

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

**Biorremediação de solo impactado com óleo cru:
avaliação da potencialidade da utilização de surfatantes**

PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA

Luiz Inácio Lula da Silva

José Alencar Gomes da Silva

Vice-Presidente

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Sérgio Machado Rezende

Ministro da Ciência e Tecnologia

Luiz Antonio Rodrigues Elias

Secretário-Executivo

Luiz Fernando Schettino

Secretário de Coordenação das Unidades de Pesquisa

CETEM – CENTRO DE TECNOLOGIA MINERAL

Adão Benvindo da Luz

Diretor do CETEM

Antônio Rodrigues Campos

Coordenador de Apoio à Micro e Pequena Empresa

Arnaldo Alcover Neto

Coordenador de Análises Minerais

João Alves Sampaio

Coordenador de Processos Minerais

José da Silva Pessanha

Coordenador de Administração

Ronaldo Luiz Correa dos Santos

Coordenador de Processos Metalúrgicos e Ambientais

Zuleica Carmen Castilhos

Coordenadora de Planejamento, Acompanhamento e Avaliação

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

ISSN 0103-7374

ISBN 978-85-61121-42-6

STA - 50

Biorremediação de solo impactado com óleo cru: avaliação da potencialidade da utilização de surfatantes

Valéria Souza Millioli

Engenheira Química, M.Sc., Bolsista ANP; CETEM;
Escola de Química - UFRJ

Luis Gonzaga Santos Sobral

Engenheiro Químico, Ph.D., Pesquisador Titular do
CETEM/MCT

Eliana Flávia Camponese Sérvulo

Engenheira Química, D.Sc., Professora Adjunta II da
Escola de Química - UFRJ

Denize Dias de Carvalho

Engenheira Química, D.Sc., Professora Adjunta II da
Escola de Química - UFRJ

CETEM/MCT

2008

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

Luis Gonzaga Santos Sobral

Editor

Andréa Camardella de Lima Rizzo

Subeditora

CONSELHO EDITORIAL

Marisa Bezerra de M. Monte (CETEM), Paulo Sergio Moreira Soares (CETEM), Saulo Rodrigues P. Filho (CETEM), Sílvia Gonçalves Egler (CETEM), Vicente Paulo de Souza (CETEM), Antonio Carlos Augusto da Costa (UERJ), Fátima Maria Zanon Zotin (UERJ), Jorge Rubio (UFRGS), José Ribeiro Aires (CENPES), Luis Enrique Sánches (EPUSP), Virginia Sampaio Ciminelli (UFMG).

A Série Tecnologia Ambiental divulga trabalhos relacionados ao setor mineiro-metalúrgico, nas áreas de tratamento e recuperação ambiental, que tenham sido desenvolvidos, ao menos em parte, no CETEM.

O conteúdo desse trabalho é de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es).

Thatyana Pimentel Rodrigo de Freitas

Coordenação Editorial

Vera Lúcia Espírito Santo Souza

Programação Visual

Mônica Regina de A. Lima

Editoração Eletrônica

Biorremediação de solo impactado com óleo cru: avaliação da potencialidade da utilização surfatantes / Valéria Souza Millioi et al. – Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2008.

95p. (Série Tecnologia Ambiental, 50)

1. Biorremediação. 2. Solo contaminado. 3. Óleo cru. 4. Surfatantes. I. Centro de Tecnologia Mineral. II. Millioi, Valéria Souza. III. Sobral, Luis Gonzaga Santos. IV. Sérvulo, Eliana Flávia Camponese. V. Carvalho, Denize Dias. VI. Série.

CDD – 661.81

SUMÁRIO

RESUMO _____	7
ABSTRACT _____	8
1 INTRODUÇÃO _____	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA _____	11
2.1 Petróleo e seus derivados _____	11
2.2 Solo _____	13
2.3 Poluição causada pelo óleo cru em solo _____	26
2.4 Sistemas de tratamento de áreas impactadas com hidrocarbonetos de petróleo _____	31
2.5 Surfactantes químicos e biológicos _____	46
2.6 Ecotoxicidade _____	67
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS _____	74
4 AGRADECIMENTOS _____	75
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____	76

RESUMO

A poluição causada pelo petróleo e seus derivados vem causando grandes problemas ambientais e ganhando atenção dos ambientalistas ultimamente. O derrame do petróleo no meio ambiente pode causar grandes problemas quando da contaminação do solo. Há várias tecnologias para tratar o solo com as técnicas, químicas, físicas e as biológicas; entretanto, as técnicas biológicas, como a biorremediação, são consideradas de baixo custo e eficazes para redução do petróleo no solo. Porém, alguns fatores podem limitar a ação dos microrganismos para que esses sejam capazes de reduzir esse passivo ambiental, como alto peso molecular, forte adsorção e baixa solubilidade desses contaminantes. Contudo, a adição de surfatantes pode amenizar esses problemas aumentando a efetividade do processo de biorremediação e, dessa forma, a taxa de biodegradabilidade do óleo no solo. Entretanto, alguns fatores precisam ser investigados para se melhorar a utilização dos surfatantes como auxiliares na técnica de biorremediação. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi descrever algumas contribuições técnicas nos últimos anos em que se tem utilizado surfatante como auxiliares na biorremediação, além de uma revisão bibliográfica sobre solo, petróleo, surfatantes e suas utilizações, bem como alguns testes eco toxicológicos que podem ser utilizados para avaliar o comportamento dos surfatantes quando adicionados ao solo.

