMA, I. N. de (Coord.). **Dietas em pediatria clínica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 1993.

FARRINGTON, J.W.; QUINN, J.G. Petroleum hydrocarbons in Narragansett Bay: i: Survey of hydrocarbons in sediments and clams (*Mercenaria mercenaria*). **Estuarine and Coastal Marine Science**, v.1, p.71–79,1973.

FERNANDÉZ-FERNANDÉZ, S.; BERNABEU, A. M.; REY, D.; MUCHA, A. P.; ALMEIDA, C. M. R.; BOUCHETTE, F. The effect of composition on the degradation of buried oil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 86, p. 391-401, 2014.

FISCHER, A.; MANEFIELD, M. BOMBACH, P. Application of stable isotope tools for evaluating natural and stimulated biodegradation of organic pollutants in field studies. **Current Opinion in Biotechnology**, v.41, p.99-107, 2016.

FIRMO, A. L. B. **Estudo numérico e experimental da geração de biogás a partir da biodegradação de resíduos sólidos urbanos**. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Programa de pós-graduação em engenharia civil – Centro de Tecnologia e Geociências da Universidade Federal de Pernambuco, 208p., 2013.

FRYSINGER, G. S.; GAINES, R. B.; XU, L.; REDDY, C. M. Resolving the unresolved complex mixture in petroleum contaminated sediments, **Environmental Science & Technology**, v.37, p.1653–1662, 2003.

GALVÃO, T. F.; PEREIRA, M. G. Revisões sistemáticas da literatura: passos para a sua elaboração. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 183-184, 2014.

GEED, S. R.; KUREEL, M.K.; GIRI, B. S.; SINGH, R. S.; RAI, B.N. Performance evaluation of Malathion biodegradation in batch and continuous packed bed reactor (PBBR). **Bioresource Technology**, v.227, p.56-65. 2017.

GENG, X; BOUFADEL, M. C.; PERSONNA, Y. R.; LEE, K.; TSAO, D.; DEMICCO, E. D. Biob: A mathematical model for the biodegradation of low solubility. **Marine Pollution Bulletin**, v.83, p.138-147, 2014.

GESAMP. O estado do meio marinho. **Blackwell Scientific Publications**, Oxford, p. 146, 1990.

GOUGH, M. A.; RHEAD, M. M.; ROWLAND, J.J. Biodegradation studies of unresolved complex mixtures of hydrocarbons: model UCM hydrocarbons and the aliphatic UCM. **Organic Geochemistry**, v.18, p. 17-22, 1992.

GRATIVOL, A. D.; MARCHETTI, A. A.; WETLE-TONNI R. M.; VANANCIO, T. M.; GATTS, C. E.; THOMPSON, F. L.; REZENDE, C.E. Bacterial interactions and implications for biodegradation process in mangrove sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 118, p.221-228, 2017.

GONZÁLEZ, A.; MARQUÉS, S. Bacterial diversity in oil-polluted marine coastal sediments. **Current Opinion in Biotechnology**, v.38, p. 24-32, 2016.

HERRERA, D. O. P.; PECHAUD, Y.; HUGUENOT, D.; ESPOSITO, G.; HULLEBUSCH, E. D. V.; OTURAN, M. A. Removal mechanisms in aerobic slurry soils and sediments polluted with hydrophobic organic compounds: an overview. **Journal of Hazardous Materials**, v.339, p.427-449, 2017.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Censo demográfico 2010**, 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 26 jan. 2018.

JACQUES, R. J.; BENTO, F. M.; CAMARGO, F.A.O. Biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência e Natura**, v. 29, n.1, p.7-24, 2007.

JEE, V.; BECKLES, D. M.; WARD, C. H.; HUGHES, J. B. Aerobic slurry reactor treatment of phenanthrene contaminated sediment. **Water Research**, v.32, n.4, p.1231-1239, 1998.

JERÔNIMO, C. E. M.; KITZINGER, W. G. C. M. Dimensionamento de um landfarming para tratamento de borras oleosas utilizando critério de um reator batelada. **Revista eletrônica em gestão, educação e tecnologia ambiental**, v.18, n.3, set - dez, p.1275-1285, 2014.

