

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA POLITÉCNICA

ARIANE CORRÊA BARBOSA

Estratégias de Biorremediação de Óleo Diesel Intemperizado por Biopilhas

São Paulo

2022

Estratégias de Biorremediação de Óleo Diesel Intemperizado por Biopilhas

Versão Corrigida

Monografia apresentada à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do título de Especialista em Gestão de Áreas Contaminadas, Desenvolvimento Urbano Sustentável e Revitalização de Brownfields.

Orientador: René Peter Schneider

São Paulo

2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-publicação

Barbosa, Ariane

Estratégias de Biorremediação de Óleo Diesel Intemperizado por Biopilhas /
A. Barbosa -- São Paulo, 2022.

36 p.

Monografia (MBA em MBA em Gestão de Áreas Contaminadas,
Desenvolvimento Urbano Sustentável e Revitalização de Brownfields) - Escola
Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia
Química.

1.Biorremediação 2.Biodegradação 3.Contaminação do solo
4.Hidrocarbonetos 5.Óleo Diesel I.Universidade de São Paulo. Escola
Politécnica. Departamento de Engenharia Química II.t.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao prof. René pelas críticas e sugestões fundamentais para a conclusão desse trabalho.
Às professoras Marilda e Patrícia pelos conselhos e ensinamentos durante o curso do MBA.

Agradeço aos meus pais por sempre me apoiarem e nunca mediram esforços para me proporcionar uma educação de qualidade.

Agradeço aos Marcos por estar ao meu lado nos momentos de dificuldade, sempre me mostrar o lado positivo da vida e me ajudar a não desistir.

RESUMO

Barbosa, Ariane. Estratégias de Biorremediação de Óleo Diesel Intemperizado por Biopilhas. 2022. 36 f. Monografia (MBA em Gestão de Áreas Contaminadas, Desenvolvimento Urbano Sustentável e Revitalização de Brownfields) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Biopilha tem se tornado uma alternativa para a remediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo por apresentar ser mais sustentável e de baixo custo comparada às técnicas de remediação tradicionais. Contudo, há diversos relatos de que solos contaminados por óleo diesel já intemperizado são mais difíceis de serem tratados. Por isso, são necessários estudos de técnicas que acelerem e melhorem a redução da concentração de hidrocarbonetos de petróleo em áreas contaminadas. O presente trabalho apresenta uma avaliação crítica de três estudos que investigaram diferentes técnicas para acelerar e melhorar o processo de biorremediação. Foram avaliadas diferentes fontes de macronutrientes como, carbono, nitrogênio e fósforo, bem como formas que melhoram a oxigenação do meio e umidade. Por meio da análise dos estudos encontrados na literatura foi constatado que a bioestimulação possui um papel fundamental no processo de biorremediação, sendo que em todos os estudos foi o que apresentou melhores resultados.

Palavras-Chaves: Biorremediação; Biodegradação; Contaminação do solo; Hidrocarbonetos; Óleo Diesel

ABSTRACT

Barbosa, Ariane. Biopile Weathered Diesel Oil Bioremediation Strategies. 2022. 36 f. Monografia (MBA em Gestão de Áreas Contaminadas, Desenvolvimento Urbano Sustentável e Revitalização de Brownfields) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Biopiles have become a remediation alternative for contaminated soils with petroleum hydrocarbons due to their low environmental impact as low cost compared to traditional techniques. However, there are several reports that contaminated soils by intemperate diesel oil are difficult to correct. Therefore, studies are necessary to find techniques resulting in improvement of the velocity of the process and the ratio of hydrocarbons removal in contaminated areas. The present work shows a critical assessment of three studies regarding different techniques of speed and improves the bioremediation process There were evaluated different sources of macronutrients, like carbon, nitrogen, and phosphorus as well ways of enhancing oxidation and moisture. Through the analysis of the studies found in the literature review, it was noted that biostimulation is fundamental in the bioremediation process, being the one achieving the best results.

Keywords: Bioremediation; Biodegradation; Soil Contamination; Hydrocarbons; Diesel Oil

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Comparação da composição do óleo diesel com outros combustíveis derivados do petróleo.	13
Figura 2: Comportamento inicial do óleo diesel no solo após o vazamento.	15
Figura 3: Modelo conceitual do óleo diesel vazado.	16
Figura 4: Modelo conceitual do óleo diesel após longo período do vazamento.	16
Figura 5: Processos que podem ocorrer com o poluente presente no solo.	17
Figura 6: Exemplo de cromatograma demonstrando diferentes características entre o óleo diesel intemperizado e óleo diesel recente.	18
Figura 7: Mudança da composição do diesel ao longo do processo de biodegradação.	19
Figura 8: Comparação das diferentes técnicas de tratamento do solo contaminado por hidrocarboneto de petróleo.	20
Figura 9: Esquema de <i>Landfarming</i>	21
Figura 10: Esquema de uma biopilha estática.	21
Figura 11: Eficiência de remoção de hidrocarbonetos de petróleo no Solo A e Solo B em 4 tratamentos: nenhum, biodegradação por atenuação natural (NA), por bioestimulação adicionando $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{KH}_2\text{PO}_4$ (BioS), moagem e bioestimulação (G+BioS), Bioaumentação e Bioestimulação (BioS+BioA)	30
Figura 12: Eficiência de remoção de DRO (fração orgânica do óleo diesel) e PAH (hidrocarbonetos aromáticos policíclicos) aplicando diferentes concentrações de surfactante.	32
Figura 13: Degradação do TPH ao longo do experimento para as diferentes técnicas para melhoria do processo de biorremediação: NA- atenuação natural (controle), RB- farelo de trigo vermelho, OW-água enriquecida com oxigênio, TDB- bactéria degradadora de hidrocarbonetos, WF-fertilizantes, MIX= todas as adições anteriores	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Grupos de hidrocarbonetos que compõem o óleo diesel	13
Tabela 2: Valores orientadores para solo (mg/kg).	14
Tabela 3: Balanço de massa do carbono.....	20
Tabela 4: Exemplos de espécies degradadoras de hidrocarbonetos de compostos presentes em óleo diesel	24
Tabela 5: Resumo das condições dos experimentos citadas no presente estudo.....	26
Tabela 6: Tratamentos investigados para melhoria do processo de biodegradação por Jiang et al., 2016.	27
Tabela 7: Tratamentos investigados para melhoria do processo de biodegradação por Oualha et al., 2019.	28
Tabela 8: Técnicas testadas para melhorar a eficiência do tratamento de solo contaminado por óleo diesel intemperizado por biopilhas.	29

LISTA DE SIGLAS

BTEX	Beneno, Toluneo, Etilbenzeno e Xilenos
C	Carbono
DRO	sigla em inglês de Diesel Range Organic
HRP	TPH resolvido
MIX	sigla em inglês de mixed supplement
N	Nitrogênio
NA	Atenuação Natural, sigla em inglês de Natural Atenuation
OW	sigla em inglês de Oxygenated Water
P	Fósforo
	sigla em inglês de Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Hidrocarbonetos
PAH	Poliaromáticos
Phy	Fitano
Pri	Pristano
RB	sigla do inglês Red Bran
TDB	sigla em inglês de TPH-degrading bactéria
	Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (sigla em inglês de Total Petroleum
TPH	Hidrocarbons)
UCM	TPH não resolvido
WF	sigla em inglês de Water soluble fertilizer

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo geral	12
2.2 Objetivos específicos	12
3. JUSTIFICATIVA.....	12
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
4.1 Composição do óleo diesel	12
4.2 Comportamento do óleo diesel no solo.....	15
4.3 Indicadores do grau de intemperização do óleo diesel	17
4.4 Biodegradação dos hidrocarbonetos de petróleo presentes no óleo diesel	19
4.5 Tecnologia de tratamento ex situ de solos contaminados com diesel: <i>landfarming</i> e biopilha	20
4.6 Técnicas de melhoramento da biorremediação	23
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
5.1 Definição das palavras chaves	24
5.2 Seleção da base de dados	24
5.3 Análise dos Resultados	24
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6.1 Configurações das biopilhas de Jiang et al., 2016	25
6.2 Configurações das biopilhas de Oualha et al., 2019	27
6.3 Configurações das biopilhas de Liu et al., 2021	28
6.4 Análise das técnicas de melhoramento da biodegradação	29
7. CONCLUSÕES	34

1. INTRODUÇÃO

O solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo pode ser tratado por processo de biorremediação como biopilhas e *landfarming*. Essas técnicas são de baixo custo e consideradas sustentáveis. A eficiência de remediação de ambas as técnicas pode ser melhorada pela adição de nutrientes, substratos, oxigênio, de acordo com as características do solo e do produto a ser remediado (Liu et al., 2021).