Palavras-chave

Petróleo, biorremediação, surfatantes

ABSTRACT

Pollution caused by petroleum and its derivatives are the most prevalent problems in the environment. The release of crude oil into the environment by oil spill is gaining attention in the world and many accidents cause soil pollution and for this reason, many techniques have been developed to cleaning up the petroleum bearing soil and it knows that biological treatments are more efficient and cheaper than chemical and physical ones. Regarding these biological treatments, the bioremediation technology is being used for degrading crude oil in soil matrix by using microorganisms to transform the petroleum hydrocarbons into less toxic compounds. However, the low solubility and adsorption are two major properties of high molecular weight hydrocarbons that limit their availability to microorganisms. Thus, the addition of surfactants enhances the solubility and removal of those contaminants, improving the oil biodegradation rates. Surfactants are widely used in household, industrial products and lately in bioremediation and, however, the behavior and fate of the surfactant as auxiliary of bioremediation can be investigated. Therefore, the aim of this work was to investigate some works that use surfactant as auxiliary to petroleum bearing soil bioremediation technologies and some reviews of soil, petroleum, surfactants and their applicability, as well as some toxicological methods that can be used to investigate the fates and the behavior of the addition of surfactant into the soil matrix.

Keywords

Petroleum, bioremediation, surfactants

1 | INTRODUÇÃO

O petróleo é produzido desigualmente pelo mundo sendo transportado através dos oceanos e oleodutos e, em função dessa grande movimentação, há riscos de contaminação tanto no solo quanto no mar, causando danos ao meio ambiente. Diversas técnicas físicas, químicas e biológicas vêm sendo desenvolvidas para a remoção de petróleo derramado ou para a redução dos seus impactos sobre o meio ambiente. Dentre as tecnologias desenvolvidas, destaca-se a biorremediação que se baseia na propriedade que os microrganismos têm de metabolizar os hidrocarbonetos e outros compostos encontrados no óleo cru que representam uma fonte de energia para as bactérias. Quando as bactérias consomem o óleo, convertem-no em produtos mais solúveis, formando, quando a conversão é completa, CO_2 e H_2O .

A biorremediação vem sendo apontada como uma técnica que consegue eliminar ou reduzir efeitos adversos dos hidrocarbonetos sobre o meio ambiente, sendo que a biodegradação dos hidrocarbonetos no solo ocorre num sistema multifásico, envolvendo gases (O_2/CO_2), material orgânico insolúvel em água, sais dissolvidos e microrganismos. A fração orgânica do solo é responsável pela sorção de muitos compostos como, particularmente, os hidrofóbicos e quanto maior a fração orgânica maior o número de moléculas sorvidas e quanto maior o tempo de exposição desses contaminantes no solo, maior a sorção e menor disponibilidade e a biodegradação destes compostos hidrofóbicos. Destaca-se ainda, que a sorção destes contaminantes no solo é ainda mais acentuada em solos com alto teor de argila.

Entretanto, há uma possibilidade de se aumentar a disponibilidade destes hidrocarbonetos para que se possa configurar a ação microbiana quando são utilizados surfatantes sintéticos e/ou biológicos. Os efeitos positivos mais conhecidos do uso de surfatantes e/ou biossurfatantes, visando o aumento da biodegradação são: aumento da solubilidade dos hidrocarbonetos; dessorção dos hidrocarbonetos sorvidos no solo e a difusão facilitada dos hidrocarbonetos da fase sólida para a fase líquida, aumentando, assim, a disponibilidade do óleo para ação dos microrganismos.

Diante do exposto, acredita-se que a adição de determinadas concentrações de surfatantes são necessárias para dessorver os hidrocarbonetos do solo e disponibilizá-los para ação dos microrganismos. Dessa forma, faz-se, portanto, indispensável um estudo mais aprofundado da aplicabilidade destas substâncias para fins de estímulo a biorremediação, visando o estudo da toxicidade, melhor época de aplicação (se imediatamente após um derrame ou não), concentração ótima e forma de aplicação, tendo como objetivo principal baixo custo e impacto ambiental.

2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 | Petróleo e seus derivados

O elemento mais importante e fundamental para a ocorrência de petróleo em quantidades significativas em uma bacia sedimentar, em algum tempo geológico passado ou presente, é a existência de grandes volumes de matéria orgânica de qualidade adequada acumulada quando da deposição de certas rochas sedimentares que são denominadas de geradoras. São estas rochas que, submetidas a adequadas temperaturas e pressões, geraram o petróleo em subsuperfície. Se este elemento faltar em uma bacia, a natureza não terá meios de substituí-la, ao contrário dos outros cinco elementos constituintes do sistema petrolífero, que mesmo estando ausentes, podem ser de alguma forma compensados por condições de exceções geológicas ou por algumas coincidências adequadas. Rochas geradoras são normalmente constituídas de material detrítico de granulometria muito fina (fração argila). A princípio, quanto maior a quantidade de matéria orgânica, mais capacidade terá a rocha para gerar grandes quantidades de petróleo. Entretanto, a incorporação desta matéria orgânica na rocha deve vir acompanhada da preservação de seu conteúdo original, rico em compostos de C e H. Para isto, o ambiente deve estar livre de oxigênio, elemento altamente oxidante e destruidor da riqueza em C e H das partículas orgânicas originais. Ou seja, ambientes anóxicos favorecem a preservação da matéria orgânica e, conseqüentemente, a manutenção da riqueza original de rochas geradoras (MILANI *et al.*, 2000).