JUHASZ, A. L.; NAIDU, R. Biorremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of microbial degradation of benzo (a) pyrene. **International Biodeterioration Biodegradation**, v.45, n.1, p.57-88, 2000.

KAPLAN, C. W.; KITTS, C. L. Bacterial succession in petroleum land treatment unit. TL-70. Appl. **Environmental Microbiology**, v. 70, p.1777-1786.

KOCH, A. L. Multistep kinetics: choice of models for the growth of bacteria. **J. Journal of Theoretical Biology**, v. 98, p.401-417, 1982.

LEE, P. H.; ONG, S. K.; GOLCHIN, J.; NELSON, G. L. Use of solvents to enhance PAH biodegradation of coal tar-contaminated soils. **Water Research**, v.35, n.16, p. 3941-3949, 2001.

LEWIS, R. F. Demonstration of Slurry-phase Biodegradation of PAH contaminated soil. **Air e Waste Management Association**, v. 43, n.4, p.503-508, 2017. DOI10108011073161X199310467149.

LI, X.; LI, P.; GONG, Z. Biodegradation of aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by microbial consortia in soil and slurry phases. **Journal Hazardous Materials**, v. 150, p.21-26, 2008.

LIN, Q; MENDELSSON, I. A. The combined effects of phytoremediation and biostimulation in enhancing habitat restoration and oil degradation of petroleum contaminated wetlands. **Ecological engineering**, v.10, p.263-274, 1998.

LUO, W.; XIE, M.; HAI, F. I.; PRICE, W. E.; NGHIEM, L. D. Biodegradation of cellulose triacetate and polyamide forward osmosis forward osmosis membranes in an activated sludge bioreactor: observations and implications. **Journal of membrane Science**, v.510, p.284-292, 2016.

LUAN, T. G.; YU, K. S.; ZHOUNG, Y.; ZHOU, H. W.; LAN, C.Y.; TAM, N. F. Study of metabolites from the degradation of polycyclic aromatic hidrocarbons (PAHs) by bacterial consortium enriched from mangrove sediments. **Chemosphere**, v. 65, n.11, p.2289-2296, 2006.

MADI, A. P. L. M.; BOEGER, M. R. T.; LARCHER, L.; PELOZO, A.; SERENESKI, C.; RESSMANN; PADIAL, A. A. Estrutura do componente de regeneração natural e arbóreo de dois manguezais no estado do Paraná. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.26, n.1, p.159-170, jan-mar. 2016.

MITTER, B.; GÜTER, B.; MUHAMMAD, A.; STEPHANE, C. Advances in Elucidating Beneficial Interactions between Plants, Soil, and Bacteria. **Advantages in agronomy**, v.121, p. 381-445, 2013.

MONOD, J. **Recherches sur la croissance des cultures bactériennes**. 2ed. Paris: Hermann, 1942, v. 911, 210p. ISSN 0365-6861.

MOREIRA, Ícaro Thiago Andrade. **Avaliação da eficiência de modelos de remediação aplicados em sedimentos de manguezal impactados por atividades petrolíferas**. 221f. 2010. Dissertação (Mestrado em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente) – Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, 2010.

MROZIC, W.; STEFANSKA, J. Adsorption and biodegradation of antidiabetic pharmaceuticals in soils. **Chemosphere**, v.95, p. 281-288, 2014.

NASCIMENTO, L. A.; RUFINO, D. R.; SARUBBO, L. A.; SANTOS, V. A. Wetland construído de macrófitas aéreas para fitorremediação de águas oleosas. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v.1, n.2., p.1- 8, 2015.

NASCIMENTO, R.A.; ALMEIDA, M.; ESCOBAR, N. C. F.; FERREIRA, S. L. C.; MORTATTI, J.; QUEIROZ, A. F. S. Sources and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and organic matter in surface sediments of an estuary under petroleum activity influence, Todos os Santos Bay, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v.119, p.223-230, 2017.