Em geral, a contaminação por hidrocarbonetos de petróleo por ser classificada de acordo com o tempo em que o evento ocorreu: recente ou antigo (intemperizado). A contaminação recente é caracterizada pelo fato dos componentes contidos na pluma estarem muito próxima de sua composição inicial, inclusive os compostos mais voláteis como o benzeno, tolueno e xileno. A contaminação denominada de intemperizada pode ser definida como a fração de hidrocarboneto de petróleo que com o tempo não foi volatilizado, dissolvida ou biodegradada e por isso é constituída predominantemente por compostos de cadeia carbônicos complexos (ramificados, alto peso molecular, poliaromáticos).

Os hidrocarbonetos de petróleo de cadeias lineares e de número de carbono menor do que 20 são considerados facilmente biodegradáveis (Brown et al., 2017). Entretanto, esses compostos também são mais voláteis e solúveis em água e, portanto, representam a menor fração dos hidrocarbonetos de petróleo em áreas em que ocorreu o vazamento há muito tempo.

Mariano et al., 2008 e Trindade et al., 2005 observaram que o solo contaminado recentemente por óleo diesel (fresco) é biodegradado mais rapidamente que o óleo diesel intemperizado. Os hidrocarbonetos de petróleo intemperizados possuem maior tendência em serem sorvidos pelas partículas de solo. Dessa forma, ocorre a diminuição da biodisponibilidade desses compostos e consequentemente há uma redução na taxa de biodegradação (Khan et al., 2018). Por isso, é fundamental estudar formas que viabilizem a utilização de técnicas de biorremediação para esse tipo de contaminação.

Bioestimulação e bioaugmentação são técnicas que podem acelerar o processo de biodegradação e por isso, devem ser investigadas a fim de tornar possível a aplicação de biorremediação para esses contaminantes. O principal objetivo desse trabalho é estudar as diferentes técnicas de tratamentos para solos contaminados com óleo diesel.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo é apresentar e comparar estratégias de melhoramento da biorremediação de solo contaminado por óleo diesel intemperizado pelo processo de biopilhas.

2.2 Objetivos específicos

- Compilar informações encontradas a respeito do tratamento do óleo diesel intemperizado em solo por biopilhas.
- Apresentar diferentes técnicas de melhoramento do processo de biorremediação.
- Comparar as técnicas para melhoria e aceleração do processo de biorremediação.

3. JUSTIFICATIVA

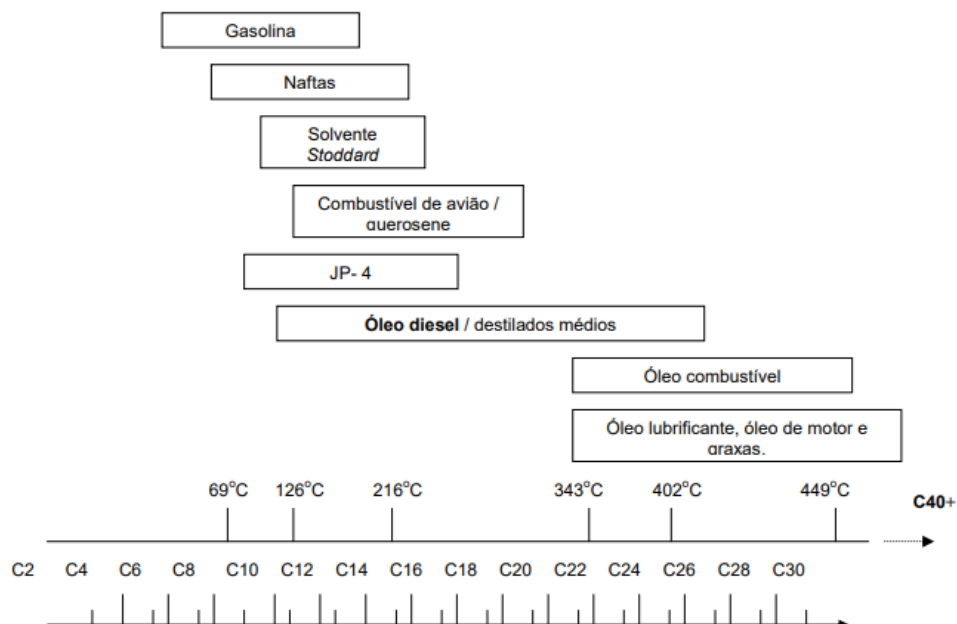
Óleo Diesel intemperizado é formado principalmente por frações de hidrocarbonetos pesados e de estruturas complexas. Os hidrocarbonetos residuais possuem uma forte afinidade para as superfícies dos materiais constituintes do solo, diminuindo sua biodisponibilidade e consequentemente reduzindo o potencial de biodegradação. Visto que atualmente são inúmeros os sites que possuem histórico de contaminação de décadas e diversos estudos que relatam a dificuldade em promover a remediação do solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo intemperizados, a compilação de estratégias que melhoram e aceleram esse processo torna-se fundamental.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Composição do óleo diesel

Os hidrocarbonetos que compõem o óleo diesel possuem em sua cadeia carbônica entre 9 e 28 átomos de carbono (**Figura 1**). De acordo com Lee et al., 2002 o óleo diesel é composto em geral por, aproximadamente, 40% de n-alcanos, 40% de iso e ciclo-alcanos, 20% de hidrocarbonetos aromáticos, e em menor proporção por isoprenóides, compostos oxigenados, sulfurados e nitrogenados. A composição depende da origem do petróleo e do processo de produção e destilação.

Figura 1: Comparação da composição do óleo diesel com outros combustíveis derivados do petróleo.



Fonte: Chagas-Spinelli, 2007

A caracterização do óleo diesel comercial foi realizada pela CENPES-PETROBRAS (apud Chagas-Spinelli, 2007) e a fração dos principais grupos de hidrocarbonetos que o compõem foram identificadas, conforme é apresentado pela **Tabela 1**.

Tabela 1: Grupos de hidrocarbonetos que compõem o óleo diesel

Hidrocarbonetos	Composição (% m/m)
Saturados + olefinas	74,8±0,4
Monoaromáticos	17,7
Diaromáticos	5,0
Poliaromáticos	2,1
Aromáticos totais	24,8

Fonte: CENPES-PETROBRAS, apud Chagas-Spinelli, 2007

Com relação aos hidrocarbonetos poli-aromáticos que o compõem, destacaram-se 3 compostos: naftalenos (79 %), poliaromáticos de 3 anéis como o fenantreno e fluorantenos (19%) e em menor quantidade o poli-aromáticos entre 4 e 6 anéis (2%) (Chagas-Spinelli, 2007).

A **Tabela 2** apresenta os compostos químicos presente no óleo diesel e que são regulamentados pelos órgãos ambientais CETESB e USEPA.

Tabela 2: Valores orientadores para solo (mg/kg).

Substância	Valores de intervenção (mg/kg)			Referência
	Agrícola	Residencial	Industrial	
Benzeno	0,02	0,08	0,2	1
Tolueno	5,6	14	80	1
Etilbenzeno	0,2	0,6	1,4	1
Xilenos	12	3,2	19	1
Naftaleno	1,1	1,8	5,9	1
Fenantreno	15	40	95	1
Antraceno	2300	4600	10.000	1
Benzo(a)antraceno	1,6	7	22	1
Criseno	95	500	1600	1
Benzo(b)fluranteno	2	7,2	25	1
Benzo(k)fluranteno	27	75	240	1
Benzo(a)pireno	0,2	0,8	2,7	1
Dibenzo(a,h)antraceno	0,3	0,8	2,9	1
Indeno(1,2,3-cd)pireno	3,4	8	30	1
Fluoreno	NE	2400	3000	2
Fluoranteno	NE	2400	3000	2
Pireno	NE	180	2300	2

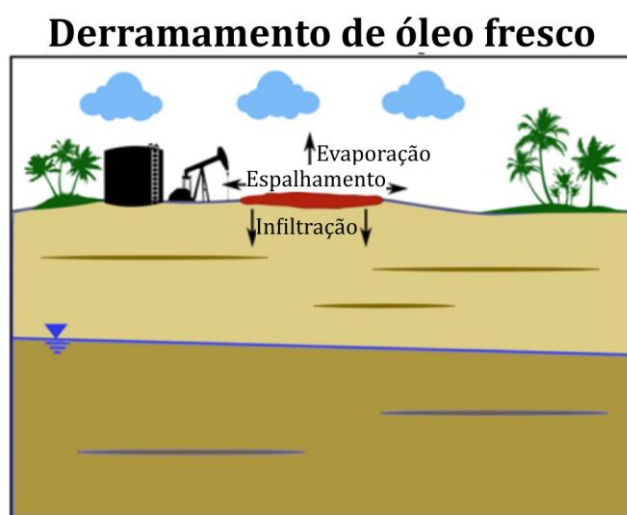
1- CETESB, 2021; 2- USEPA,2021

Maletic et al, 2012, acompanharam por dois anos um solo contaminado por hidrocarboneto de petróleo durante o processo de tratamento por *landfarming*. Eles caracterizaram os compostos no início e no final do processo por cromatografia gasosa acoplado a um detector por espectrometria de massa (GC/MS). No final do tratamento, eles identificaram que os compostos mais persistentes em solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo são os alcanos de cadeia linear longa ($C > 20$) e alcanos ramificados. Nas seções a seguir serão elucidados os processos de intemperização que podem ocorrer com óleo diesel derramado em solo e consequentemente as alterações em sua composição química.