O petróleo pode ser definido como um líquido viscoso, em geral de coloração escura, que ocorre naturalmente, cuja composi-

ção química varia de lugar para lugar. Em geral, contém compostos de enxofre, oxigênio, nitrogênio, metais e outros elementos. É formado por uma mistura de diferentes hidrocarbonetos com diferentes pontos de ebulição, sendo matéria-prima de grande importância para a economia. Tais hidrocarbonetos consistem em três grandes grupos de compostos que são: alcanos (parafinas), alquenos (olefinas) e os aromáticos. As parafinas são os maiores constituintes do petróleo, havendo três grandes classes de parafinas: a linear, a ramificada e os naftênicos (CARRARO, 1977; NEIVA, 1986; BURGER, 1997). Os hidrocarbonetos compostos de hidrogênio e carbono representam cerca de 90% dos óleos crus e dependendo da sua densidade (“gravity”), os óleos são classificados pelo *American Petroleum Institute* (API) em vários graus, sendo que quanto maior o grau, melhor e mais leve é o petróleo. Todavia, alguns fatores podem afetar o grau. API dos óleos como a idade geológica, a profundidade do reservatório, o tectonismos, a salinidade e o teor de enxofre (CORREA, 2003).

O petróleo, como a maioria dos recursos naturais, encontra-se distribuído de forma muito irregular na crosta terrestre. Devido à sua complexidade de formação, o petróleo é considerado um bem precioso e necessário para a humanidade, sendo transportado para diversos países no mundo para subsistência dos mesmos. Os derivados de petróleo são obtidos a partir da destilação do óleo cru, onde as frações são submetidas a complexos tratamentos para que sejam convertidas nos produtos finais desejados, tais como: a) produtos de baixo peso molecular - gasolina (contendo em média 50-70% (p/p) de hidrocarbonetos alifáticos, 25-45% (p/p) de aromáticos e até 20% (p/p) de olefinas), combustíveis de aviação e óleo diesel; b) produtos de alto peso molecular - óleos lubrificantes e outros combustíveis;

c) produtos de altíssimo peso molecular - asfaltenos e piches O óleo cru e o gás natural são encontrados em quantidades comerciais em reservas sedimentares situadas em mais de 50 países de todos os continentes; sendo que as maiores jazidas se encontram no Oriente Médio, onde se concentram mais da metade das reservas conhecidas de óleo cru e quase um terço das reservas conhecidas de gás natural (CRAVO JR., 1998; *apud* BAPTISTA, 2007). A Tabela 1 mostra alguns derivados do petróleo e suas utilizações.

Tabela 1. Principais frações do petróleo e suas aplicações.

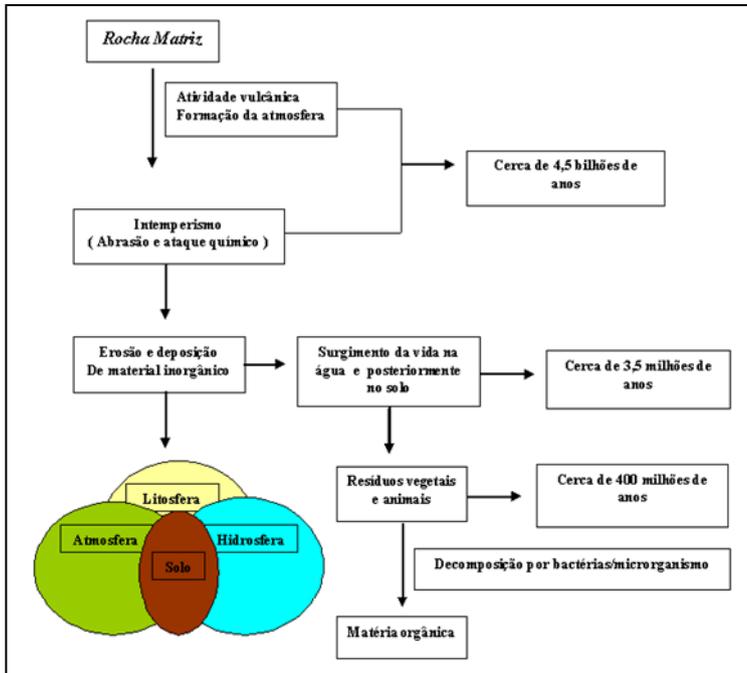
Frações	Composição aproximada	Ponto de ebulição	Principal aplicação
Gás	C ₁ -C ₄	Abaixo de 20 °C	Combustível e Matéria-prima industrial
Gasolina	C ₅ -C ₁₂	40 a 200 °C	Solventes, Combustível, Matéria-prima industrial
Querosene	C ₁₂ -C ₆	175 a 275 °C	
Óleo Diesel	C ₁₅ -C ₁₈	250 a 400 °C	
Óleo lubrificante e parafinas	Acima de C ₁₇	Acima de 300 °C	Óleos e graxas para lubrificantes
Resíduo	Acima de C ₃₀	—	Piche, asfalto

Fonte: Peruzzo e Canto, 1996.