NASSERI, S.; KALANTARY, R. R.; NOURIEH, N.; NADDAFI, K.; MAHVI, A. H.; BARADARAN, N. Influence of bioaugmentation, in biodegradation of PAHs-contaminated soil in bio-slurry phase reactor. **Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v.7, n. 3, p.199-208, 2017.

OBEROI, A. S.; PHILIPPI, L. Variation in toxicity during the biodegradation of various heterocyclic and homocyclic aromatic hydrocarbons in single and multi-substrate systems. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 135, p.337-346, 2017.

ONO, E. A.; KUBITZA, F. Construção de viveiros e de estruturas hidráulicas para o cultivo de peixes. **Panorama da aquicultura**, v. 13, n.75, 2003.

OONK, H; REES-WHITE; BEAVEN, R. P.; HOEKSTRA, N.; WOELDERS, H. Enhanced Biodegradation at landgraaf bioreactor test-cell. **Waste Management**, v.33, p.2048-2060. 2013.

ORIGINLAB CORPORATION. **Origin versão 7.0**. Northampton, MA, USA: Origin®.

PARTOVINIA, A.; NAEINPOOR, F.; HEJAZI, P. Carbon content reduction in a model reluctant clayey soil: slurry phase n-hexadecane bioremediation. **Journal of Hazardous Materials**, v.181, p.133-139, 2010.

PITTARELLO, M.; BUSATO, J. G.; CARLETTI, P.; DOBBSS, L. B. Possible developments for ex situ phytoremediation of contaminated sediments, in tropical and subtropical regions e Review. **Chemosphere**, v. 182, p.707-719, 2017.

POWELL, E. O. **The growth rate of microorganisms as a function of substrate concentration**. In E. O. Powell, C. G.T Evans, R. E. Strange, and D. W. Tempest (ed.), *Microbial Physiology and continuous culture*. Her Majesty's Stationery Office, London. 1967, p.34-56.

QUINTÃO, Rosito. **Estudo comparativo da distribuição de hidrocarbonetos em amostras de sedimentos de rio por cromatografia a gás com detector por ionização em chama**. 91f. 2015. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, 2015.

REN, X.; ZENG, G.; TANG, L.; WANG, J.; WAN, J.; FENG, H.; SONG, B.; HUANG, C.; TANG, X. Effect of exogenous carbonaceous materials on the bioavailability of

organic pollutants and their ecological risks. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 116, p.70-81 2018.

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, 2015.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v.27, n.5, p. 771-780, 2004.

RIZZO, A. C. L.; LEITE, S. G. F.; SORIANO, A. U.; SANTOS, R. L. C.; SOBRAL, L. G. S. **Biorremediação de solos contaminados por petróleo: ênfase no uso de biorreatores**. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2006. (Série Tecnologia Ambiental, 37).

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

SALLES, Poline. **Avaliação de um reator tipo tambor rotativo para hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar**. 86f.2013. Dissertação (mestrado em Engenharia Mecânica) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2013.

SHARMA, B.; DANGI, A. K.; SHUKLA, P. Tecnologias contemporâneas baseadas em enzimas para biorremediação: uma revisão. **Journal of Environmental Management**, v.210, p.10-22, 2017.

SIMKINS, S.; ALEXANDER, M. Models for mineralization kinetics with the variables of substrate concentration and population density. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 47, n. 6, p.1299-1306, 1984.

SOUZA, Brayan Pétrick **Formação e mineralização de substâncias húmicas desde a decomposição de macrófitas aquáticas em reservatórios tropicais com diferentes graus de trofia**. 64f. 2015.Dissertação (mestrado em Ecologia e Recursos Naturais), Universidade Federal de São Carlos. 2015.

SOUZA, J.; RODRIGUES, B.B.; TONDIN, R.; MOTTA, C. A. O.; SCHAEFFERS, L. Usinas para tratamentos de RSU: Biodigestão anaeróbia versus incineração. **Revista Espacios**, v.35, n.11, p.1-11, 2014.

SRINIVASAN; SARMAH; ROCHA. Deriving sulfamethoxazole dissipation endpoints in pasture soils using first order and biphasic kinetic models. **Science of the Total Environment**, v.488-489, p.146-156, 2014.