4.2 Comportamento do óleo diesel no solo

Quando ocorre um vazamento de combustível, esse pode infiltrar no solo. A taxa de infiltração depende das propriedades do solo (porosidade, granulometria, umidade) e também das propriedades do combustível (viscosidade, densidade, tensão superficial) e o volume derramado. Ocorrerá a infiltração até que o óleo derramado seja suficiente para superar as pressões dos poros e da capilaridade, sendo assim, a migração desse contaminante diminui ao longo do tempo e da distância, caso a fonte de contaminação seja eliminada. Nessa etapa inicial (**Figura 2**), a evaporação dos compostos mais leves que compõem o óleo diesel é um processo significativo.

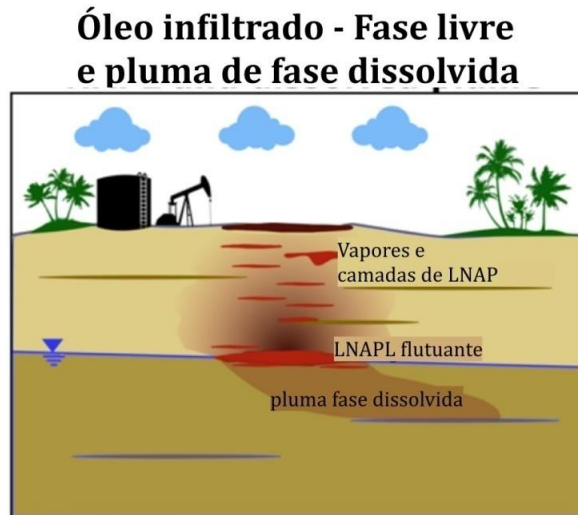
Figura 2: Comportamento inicial do óleo diesel no solo após o vazamento.



Fonte: Adaptado de Brown, et. al, 2017

O óleo diesel derramado pode infiltrar no solo até atingir o lençol freático, formando uma camada de produto chamado de fase livre (**Figura 3**). Ao longo do percurso do óleo no solo, também são formadas regiões em que o solo encontra-se saturado do combustível derramado. Concomitantemente a migração do óleo diesel, ocorre também a volatilização e a sorção de alguns compostos no solo. Os compostos do óleo diesel ao entrar em contato com a água podem ser dissolvidos formando pluma de fase dissolvida.

Figura 3: Modelo conceitual do óleo diesel vazado.

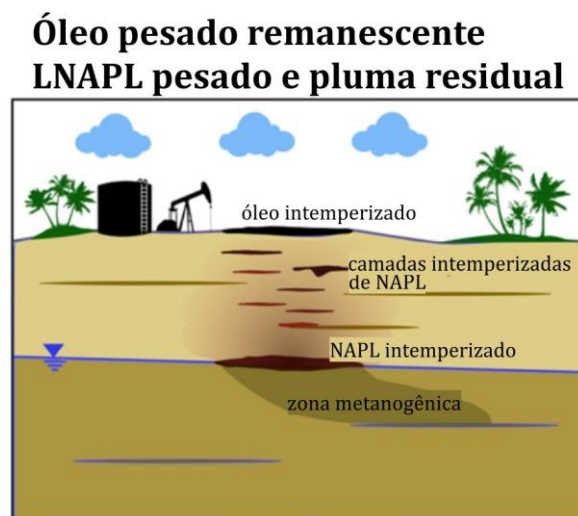


Fonte: Adaptado de Brown et al., 2017

Deve ser lembrado, que o óleo diesel é formado por uma mistura complexa de hidrocarbonetos de petróleo com diferentes propriedades e por isso a taxa de volatilização, sorção, dissolução e biodegradação é diferente para cada um deles.

Com o passar do tempo, a taxa de volatilização decai devido aos hidrocarbonetos mais leves já terem sido volatilizados. Com isso o produto presente no solo é composto majoritariamente de hidrocarbonetos pouco voláteis. Na região da água subterrânea mais próxima do vazamento, ocorre uma diminuição da concentração de oxigênio dissolvido (**Figura 4**).

Figura 4: Modelo conceitual do óleo diesel após longo período do vazamento.



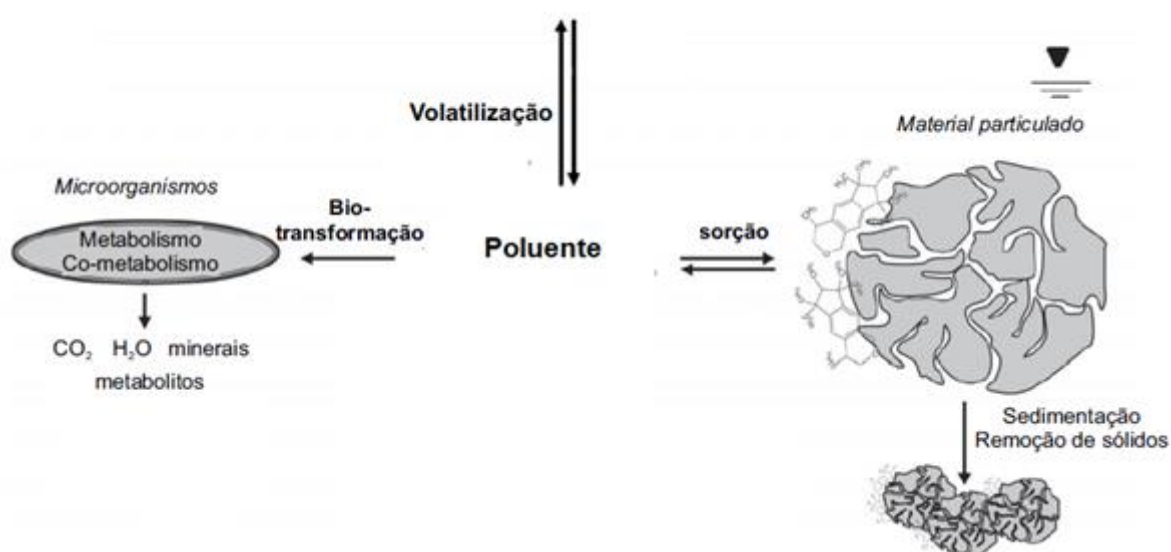
Fonte: Adaptado de Brown et al., 2017

É importante mencionar que as ilustrações acima podem fornecer a impressão de que o contaminante do tipo LNAPL se concentra na superfície da franja capilar. Esse modelo, conhecido como modelo “panqueca”, não é mais válido. Atualmente, o modelo mais difundido é o chamado modelo de Equilíbrio Vertical. Ao contrário do modelo “panqueca”, os contaminantes LNAPL penetram abaixo do lençol freático e água e contaminantes podem coexistir nos poros.

4.3 Indicadores do grau de intemperização do óleo diesel

Durante o processo de intemperização do óleo diesel, os compostos com menor pressão de vapor são volatilizados e por isso, as concentrações desses compostos diminuem mais rapidamente quando comparados aos demais. Por isso, as concentrações dos compostos Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xilenos reduzem rapidamente. Além disso, esses compostos também são mais solúveis e, portanto, espera-se encontrá-los em menor concentração no solo, mas em maior proporção na pluma de contaminantes formada no lençol freático. A ocorrência desses compostos na análise da composição do óleo diesel derramado pode indicar uma contaminação recente do solo. A **Figura 5** ilustra os diferentes processos que podem ocorrer com os compostos que compõem o óleo diesel.