2.2 | Solo

O solo é uma mistura de compostos minerais e orgânicos, formado pela ação de agentes físicos, químicos e biológicos. A ação desses agentes, forma nos solos faixas horizontais, de-

nominadas de horizontes os quais lhes dão características próprias. Pode ser representado como um ciclo natural em que participam fragmentos de rochas, minerais, água, ar, seres vivos e seus detritos em decomposição e ainda é considerado resultado das interações da litosfera, hidrosfera, atmosfera e biosfera. Os principais processos que levam à sua formação são apresentados na Figura 1 (LUCHESE *et al.*, 2001; BRAGA *et al.*, 2002; ROCHA *et al.*, 2004).



Fonte: Rocha *et al.*, 2004.

Figura 1. Processo de formação do solo.

2.2.1 | Características físico-químicas do solo

Fase sólida

A fase sólida compreende uma fração mineral proveniente da decomposição da rocha-mãe pela meteorização, ou seja, transformação das rochas em solo sob a ação dos fenômenos climáticos e biológicos. A outra fração é a orgânica proveniente da decomposição de restos de organismos vivos, sendo que o material orgânico de fácil decomposição é transformado em gás carbônico, água e sais minerais (LUCHESE *et al.*, 2001; ROCHA *et al.*, 2004).

a) Fração mineral

As partículas sólidas minerais do solo são divididas basicamente em três frações texturais que são: argila, silte e areia. A classificação do solo é uma proporção relativa de diferentes tamanhos de partículas conforme mostrado na Tabela 2.

Tabela 2. Relação entre o tamanho da partícula e o tipo de solo.

Tipo de solo	Tamanho da partícula (mm)	Meios de observação
Arenoso	2,00 – 0,05	Olhos nus
Silte	0,05 – 0,002	Microscópio
Argiloso	< 0,002	Microscópio eletrônico

Fonte: Prevedello, 1996.

b) Textura e estrutura do solo

Num solo, geralmente convivem partículas de tamanhos diversos. Denominações específicas são adotadas para diversas faixas de tamanhos de grãos; seus limites, entretanto, variam conforme os sistemas de classificação empregados pela ABNT. O conjunto de silte e argila é denominado como a fração de finos do solo, enquanto o conjunto areia e pedregulho são denominados de fração grossa ou grosseira do solo. A fração argila é considerada, com frequência, como a fração abaixo do diâmetro de 0,002 mm, que corresponde ao tamanho mais próximo das partículas de constituição mineralógica dos minerais-argila (PINTO, 2002).

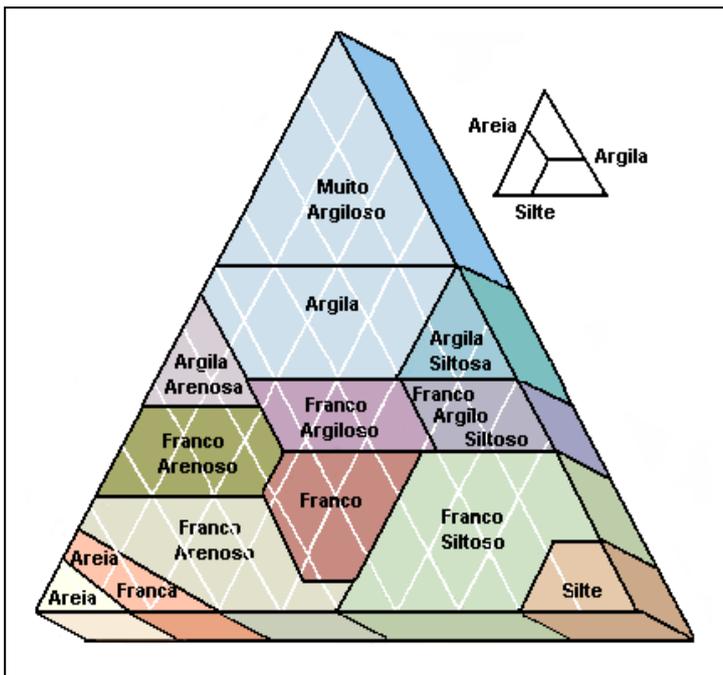
A textura, que constitui a fase mineral sólida do solo, que como já dito anteriormente, depende das proporções de argila, silte e areia, tem sido utilizada como sinônimo de granulometria. Segundo Prado (1995), o solo possui textura arenosa quando o teor de argila + silte for menor ou igual a 15%, textura média se o teor de argila + silte for maior ou igual a 15% e também se o teor de argila não superar 35%, textura argilosa se o teor de argila estiver entre 35 e 60% e, finalmente, textura muito argilosa se o teor de argila for superior a 60%.

É por meio da análise granulométrica que se determinam à textura dos solos, parâmetro fundamental na inferência do potencial de compactação, da disponibilidade de água, da aeração, da condutividade do solo ao ar, à água e ao calor, da infiltração e da redistribuição de água (PREVEDELLO, 1996).

A classificação granulométrica de solos em função da textura pode ser feita usando o diagrama triangular de Feret.

Entretanto, como existem várias versões do triângulo de Feret, deve ser informada qual versão do diagrama foi utilizado na classificação.