TATE, R.L. **Soil Microbiology**. 1 ed. New York: John Wiley, 1995, p.107.

TISSOT, B.P.; WELTE, D. H. **Petroleum Formation and Occurrence**. 2. ed. Berlin: Springer-Verlag, 1984.

THOMAS, J. E. **Fundamentos de Engenharia de petróleo**. 2. ed. Ed. Interciência: Rio de Janeiro, 2004.

TRIGUEIROS, Daniela Estelita Goes. **Avaliação da cinética de biodegradação dos compostos tóxicos: benzeno, tolueno, Etilbenzeno e xileno (BTEX) e fenol.** 157f. 2008. Dissertação (mestrado em Desenvolvimento de Processos), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2008.

TRIKI, H. Z. ; LAABIR M., LAFABRIE C., MALOUCHE D, BANCON-MONTIGNY C., GONZALEZ C., DEIDUN A, PRINGAULT O., DALY-YAHIA O.K. Do the levels of industrial pollutants influence the distribution and abundance of dinoflagellate cysts in the recently deposited sediment of a Mediterranean coastal ecosystem? **Science of The Total Environment**, v.595, p.380-392, 2017.

UCHÔA, A. C.C. **O transporte de óleo diesel como potencial fonte de poluição na região do Porto de Santana-AP.** 2014. 110 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Desenvolvimento Regional). Fundação Universidade Federal do Amapá, Amapá, 2014.

UNITED STATES. Soil mechanics level 1: modulo 3 USDA Textural soil classification. 1951. 53f. Disponível em: <[https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE\\_DOCUMENTS/stelprdb1044818.pdf](https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/stelprdb1044818.pdf)>. Acesso em 12 dez. 2017.

UNITED STATES. **Method U.S EPA 3051A: Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils and Oils.** Revision, fev. 2007. Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3051a.pdf>>. Acesso em: 19 nov. 2017.

UNITED STATES. Method U.S EPA 3510C. **Separatory funnel liquid-liquid extraction.** 8p. 2015. Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3510c.pdf>> Acesso em: 03. mar. 2017.

VOLGT, C.; DORER, C.; MUSAT, F; RICHNOW, H.H. Multi-element isotope fractionation concepts to characterize the biodegradation of hydrocarbons –from enzymes to the environment. Current. **Opinion in Biotechnology**, v.41, p.90-98, 2017.

WOO, S.H.; JEON, C. O.; PARK, J. M. Phenanthrene Biodegradation in soil slurry systems: influence of salicylate and triton X-100. **Korean Journal Chemical Engineering**, v. 21, n.2, p.412-418. 2004.

WOO, S.H.; LEE, M. W.; PARK, J. M. Biodegradation of Phenanthrene in soil-slurry systems with different mass transfer regimes and soil contents. **Journal of Biotechnology**, v.110, p.235-250, 2004.

ZHAO, L. HOU, H.; ZHOU, Y.; XUE, N., LI, H.; LI, F. Distribution and ecological risk of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in surficial sediments from Haihe River and Haihe Estuary Area, China. **Chemosphere**, v. 78, p. 1285-1293, 2010.

ZHONG, Y.; LUAN, T. ; LIN, L.; LIU, H.; TAM, N.F. Production of metabolites in the biodegradation of phenanthrene, fluoranthene and pyrene by the mixed culture of

Mycobacterium sp. and Shinigomonas sp. **Bioresource Technology**, v.102, p. 2965-2972, 2011.

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

Franco, Evelin Daiane Serafim Santos  
Modelagem cinética microbiana aplicada na  
degradação do petróleo de Campos presente no sedimento  
de manguezal / Evelin Daiane Serafim Santos Franco. --  
Salvador, 2018.  
88 f.

Orientador: Ícaro Thiago Andrade Moreira.  
Dissertação (Mestrado - Mestrado em Geoquímica:  
Petróleo e Meio Ambiente) -- Universidade Federal da  
Bahia, Universidade Federal da Bahia, Instituto de  
Geociências, 2018.

1. Modelagem cinética. 2. Biodegradação. 3.  
Petróleo. 4. Sedimento. I. Moreira, Ícaro Thiago  
Andrade. II. Título.