Figura 5: Processos que podem ocorrer com o poluente presente no solo



Fonte: Adaptado de Margot et al., 2005

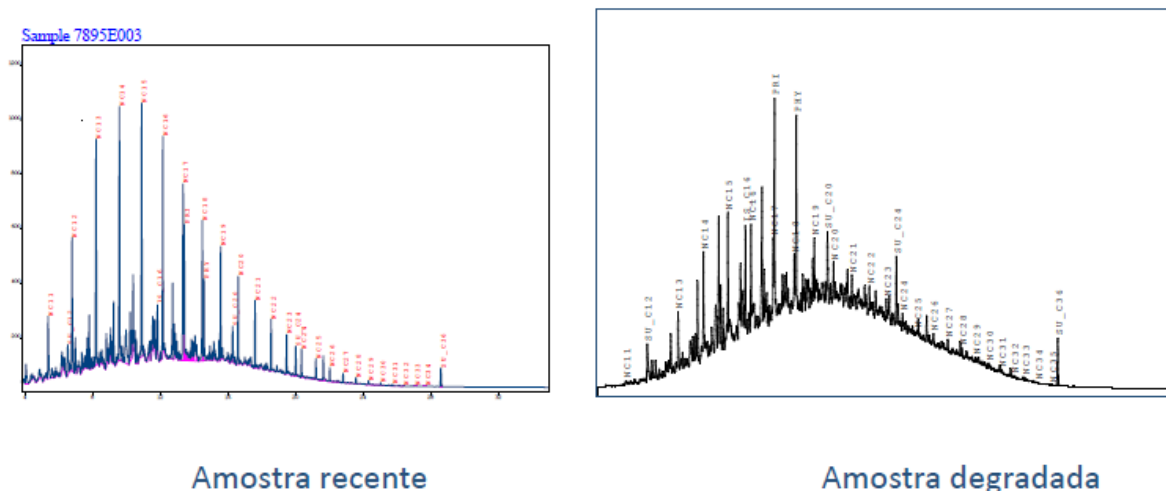
Existem diferentes métodos para identificar o tempo de exposição de uma contaminação por hidrocarbonetos de petróleo:

- Cromatograma de TPH
- Cromatograma de BTEX
- Cromatograma PAH
- Relação TPH resolvido(HRP)/TPH não resolvido (UCM)
- Relação entre isoprenóides (Pri/Phy) e n-alcanos

A análise mais usualmente utilizada para avaliar o grau de intemperização da contaminação é a relação de TPH resolvido (HRP) e não resolvido (**Figura 6**). TPH não resolvido (UCM) é uma fração de hidrocarbonetos que não são separados pela análise de cromatografia gasosa. Essas frações de hidrocarbonetos correspondem aos alcanos ramificados, ciclo alcanos, monoaromáticos, poliaromáticos, entre outros (Jeon et al., 2017).

O pristano (Pri) e fitano (Phy) são hidrocarbonetos isoprenóides (derivado do isopreno) presentes em derivados de petróleo. Os isoprenóides são extremamente resistentes a degradação devido à presença dos carbonos terciários em sua estrutura, que conferem a molécula uma grande estabilidade contra ataque por bactérias aeróbicas. Quando a relação entre nC17/Pri e nC18/Phy for menor do que 1, indica que a contaminação não é recente, pois a amostra apresenta biodegradação.

Figura 6: Exemplo de cromatograma demonstrando diferentes características entre o óleo diesel intemperizado e óleo diesel recente.



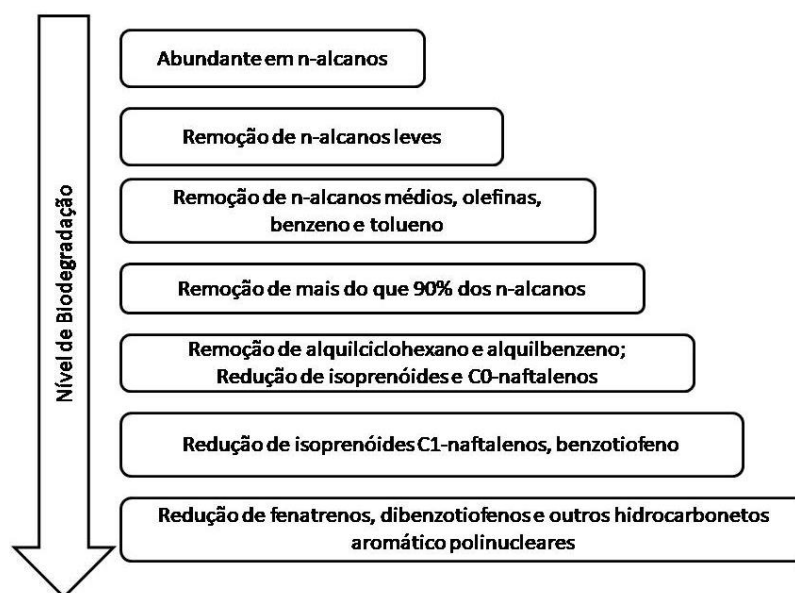
4.4 Biodegradação dos hidrocarbonetos de petróleo presentes no óleo diesel

A biodegradação é um processo de transformação ou mineralização dos contaminantes orgânicos por microorganismos. A taxa de biodegradação depende das propriedades de cada composto, como a estrutura e peso molecular.

Os hidrocarbonetos mais leves e de cadeia lineares são mais facilmente biodegradáveis quando comparados com os hidrocarbonetos de cadeias mais complexas e mais pesados. Em geral, hidrocarbonetos lineares com cadeia carbônica com até 25 carbonos são degradados rapidamente, ao contrário dos hidrocarbonetos similares, mas com um número maior de carbonos. Nesse caso, os hidrocarbonetos com número de carbono maior do que 25 são menos solúveis em água, pois são mais apolares, e por isso tornam-se menos biodisponíveis para que ocorra a biodegradação. Isoalcanos são considerados biodegradáveis, porém esse processo ocorre a uma taxa menor quando comparado aos n-alcanos (SEABRA, 2005).

A **Figura 7** apresenta os estágios da composição do óleo diesel ao longo do processo de biodegradação. Como pode ser visto, o diesel intemperizado é formado predominantemente por fenantrenos, dibenzotifenos e outros hidrocarbonetos aromáticos polinucleares reduzidos.

Figura 7: Mudança da composição do diesel ao longo do processo de biodegradação.



Fonte: Adaptado de Khan et al., 2018

HUPE et al., 1998 apud SEABRA, 2005 descreveram o balanço de massa para o carbono na biodegradação de óleo diesel dos hidrocarbonetos de petróleo no solo (**Tabela 3**).

Tabela 3: Balanço de massa do carbono

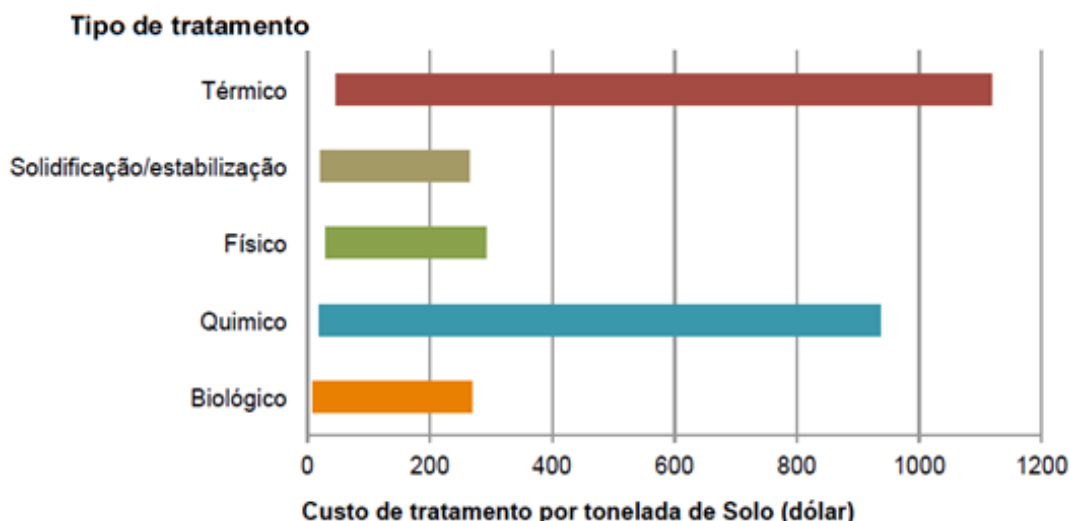
Processo	Porcentagem (%)
Hidrocarbonetos de petróleo totais extraíveis	8
Volatilizado	4
Convertido em CO ₂	59
Não quantificado (sorvido na matriz do solo)	24
Biomassa microbiana	4

Fonte: HUPE et al., 1998 apud SEABRA, 2005

4.5 Tecnologia de tratamento ex situ de solos contaminados com diesel: *landfarming* e biopilha

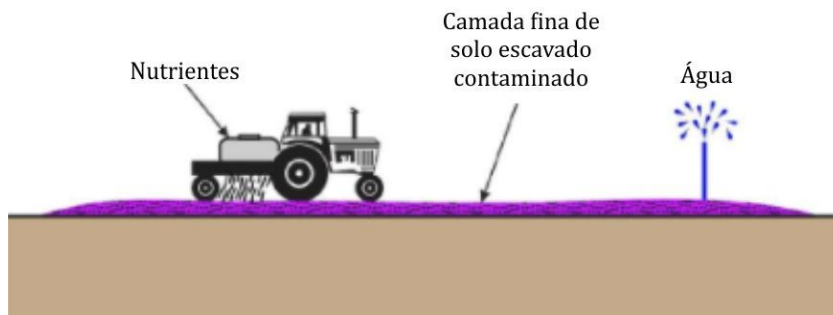
Biopilhas e *landfarming* são técnicas ex-situ de tratamento de solo contaminado. As técnicas de biorremediação apresentam um menor custo em relação às demais técnicas de remediação tradicionais e outras formas de destinação do solo (**Figura 8**).