No diagrama de Feret (Figura 2), apresentado por Resende *et al.* (2002), o solo é dividido em três classes texturais, isto é, areia, argila e silte. A soma das porcentagens destas três frações é 100%, e conduzem a um ponto no interior do triângulo. Este ponto é localizado em áreas, nas quais o triângulo é dividido, e que fornece a classificação do solo.



Fonte: Resende *et al.*, 2002.

Figura 2. Diagrama de textura adotado pela Sociedade Brasileira de Ciências do Solo.

c) Matéria Orgânica

A matéria orgânica (MO) é proveniente da degradação parcial de resíduos de animais e vegetais por via microbiana, sendo que a população microbiana presente no solo produz enzimas tais como amilases, desaminases, fosfatases e sulfatases, responsáveis pela liberação de carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre, respectivamente, a partir de moléculas orgânicas (DRAGUN, 1998; LUCHECE *et al.*, 2001). A Tabela 3 apresenta algumas constituições da MO no solo.

Tabela 3. Constituição da matéria orgânica do solo

Matéria orgânica do solo	
Viva: Raramente > 4% do carbono orgânico	Morta: Aproximadamente 98% do carbono orgânico
Microrganismos (60-80%)	Matéria Macrorrgânica
<ul style="list-style-type: none"> ↙ Fungos ↙ Bactérias 	
Macrorganismos (15-30%)	Húmus (80-90%)
<ul style="list-style-type: none"> ↙ Microfauna <ul style="list-style-type: none"> • Protozoários • Nematóides ↙ Mesofauna <ul style="list-style-type: none"> • Ácaros ↙ Macrofauna <ul style="list-style-type: none"> • Minhocas • Térmitas 	<ul style="list-style-type: none"> ↙ Substâncias não-húmicas (30%): <ul style="list-style-type: none"> • Lipídeos • Ácidos orgânicos • Proteínas • Pigmentos ↙ Substâncias húmicas (70%): <ul style="list-style-type: none"> • Ácidos húmicos • Ácidos fúlvicos • Huminas
Raízes (5-10%)	

Fonte: www.cnps.embrapa.br apud Baptista, 2007.

Mineralização e Humificação

Os processos de degradação da matéria orgânica são de natureza bioquímica e envolvem uma série de microrganismos. Neste processo destacam-se as bactérias, os actinomicetos e os fungos. Durante a degradação da matéria orgânica, pode-se caracterizar dois processos fundamentais que são a mineralização e a humificação (LUCHECE *et al.*, 2001).

A decomposição da matéria orgânica, através da mineralização, é um processo de degradação total, o qual pode ser resumido pela equação 1.

Matéria orgânica [C,O,H,..] + 2O_{2(g)} → CO₂ + 2H₂O + energia (equação 1)

Assim, grandes quantidades de CO₂ são liberadas em condições favoráveis, principalmente no início do processo, ou seja, quando o teor de matéria orgânica está em maior quantidade. A quantidade de CO₂ produzido pelos microrganismos, durante a metabolização da matéria orgânica, é um excelente indicativo da atividade desses nos solos, pois representa a medida exata da intensidade de mineralização em um determinado instante, ou seja, da velocidade de decomposição (LUCHECE *et al.*, 2001).

A humificação corresponde à polimerização desses compostos orgânicos formando estruturas de até 50.000 u (u=unidade de massa atômica). Os ácidos húmicos produzidos apresentam grupos de estrutura aromática complexa e variável. Após a humificação, determinados grupos presentes nos compostos formados, caracterizam a matéria orgânica do solo (LUCHECE *et al.*, 2001).

Fase líquida

No solo, a fase líquida e a gasosa disputam o mesmo espaço, que corresponde aos interstícios, ou vazios, entre as partículas do solo, constituídos pelos micro e macroporos. Portanto, as duas fases são inversamente proporcionais, se uma aumenta a outra diminui. Em condições normais, a fase líquida ocupa os microporos, e a fase gasosa os macroporos do solo.

A fase líquida do solo é constituída principalmente por água, onde estão presentes solutos provenientes da dissolução de componentes tanto da fração mineral quanto da orgânica, além do ar no solo. A água caracteriza a umidade do solo e pode conter íons dissolvidos como H_2PO_4^- , SO_4^{2-} , NO_3^- , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , H^+ , NH_4^+ , Mg^{2+} , Al^{3+} , geralmente tidos como os macronutrientes, e os íons Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , BO_3^{3-} , Cl^- , MnO_4^{2-} , considerados os micronutrientes necessários à atividade metabólica dos microrganismos (PREVEDELLO, 1999; LUCHECE *et al.*, 2001).

Fase gasosa

A presença do ar é importante, pois disponibiliza o oxigênio necessário para a respiração da biota do solo o que, conseqüentemente, favorece a mineralização da matéria orgânica nele presente. Além do O_2 e do CO_2 , outros gases como CH_4 , H_2S , SO_x NO_x e compostos voláteis (por exemplo, ácidos orgânicos de cadeias curtas, aldeídos, álcoois, ésteres e hidrocarbonetos) estão presentes no ambiente gasoso do solo, podendo servir como substrato ou como inibidores para a população microbiana. Mesmo em solos arejados, podem existir sítios anaeróbicos, que irão possibilitar a atividade das bactérias anaeróbicas (PREVEDELLO, 1999; LUCHECE *et al.*, 2001).