Figura 8: Comparação das diferentes técnicas de tratamento do solo contaminado por hidrocarboneto de petróleo.



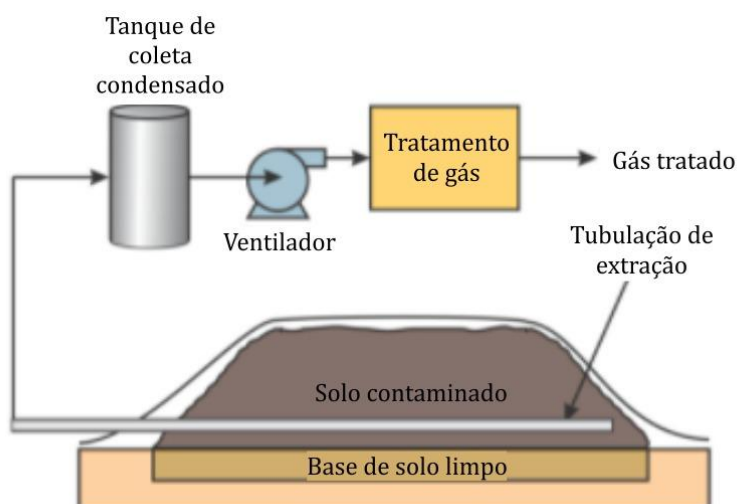
Fonte: Moraes et al., 2013

O *landfarming* é o processo em que o solo contaminado é disposto superficialmente, com espessura máxima de 40 cm, em uma área previamente preparada com geomanta e argila compactada para evitar infiltração de chorume no solo. O fornecimento de nutrientes e aeração é realizado manualmente ou utilizando máquinas agrícolas. Essa técnica é adequada quando o solo é contaminado por frações de hidrocarbonetos facilmente degradáveis aerobicamente. A **Figura 9** ilustra a esquematização de uma *landfarming*.

Figura 9: Esquema de *Landfarming*.

Fonte: FRTR, 2021

A biopilha é uma técnica similar, em que o solo também precisa ser disposto em uma área impermeabilizada, contudo o solo é disposto em pilhas com altura entre 2 e 3 m. As biopilhas podem ser de dois tipos: estáticas ou dinâmicas. Na biopilha estática é necessária a instalação de um sistema de injeção de oxigênio, chamada de aeração ativa ou aeração forçada. Nesse tipo de tratamento, é recomendada a adição periódica de água para manter a umidade ideal do solo. Na biopilha dinâmica o fornecimento de oxigênio e outros nutrientes, se necessário, ocorre por meio do revolvimento periódico da biopilha por meio de máquinas. Esse método é adequado para os casos em que o tipo do solo tende a formar grumos, como o solo argiloso, por exemplo. De acordo com Berger 2005, atualmente, as biopilhas são predominantemente do tipo dinâmicas e são empregadas especialmente na Alemanha, Canadá, EUA e Holanda.

Figura 10: Esquema de uma biopilha estática.

Fonte: FRTR

O processo de biodegradação é complexo e são diversos fatores que podem limitá-lo. A seguir são listados alguns desses fatores que afetam a atividade microbiana e que podem

interferir na taxa de biodegradação dos contaminantes em ambas as técnicas supracitadas (U.S. *Environmental Protection Agency*, 1995).

- **Densidade populacional microbiana**

Os solos naturalmente possuem uma grande variedade de microorganismos. As bactérias são a classe mais abundante. Para a biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo é fundamental a presença de bactérias heterotróficas e aeróbias (ou facultativas).

Devem ser realizadas análises no laboratório para a determinação da quantidade desse tipo de bactéria presente naturalmente no solo. Recomenda-se, no mínimo, realizar a contagem de placas para bactérias heterotróficas totais. Para o tratamento por biopilha e *landfarming* seja efetiva a quantidade de bactérias heterotróficas deve ser no mínimo igual a 10^3 CFU / grama de solo (U.S. *Environmental Protection Agency*, 1995).

- **Oxigênio**

De acordo com o estudo realizado por Koning et al. 1999 apud SEABRA, 2005, é possível que as pilhas das biopilhas possuam suprimento de oxigênio por transferência de difusão quando até a altura máxima de 2 metros. Caso seja necessário pilhas mais altas, é necessário a utilização de aeração forçada ou revolvimento frequente.

- **pH do solo**

O pH do meio é um importante parâmetro para o crescimento bacteriano. Para isso, o pH deve ser mantido na faixa entre 6 e 8, sendo 7 o valor ideal.

- **Umidade**

O crescimento bacteriano também requer um teor de umidade adequado. A quantidade ideal é de 40 a 85 % da capacidade de campo do solo ou de 12 a 30% por peso. O excesso de umidade reduz o fluxo de ar, reduzindo a disponibilidade de oxigênio no meio e a baixa umidade pode não suprir a necessidade para o crescimento bacteriano.

- **Temperatura**

Entre 10° C e 45 ° C o crescimento bacteriano dobra a cada elevação da temperatura de 10°.

- **Concentração de Nutrientes**

Para o crescimento e atividade microbiana as bactérias requerem uma quantidade adequada de carbono (C), nitrogênio (N) e fósforo (P). Em geral, adota-se uma relação C: N: P de 100:1:1 ou 100:1:0,5, depende das características do solo.

- **Propriedades físicas do solo**

As propriedades do solo referem-se a permeabilidade, umidade e densidade aparente e estão relacionadas ao tamanho das partículas que os compõem. Existem várias classificações granulométricas utilizadas, mas em geral, podemos definir três tipos: argila (< 0,0002 mm); silte (0,002-0,05 mm) e areia (> 0,05 mm). Solos mais argilosos tendem a formar grumos, apresentar baixa permeabilidade de oxigênio e reter muito a umidade. Nesses casos, é recomendável adicionar gesso ou materiais estruturantes como palha ou serragem. Em alguns casos é necessário realizar a trituração do solo, antes de dispor em *landfarming* ou biopilhas.

Em geral, para os processos de *landfarming* e biopilhas devem ser seguidas as seguintes etapas:

- Etapa 1: Caracterização do solo e teste de biodegradabilidade
- Etapa 2: Peneiramento - retirada de material inerte como plásticos e restos de entulho
- Etapa 3: Homogeneização
- Etapa 4: Se necessário, são adicionados substratos (palha, casca de árvores, cavacos de madeira), nutrientes, água e/ou micro-organismos cultivados externamente

4.6 Técnicas de melhoramento da biorremediação

O processo de biorremediação pode ocorrer de forma natural, chamada de atenuação natural ou ainda ser acelerada pela adição de insumos que possam acelerar esse processo natural. Esses processos de aceleração do processo de biodegradação e denominado de: Bioestimulação e bioaumentação.

Bioestimulação

A técnica de bioestimulação consiste na adição de nutrientes que promovem o crescimento celular das bactérias endógenas presentes no solo. São diversos os nutrientes que podem ser adicionados, fontes de macronutrientes como carbono, nitrogênio, fósforo e

micronutrientes como, potássio. Além disso, também pode-se aumentar o fornecimento de oxigênio no meio e a umidade.

Bioaugmentação

A Bioaugmentação é uma estratégia de biorremediação em que são adicionadas bactérias especializadas em degradar determinados contaminantes. A **Tabela 4** apresenta as principais espécies utilizadas no processo de biorremediação e o respectivo contaminante que ela é capaz de degradar.

Tabela 4: Exemplos de espécies degradadoras de hidrocarbonetos de compostos presentes em óleo diesel

Microorganismos	Substância
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>sp.</i> , <i>Pseudomonas putida</i>	Naftaleno
<i>Beijemickia sp.</i> , <i>Mycobacterium sp.</i>	Antraceno
<i>Alcaligenes denitrificans</i>	Pireno
<i>Rhodococcus sp.</i>	Criseno

Fonte: Adaptado de Chagas- Spinelli, 2007.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Definição das palavras chaves

Essa etapa consiste em definir as palavras usadas no sistema de busca na base de dados. Baseando-se em artigos sobre o assunto foram escolhidas as seguintes palavras chaves: *biopiles*, *bioremediation*, *weathered diesel oil*, *landfarming*.

5.2 Seleção da base de dados

Foram realizadas pesquisas nas principais bases de dados: *Scopus*, *Science Direct*, *Web of Science*, *Google Acadêmico*.

5.3 Análise dos Resultados

Os resultados obtidos foram exportados para o Excel. Inicialmente fez-se um teste de aderência ou não do título. Em seguida foi realizada a leitura dos resumos dos artigos

classificados como aderentes, a fim de confirmar ou não a importância de tal artigo para a presente revisão da literatura.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme mencionado anteriormente, o sucesso do tratamento por biorremediação do solo contaminado por óleo diesel intemperizado depende de diversos fatores como, por exemplo, a textura do solo, a quantidade de bactérias nativas, biodisponibilidade do contaminante e disponibilidade dos nutrientes necessários para o crescimento bacteriano. A seguir são apresentados os trabalhos realizados por Jiang et al., 2016, Oualha et al., 2019 e Liu et al., 2021 que investigaram técnicas que possam acelerar e promover a degradação dos hidrocarbonetos de petróleo em solos por biopilhas.

6.1 Configurações das biopilhas de Jiang et al., 2016

Jiang et al., 2016 avaliaram a degradação de dois solos contaminados por hidrocarboneto de petróleo, ambos situados em uma refinaria de óleo localizado no Reino Unido:

- Solo A: Solo arenoso e que foi tratado previamente por biorremediação. A concentração final de TPH após esse tratamento foi de 22.700 mg kg⁻¹ e acreditava-se que não era possível mais reduzir essa concentração
- Solo B: Solo argiloso em que a concentração de TPH é de 31.500 mg.kg⁻¹ e não foi submetido a nenhuma técnica de remediação anteriormente

A **Tabela 5** sumariza a caracterização dos solos estudados por Jiang et al., 2016.

Tabela 5: Resumo das condições dos experimentos citadas no presente estudo.

Escala	Características do solo	Concentração Inicial de TPH (mg.kg ⁻¹)	Característica do contaminante	País/Região	Volume (kg)	Autor
Laboratorial	Solo A: Arenoso	22.700	Óleo diesel submetido a intemperização e produtos da biorremediação	Reino Unido	0,700	Jiang et al., 2016
	Solo B: Argiloso	31.500	Óleo diesel submetido a intemperização	Reino Unido	0,700	Jiang et al., 2016

Para cada um dos tipos de solo (solo A e solo B) foram construídos 4 (quatro) microcosmos com 0,700 kg, em triplicata, em que foram investigados 03 (três) diferentes formas de tratamento e 01 (um) microcosmos sem adição de qualquer tipo de suplemento como controle, representando o processo de atenuação natural do meio. As formas de tratamentos investigadas foram:

- Bioaugmentação: aplicando bactérias apropriadas para a degradação de hidrocarbonetos de petróleo. As bactérias degradadoras de hidrocarboneto de petróleo (*Pseudomonas sp.* e *Klebsiella sp.*) foram adicionadas a uma concentração igual a 5×10^7 CFU g⁻¹ solo. Essa concentração foi obtida por cultivo em placas em que a fonte de carbono foi o óleo diesel.
- Bioestimulação: aplicação de nutrientes fornecedores de nitrogênio (N) - nitrato de amônio - e fósforo (P)- ortofosfato de potássio. A quantidade de nutrientes nitrato de amônio e ortofosfato de potássio adicionados foi o suficiente para manter a relação C:N:P na proporção 100:1:0,1. Para essa relação foi utilizado o valor obtido pela análise de Carbono Orgânico Total (COT) realizado.
- Moagem do solo

Os microcosmos foram misturados semanalmente a fim de suprir o oxigênio consumido durante a biodegradação. A umidade foi uniformizada para 80% da capacidade do solo e era

avaliada periodicamente. Os microcosmos foram incubados a uma temperatura de 15°C no escuro. A **Tabela 6** apresenta os tratamentos investigados para melhoria de biodegradação.

Tabela 6: Tratamentos investigados para melhoria do processo de biodegradação por Jiang et al., 2016.

Tipo de tratamento	Composição	Frequência/ Quantidade	Tempo de tratamento (d)
Bioestimulação	NH ₄ NO ₃ + KH ₂ PO ₄	Não informado	112
Moagem do solo + Bioestimulação	NH ₄ NO ₃ + KH ₂ PO ₄	Não informado	112
Bioaugmentação+ Bioestimulação	NH ₄ NO ₃ + KH ₂ PO ₄ <i>Pseudomonas sp e</i> <i>Klebsiella SP</i> (5x10 ⁷ CFU g ⁻¹ solo)	Não informado	112

6.2 Configurações das biopilhas de Oualha et al., 2019

Oualha et al., 2019 avaliaram 27 biopilhas, em triplicata, de 0,685 kg de solo contaminado por óleo diesel intemperizado em uma área reservada para despejo de solo contaminado por óleo em Ducham, Catar. A área da coleta de solo era um local para destinação de solo contaminado por óleo diesel. O solo ficou exposto ao processo de atenuação natural por 3 anos. Oualha et al., 2019 avaliaram quatro diferentes proporções de C:N:P (100:10:1, 100:5:1, 100:5:0,5 e 100:0,23:0, no qual foram avaliados 2 tipos de fontes de nitrogênio, uréia e nitrato de amônio, contendo 46 e 34 % m/m de nitrogênio. Fonte de fósforo utilizado foi o fosfato de potássio (22 % m/m). O conteúdo de água em todas as biopilhas foi ajustado para 10% (m/m). Quando aplicado surfactante, foi adicionado 0,4 ml, 0,8 ml, e 1,1 ml, de Tween 80, representando uma concentração de 0,06% (v/m), 0,12% (v/m) ou 0,16 % (v/m). A bioaugmentação foi investigada através da inoculação com a bactéria isolada *B. sonorensis D1*. As cepas de *B. sonorensis D1* foram isoladas a partir de um solo contaminados e foram cultivadas em meio líquido LB (triptona=10 g; extrato de levedura=5 g; NaCl=5 g por litro de água destilada).

A **Tabela 7** apresenta os tratamentos investigados para melhoria de biodegradação.

Tabela 7: Tratamentos investigados para melhoria do processo de biodegradação por Oualha et al., 2019.

Tipo de tratamento	Composição	Frequência/ Quantidade	Tempo de tratamento (d)
C:N:P	100:10:1, 100:5:1, 100:5:0,5 e 100:0,23:0	Não informado	160
Tween 80	0,06% (v/m), 0,12% (v/m) ou 0,16 % (v/m).	Não informado	160
Bactéria isolada <i>B. sonorensis</i> D1	<i>Bacillus sonorensis</i> D1 adapataada	Não informado	160

6.3 Configurações das biopilhas de Liu et al., 2021

Liu et al., 2021 construíram 05 (cinco) biopilhas de volume igual a 5 m³, a fim de investigar diferentes técnicas que possa proporcionar uma melhoria no processo de biodegradação de solo contaminados por hidrocarbonetos intemperizados. O solo contaminado foi obtido de uma fazenda situada na cidade de Taiwan que armazenava combustíveis de aeronaves, óleo diesel e óleos lubrificantes. Em 1989, foi descoberto um vazamento em um tanque de óleo diesel que resultou na contaminação do solo naquele local.

Liu et al., 2021 testaram a adição de farelo de trigo vermelho (RB- sigla do inglês *Red Bran*), água enriquecida com o oxigênio (OW- sigla em inglês de *Oxygenated Water*), fertilizantes (WF- sigla em inglês de *Water soluble fertilizer*), bactéria degradadora de TPH (TDB- sigla em inglês de *TPH-degrading bactéria*) e uma mistura de todos esses ingredientes (MIX- sigla em inglês de *mixed supplement*). As dosagens e a frequência de aplicação são apresentadas pela **Tabela 8**.