Como descrito anteriormente, as fases líquida e gasosa estão em proporções inversas no solo. Em consequência, no momento em que o solo apresenta sua capacidade máxima de retenção de água, o teor de ar tende a zero. Além disso, a quantidade de interstícios (macroporos), maior ou menor percentagem, depende da textura do solo. Assim sendo, um solo arenoso que apresenta maior quantidade de macroporos que um solo argiloso estará mais arejado do que o argiloso, nas mesmas condições.

2.2.2 | População microbiana no solo

Os microrganismos apresentam uma imensa diversidade genética e desempenham funções únicas e cruciais na manutenção de ecossistemas como componentes fundamentais de cadeias alimentares e ciclos biogeoquímicos. Com base nos tamanhos das populações, a biota do solo pode ser classificada como micro, meso e macrofauna. As bactérias são as mais abundantes no solo e incluem formas esporulantes ou não de bacilos, cocos, vibriões, espirilos e filamentosos (actinomicetos), variando consideravelmente de tamanho e forma, de metabolismo e de fonte nutricional, autotrófica ou heterotrófica (DRAGUN, 1998). A Tabela 4 mostra a distribuição típica da população microbiana na superfície do solo.

O interesse da utilização de microrganismos na degradação biológica do óleo e seus derivados e produtos tem aumentado nos últimos anos. Por volta de 1903, foi descoberto o primeiro organismo capaz de utilizar hidrocarbonetos como fonte de energia. Recentemente, muitas espécies de microrganismos são conhecidas na degradação biológica de hidrocarbonetos e esses microrganismos podem ser isolados de águas doces,

oceanos como também do solo. O número de bactérias e fungos que é capaz de degradar os hidrocarbonetos aumenta rapidamente no local após um derrame de óleo (MIROSLAV *et al.*, 1996).

Tabela 4. Densidade das populações microbianas presentes na superfície do solo por m².

Microorganismos	População (nº de células por g de solo)
Bactérias	108 – 109
Fungos	105 – 106
Algas	104 – 105

Fonte: Vieira, 1994 *apud* Trindade, 2002.

Baseados na descoberta de que os microrganismos endógenos podem degradar os hidrocarbonetos de petróleo, inúmeras pesquisas vêm sendo realizadas em biorremediação de solo impactado com petróleo que, dentre as tecnologias desenvolvidas, destaca-se por ser um processo atrativo e economicamente viável. Os baixos custos requeridos pelas transformações bioquímicas, capazes de reduzir e até mesmo eliminar os contaminantes, associados à possibilidade do tratamento no próprio local de contaminação são fatores que favorecem a atratividade das tecnologias de biorremediação.

A degradação de contaminantes no solo, através de processos bioquímicos, deve ser implementada somente se as condições do meio forem favoráveis. O sucesso da técnica de biorremediação depende do estabelecimento de condições que aumentem a atividade dos microrganismos, o que pode ser conseguido pelo controle dos processos interativos no ecossistema do solo (ELEKTOROWICZ, 1994).

O papel dos microrganismos no solo

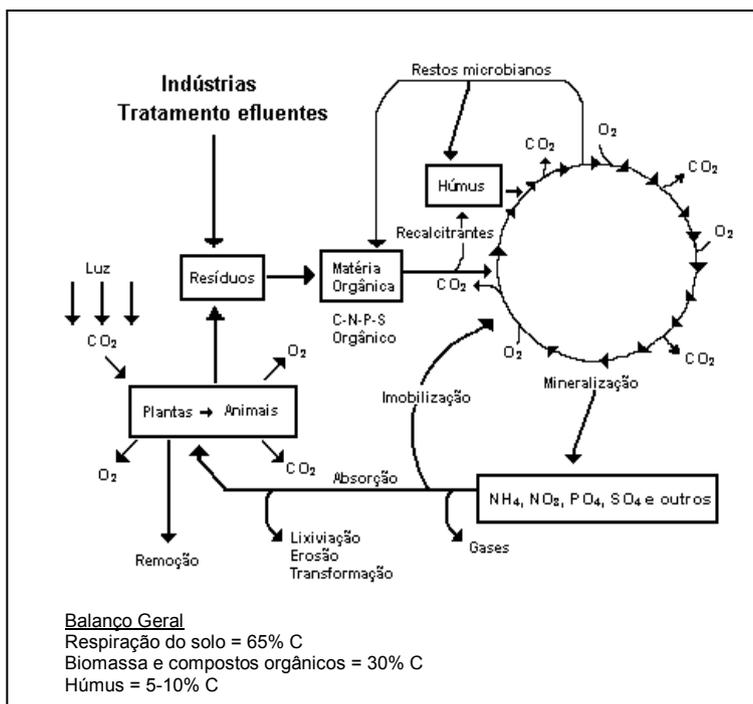
Os microrganismos são capazes de transformar compostos químicos através de um conjunto de reações químicas, denominado de metabolismo. Essas reações dependem da absorção de nutrientes e substâncias energéticas que, através de transformações metabólicas, sustentam o crescimento e a multiplicação, tornando-se substratos (predação) que serão ingeridos por outros organismos e, assim por diante, estabelecendo-se uma sucessão trófica no ecossistema. Neste contexto, considera-se o metabolismo microbiano para a atividade dos microrganismos, e metabolismo do solo em referência ao conjunto de todas as transformações biocatalisadas que nele ocorrem (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

A microbiota do solo é a principal responsável pela decomposição dos resíduos orgânicos, pela ciclagem de nutrientes e pelo fluxo de energia dentro do solo, exercendo influência tanto na transformação da matéria orgânica, quanto na estocagem do carbono e nutrientes minerais.

A biomassa microbiana é definida como a parte viva da matéria orgânica e representa de 2 a 4% do carbono total do solo, sendo o agente de transformações bioquímicas. O entendimento dos processos microbianos é importante para o conhecimento da ciclagem de nutrientes, da dinâmica da matéria orgânica, do fluxo de energia do solo, sendo estes fatores importantes para estabelecer o melhor tratamento a ser dado ao solo numa eventual contaminação (JENKINSON e LADD, 1981; ASSIS *et al.*, 2003).

A intensidade dos processos de biotransformação dos materiais orgânicos no solo depende de vários fatores, sendo a quantidade de resíduos adicionada ao solo e as condições

ambientais seus principais determinantes. De acordo com o observado na Figura 3, pode-se considerar a atividade da microbiota como um “ciclo” (respiração), cuja velocidade é função da energia disponível, ou seja, da quantidade de resíduo orgânico oxidável presente no solo.



Fonte: Moreira e Siqueira, 2002.

Figura 3. Esquema das transformações e ciclagem de C, N, P e S em sistema solo-planta através da microbiota do solo.

Quanto maior a quantidade de material orgânico adicionado ao solo, mais rapidamente o ciclo é realizado, envolvendo um maior consumo de O_2 , com liberação de CO_2 e diferentes pro-

duto metabólico, que por sua vez resultam em aumento de húmus no solo. Ao final do processo, cerca de 50-70% do carbono adicionado será metabolizado, dos quais 25-30% será incorporado em biomassa, e 5 a 10% ficará retido na fração húmica, completando o ciclo do carbono no solo (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Atividade microbiológica

As propriedades biológicas e bioquímicas do solo, tais como: atividade enzimática, taxa de respiração, diversidade da biomassa microbiana, podem ser usados como indicadores no monitoramento de alterações ambientais. Entretanto, as determinações quantitativas da biomassa no solo não fornecem indicação sobre o nível da atividade das populações microbianas nele presentes, sendo, também, importante avaliar parâmetros que estimem a atividade microbiana, tais como: o carbono prontamente mineralizável e a atividade enzimática, para verificar o estado metabólico das comunidades de microrganismos do solo (MATSUOKA *et al.*, 2003).

A atividade biológica pode ser definida como toda reação bioquímica catalisada pelos organismos do solo. As atividades microbianas podem ser divididas em dois tipos: gerais e específicas. As atividades gerais são aquelas provenientes de todos ou quase todos os microrganismos do solo, como a respiração e a geração de calor, apresentando valores representativos como índice de atividade total do solo. As atividades específicas são medidas para grupos microbianos específicos, como os fixadores de nitrogênio e os nitrificadores, entre outros (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

a) Respiração

A respiração representa a oxidação total da matéria orgânica por microrganismos aeróbios do solo a CO_2 , que, para tanto, utilizam O_2 comoceptor final de elétrons. Assim sendo, a atividade de microrganismos heterotróficos aeróbicos, durante a oxidação de compostos orgânicos, pode ser avaliada tanto pelo consumo de O_2 quanto pela geração de CO_2 . A medida da taxa respiratória é um dos mais antigos parâmetros para quantificar a atividade microbiana e, ainda hoje, é uma das mais utilizadas (KENNEDY e SMITH, 1995; MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

b) Atividade enzimática

As enzimas do solo têm origem tanto de micro como macrorganismos, incluindo plantas e animais. No entanto, a atividade das enzimas nem sempre pode ser relacionada a células metabolicamente ativas. As desidrogenases, envolvidas no transporte de elétrons acoplado à síntese de energia (ATP), podem ser exemplo de enzimas diretamente envolvidas no metabolismo celular (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Assim sendo, a atividade das desidrogenases nos processos oxidativos das células microbianas reflete a bioatividade geral de uma grande parte da população microbiana, o que permite seu emprego como medida de atividade biológica (TREVORS, 1984; NIELSEN e WINDING, 2002).

2.3 | Poluição causada pelo óleo cru em solo

As conseqüências ambientais são substanciais em todo o processo de desenvolvimento do petróleo. Cada estágio do processo – exploração, perfuração onshore (em solo) e offshore (em mar), refino, transporte por oleodutos ou outras formas –

apresentam sérios riscos ao meio ambiente. A sociedade moderna é dependente do petróleo, porém, representa uma das piores fontes de poluição, ao causar efeitos ecológicos de curta e longa duração e trazer prejuízos às atividades sócio-econômicas nos territórios atingidos.

Por serem visíveis e pelas imagens sensacionais que geram, as poluições causadas por derrame de navio-tanque ou rompimentos de oleodutos são as que mais chamam atenção da população. Entretanto, estes tipos de acidentes representam apenas uma parcela do total de óleo derramado no meio ambiente. A poluição crônica causada, principalmente, em ambientes próximos às refinarias, operações rotineiras dos navios ou terminais de reservatório são as grandes vilãs da contaminação de petróleo no meio ambiente (La GREGA *et al.*, 1994).