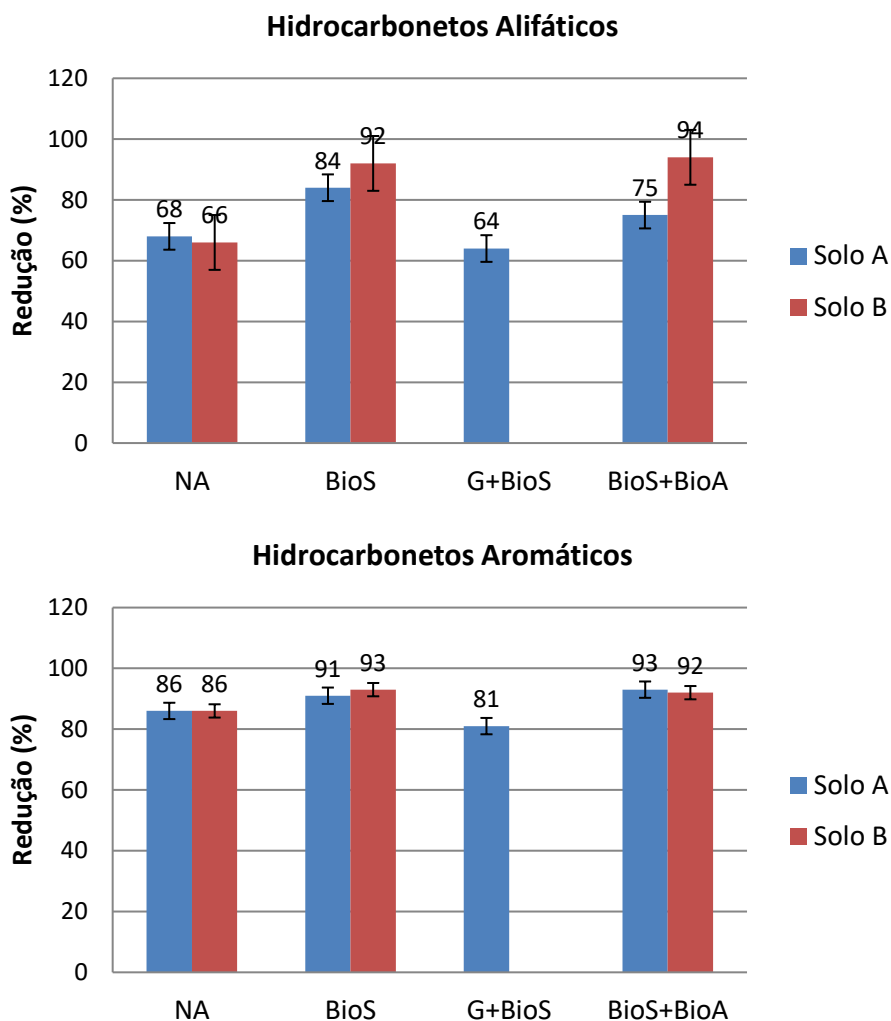
Tabela 8: Técnicas testadas para melhorar a eficiência do tratamento de solo contaminado por óleo diesel intemperizado por biopilhas.

Tipo de tratamento	Composição	Quantidade/Frequência	Tempo de tratamento (d)
Farelo de trigo vermelho (RB-sigla do inglês <i>Red Bran</i>)	Subproduto processamento de trigo: 15% de proteína, 4,3 % de óleo e 13,3% de umidade	12 kg/semana	24
Água pressurizada com oxigênio puro (OW)	O ₂ dissolvido =25mg/L	20 L/dia	24
Bactéria Degradadora de TPH (TDB)	<i>Acinetobacter</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Acidovorax</i> , <i>Delftia</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Novosphingobium</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Rhodobacter</i> - composição total de 10 ⁷ CFU/mL 5% de Nitrogênio total, 1,2 % de nitrogênio amoniacal, 5% de fósforo total, 5% de potássio total, 4,8 % de potássio solúvel em água e 1% de óxido de magnésio	20 L/semana	24
Fertilizantes solúveis em Água (WF)		20L (0,5% m/m)/semana	24
Mix	Mistura de TDB, WF, OW e RB	12 kg RB/semana 20 L WF/semana 20L de OW/dia 20 L TDB/semana	24

6.4 Análise das técnicas de melhoramento da biodegradação

De acordo com o estudo de Jiang et al., 2016 os tratamentos em que foram usadas técnicas de bioestimulação em conjunto com bioaumentação foi o que apresentou melhores resultados tanto para hidrocarbonetos aromáticos quanto alifáticos. Na **Figura 11** é apresentada a eficiência de remoção da fração de hidrocarbonetos aromáticos e alifáticos em cada tipo de solo submetido às diferentes técnicas de tratamento.

Figura 11: Eficiência de remoção de hidrocarbonetos de petróleo no Solo A e Solo Bem 4 tratamentos: nenhum, biodegradação por atenuação natural (NA), por bioestimulação adicionando $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{KH}_2\text{PO}_4$ (BioS), moagem e bioestimulação (G+BioS), Bioaumentação e Bioestimulação (BioS+BioA)



Fonte: Jiang et al., 2016

De acordo com Jiang et al., 2016, em todas as técnicas de tratamento a fração de hidrocarbonetos alifáticos no solo A foi o que apresentou maior resistência à biodegradação. Quando nenhuma técnica é aplicada (grupo denominado de atenuação natural-NA), a fração de hidrocarbonetos alifáticos, tanto no solo A quanto no solo B, apresentou menor eficiência de remoção por biodegradação. Além disso, embora o solo tratado por bioaumentação e bioestimulação tenha apresentado os melhores resultados de remoção de TPH, a bioestimulação parece ser a chave para remoção de hidrocarbonetos de petróleo intemperizados, uma vez que os solos tratados somente por bioestimulação apresentaram resultados similares.

Ainda no estudo realizado por Jiang et al., 2016, é interessante notar que a moagem do solo diminuiu a degradação dos hidrocarbonetos em até 20% para a fração de hidrocarbonetos aromáticos. Conforme mencionado anteriormente, solos pouco permeáveis podem desfavorecer

o processo de biorremediação pela baixa capacidade de transferência de nutrientes, umidade e oxigênio. A fim de melhorar esse aspecto, podem-se adicionar materiais estruturantes ou submeter o solo a ser tratado ao processo de moagem (SEABRA, 2005; *U.S. Environmental Protection Agency*, 1995). Por isso, o resultado obtido por esse estudo não era o esperado. A suposição citada pelos autores para esse resultado foi a possibilidade de que a trituração do solo possa proporcionar uma perturbação nas bactérias endógenas. Contudo, deve-se investigar os motivos para que afirmações mais contundentes sejam realizadas.

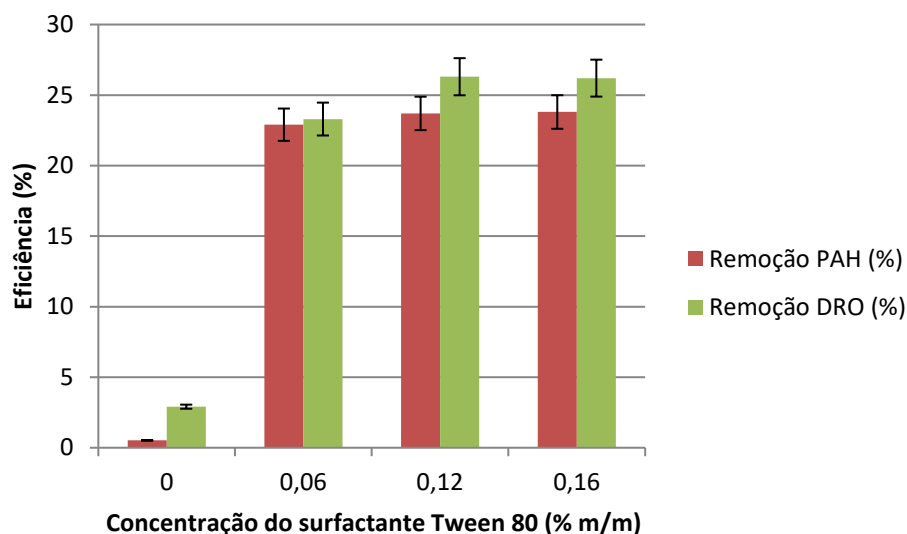
Oualha et al., 2019 determinaram a proporção ótima de C:N:P, a temperatura e umidade para o crescimento da bactéria *B. sonorensis* D1. De acordo com eles, as condições ideais são:

- Relação C:N:P igual a 100:10:1
- Temperatura igual a 37°C
- Umidade de 10 %

É importante mencionar que, de acordo com Oualha et al., 2019, a fonte de nitrogênio e carbono influenciaram na eficiência de remoção dos hidrocarbonetos de petróleo. Quando utilizado o nitrato de amônio (NH_4NO_3) e fosfato de potássio (KH_2PO_4) as biopilhas apresentaram eficiência na remoção do TPH e crescimento das bactérias. No entanto, as biopilhas em que foi aplicada a uréia como fonte de C e N, não foi observado a remoção dos contaminantes.

Oualha et al., 2019 também verificaram que a adição de surfactante proporcionou, em todas as concentrações, o aumento da quantidade da bactéria *B. sonorensis* D1. A Figura 12 apresenta o gráfico com os resultados obtidos de eficiência de remoção da fração orgânica de óleo diesel (DRO- sigla em inglês de *Diesel Range Organic*) e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH- sigla em inglês de *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*) aplicando diferentes concentrações de surfactante *tween* 80. Para esse experimento foram aplicadas as condições ótimas supracitadas.

Figura 12: Eficiência de remoção de DRO (fração orgânica do óleo diesel) e PAH (hidrocarbonetos aromáticos policíclicos) aplicando diferentes concentrações de surfactante.

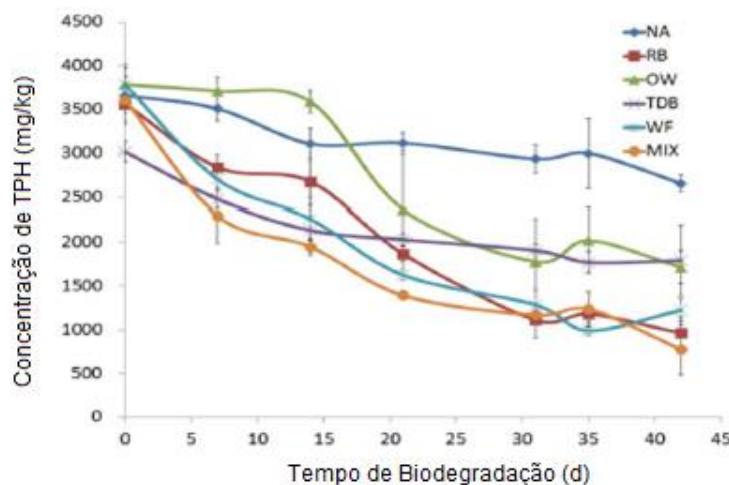


Pode ser observado pela **Figura 12** que a adição do surfactante aumentou significativamente a eficiência de remoção do DRO e PAH do solo analisado. Sendo a concentração ótima de surfactante a ser aplicado igual a 0,06% (m/m).

Além disso, Oualha et al., 2019 afirmaram que a eficiência de remoção do DRO (sigla em inglês de *Diesel Rate Organic*) e TPH aumentou quando a bioaugmentação e bioestimulação foram utilizadas conjuntamente.

Como mencionado anteriormente, Liu et al., 2021 testaram a adição de farelo de trigo vermelho (RB- sigla do inglês *Red Bran*), água enriquecida com o oxigênio, fertilizantes, bactéria degradadora de TPH e uma mistura de todos esses ingredientes. A adição de RB, OW, TDB, WF e MIX proporcionaram aumento na eficiência no tratamento das biopilhas, em comparação a biopilha que não foi aplicada nenhum composto (atenuação natural–NA). Na **Figura 13** é apresentado o comportamento da concentração do TPH ao longo do período do experimento para cada um dos tipos de tratamento aplicados às biopilhas como forma de melhorar o tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo intemperizados por meio do processo de biorremediação.

Figura 13: Degradação do TPH ao longo do experimento pra as diferentes técnicas para melhoria do processo de biorremediação: NA- atenuação natural (controle), RB- farelo de trigo vermelho, OW-água enriquecida com oxigênio, TDB- bactéria degradadora de hidrocarbonetos, WF-fertilizantes, MIX= todas as adições anteriores



Fonte: Liu, 2021

Conforme observado por meio da **Figura 13**, entre as técnicas utilizadas para melhorar a eficiência de remoção de TPH, a aplicação do mix de suplementos, farelo de trigo vermelho (RB) e fertilizantes solúveis em água (WF) foram os aditivos que apresentaram melhores resultados: 79, 73 e 68 % de eficiência de remoção de TPH, respectivamente. O tratamento com fertilizantes solúveis em água (WF) e farelo de trigo vermelho RB forneceu nutrientes importantes que proporcionam um aumento do crescimento bacteriano e consequentemente melhoram a biodegradação do TPH. O farelo de trigo vermelho (RB) pode ser usado como uma fonte de nutrientes fornecida gradativamente (solubilização lenta), e, portanto não é necessário fornecer com frequência os nutrientes necessários para que ocorra a biodegradação. Além disso, a adição do farelo de trigo vermelho (RB) pode também atuar como agentes de volume, e dessa forma melhorar a permeabilidade, aumentar a capacidade de reter umidade e aumentar a oxigenação do solo.

É interessante notar que a adição de bactérias (tratamento TDB) melhorou a eficiência de remoção do TPH em relação à biopilha que não recebeu nenhuma adição de suplementos. No entanto, a adição de suplementos como o farelo de trigo vermelho (RB) e fertilizantes solúveis em água (WF) promoveram uma maior eficiência de remoção de TPH. Isso indica que a adição de nutrientes para estimular e promover o crescimento das bactérias nativas pode ser a melhor técnica para o tratamento de biopilhas contaminadas com óleo diesel intemperizado.

7. CONCLUSÕES

A partir dos estudos mencionados pode-se concluir que:

- A adição de nutrientes tem um papel importante como alternativa de melhoria da remediação de óleo diesel intemperizado.
- Somente a adição de bactérias especializada na degradação de hidrocarbonetos não é suficiente para aumentar a degradação desses compostos. Essa técnica deve ser usada conjuntamente com a bioestimulação.
- Surfactantes contribuem para a melhoria do desempenho do processo de biorremediação em biopilhas
- Nitrato de Amônio (NH_4NO_3) e Fosfato de Potássio (KH_2PO_4) são indicados como fontes de nitrogênio e fósforo, respectivamente, para suprir os nutrientes em biopilhas.
- A uréia não apresentou ser uma fonte de carbono e nitrogênio eficiente para acelerar o processo de biorremediação.
- A moagem do solo não apresentou melhoria no processo de biorremediação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROWN, D. M., et al. Heavy hydrocarbon fate and transport in the environment. **Quarterly Journal of Engineering Geology and Hydrogeology**, v.50, p. 333-346, 2017,doi: 10.1144/qjegh2016-142
- CHAGAS-SPINELLI, C. O. Biorremediação de solo argiloso contaminado por hidrocarbonetos poliaromáticos provenientes de derrame de óleo diesel. 2007. **Tese (Doutorado)**. Programa de Pós-Graduação em Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007
- U.S. Environmental Protection Agency, How to evaluate alternative cleanup technologies for underground storage tank site. Biopiles, **EPA-510-B-95-007**, Washington, D.C., 1995.
- EUROFINS https://www.abes-rs.org.br/novo/_materiais/materiais_ycxlheqmb08f.pdf
Acessado em 10/12/2021
- FRTR- Federal Remediation Technologies Roundtable. Landfarming- acessado em 06/12/2021 : <https://frtr.gov/matrix/Landfarming/>
- JEON, S. et al. Identification of weathered multiple petroleum products in contaminated soils by characterizing unresolved complex mixture hump in gas chromatograph data. **Science of the Total Environment**. v.607-608, p.42-52, 2017.
- JIANG, et al. Insights the biodegradation of weathered hydrocarbons in contaminated soils by bioaugmentation and nutrient stimulation. **Chemosphere**. v.161, p.300-3007, 2016
- KHAN, M. A. I., et al. Toxicity assessment of fresh and weathered petroleum hydrocarbons in contaminated soil- a review. **Chemosphere**, v. 212, p. 755-767, 2018.
- KONING et al. Optimization of the Biological Treatment of TPH-Contaminated Soils in Biopiles. In: bioreactor and Ex Situ Biological Treatment Technologies [5th Battelle Memorial In Situ On-Site Bioremediation. International Symp. San Diego, USA, April 19-22 1999], vol.5, PP. 43-49. Battelle Press, Columbus, Ohio.
- LEE, et al. Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons from diesel fuel into water. **Environmental Science & Technology**, v. 26(11), p.2104-2110,1992.
- LIU, P., et al. Remediação of weathered diesel-oil contaminated soils using biopile systems: Na amendment selection and pilot-scale study. **Science of the Total Environment**, v.786, 2021. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.147395
- MARGOT, et al. A review of the fate of micropollutants in wastewater treatment plants. **Wires Water**, v. 2, p. 457-487, 2005
- MARIANO, A.P., et al. Biodegradability of commercial and weathered diesel oils. **Journal of Microbiology**, v. 39, p.133-142, 2008
- MALETIC, et al. Characterisation of weathered petroleum hydrocarbons during a landfarming bioremediation study. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v.77, p.1671-1685, 2012
- MORAES, Sandra Lucia de org.; TEIXEIRA, Cláudia Echevengua org.; MAXIMINIANO, Alexandre Magno de Sousa org . **Guia de elaboração de planos de intervenção para o**

gerenciamento de áreas contaminadas. São Paulo : IPT, 2013. 395p.: 2e. (IPT Publicação 4372)

OUALHA, *et al.* Identification and overcome of limitations of weathered oil hydrocarbons bioremediation by an adapted *Bacillus sorenensis* strain. **Journal of Environmental Management**, v. 250, p.109455, 2019

SEABRA, P.N.C. Aplicação de biopilha na biorremediação de solos argilosos contaminados com petróleo, **Tese de Doutorado**, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005

TRINDADE, et al., Bioremediation of weathered and a recently oil-contaminated soils from Brazil: a comparison study. **Chemosphere**, v.58, p.515-522, 2005