Em solo os derrames de petróleo podem ocorrer de muitas formas mas, os maiores eventos ocorrem com rompimento de oleodutos, explosões de poços ou perfuração de um tanque combustível. As causas de um rompimento de oleoduto podem ser diversas desde um equipamento de bombeamento danificado até mesmo por sabotagem. Entretanto, devido ao uso de sensores e mecanismos de interrupção de seções de oleodutos estes eventos são bem menores que a poluição do petróleo causada por acidentes em navios-tanque. Os efeitos diretos do óleo sobre a vegetação de um solo fértil resultam em efeitos físicos e toxicidade química, que dependem das características do óleo e do local contaminado. O impacto físico do óleo sobre a vegetação age primeiramente através da folhagem e na superfície do solo. Quando a camada de óleo se deposita na planta, bloqueia o caminho da transpiração, reduzindo a fotossíntese e causando a morte da mesma (BURGER, 1997; PEZESHKI *et al.*, 2000).

2.3.1 | Transporte e transformação de compostos orgânicos no solo

Ao ser adicionado ao solo, um composto orgânico pode sofrer processos físicos, químicos e biológicos, interagindo com as fases sólidas, líquidas, gasosas e com a microbiota do solo. O exemplo mais importante de uma transformação físico-química de contaminantes orgânicos no solo é o que envolve o processo de adsorção da molécula na particulada do solo (matéria orgânica e argila, principalmente), reduzindo a concentração do composto na solução e, conseqüentemente, diminuindo a disponibilidade do composto para o ataque microbiano. No solo, todos os tipos de fixação de íons ou moléculas sobre ou dentro da fase sólida é chamada de adsorção. A adsorção é definida como adesão ou atração de uma ou mais camadas iônicas ou moleculares a uma superfície. A adsorção de compostos no solo pode ser mediada por processos físicos, através de forças de Van der Waals, ou pode ser química, por ligações eletrostáticas e pontes de hidrogênio, ou por ambas (GROVER, 1975).

Como efeito de transformação química cita-se o efeito do pH, que determina, muitas vezes, a prevalência de degradação da molécula por processo puramente químico. O pH do solo também tem efeito bioquímico, pois influencia a atividade microbiana, pois dependendo do pH do meio, haverá ou não predominância de atividade microbiana atuando sobre a degradação dos compostos orgânicos. Os processos de transformação e degradação de compostos orgânicos no solo dependem tanto das características do próprio solo, como das características físico-químicas dos contaminantes, pois moléculas de peso molecular muito alto ou elementos que contém halogênios e/ou anéis aromáticos altamente condensados, por exemplo, são mais persistentes. A persistência depende também da

eficiência de processos físicos de transformação, tais como evaporação, lixiviação, erosão e absorção, etc. A taxa pela qual o composto está disponível na solução do solo pode ainda determinar maior ou menor persistência por influenciar nos processos bióticos ou abióticos de degradação (ANDRÉA, 2003).

No caso dos processos biológicos, o conhecimento da biodiversidade genotípica e fenotípica dos microrganismos degradadores de compostos orgânicos é de grande importância para a compreensão dos aspectos ecológicos envolvidos na biodegradação microbiana. Além disso, transformação ou degradação dos contaminantes vai depender da estrutura do mesmo (LICHTENSTEIN e SCHULTZ, 1964; ANDRÉA e PETTINELLI, 2000).

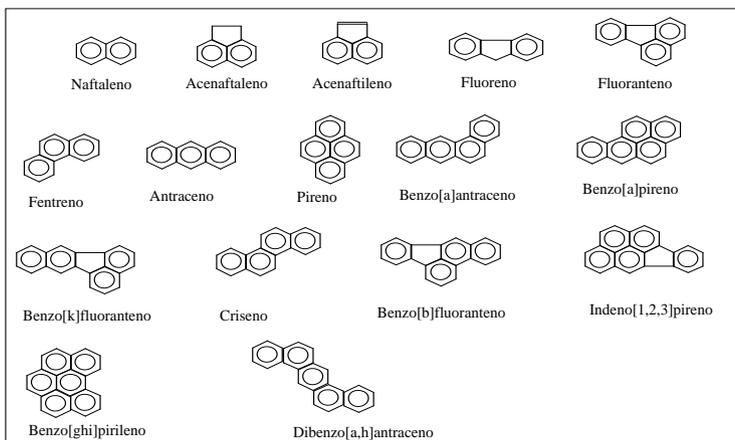
2.3.2 | Compostos persistentes no solo

Compostos persistentes são, por definição, substâncias que têm meia-vida longa, ou seja, lenta taxa de desaparecimento no meio ambiente, devido, principalmente, à sua estabilidade química (BRO-RASMUSSEN, 1986). Muitos xenobióticos persistem por um longo período no solo, e esta persistência pode ser atribuída à toxicidade de certos compostos ou à incapacidade dos microrganismos de crescer e/ou biodegradar tais compostos em determinadas condições. Muitos pesticidas são considerados persistentes no solo, como o dicloro-difenil-tricloro-etano (DDT) que demora cerca de 5 a 10 anos para ser degradado (DUA *et al.*, 2002).

Muitos compostos xenobióticos são produzidos em larga escala em decorrência de atividades industriais podendo, eventualmente, contaminar no meio ambiente. Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são exemplos de compostos per-

sistentes, que podem ser lançados ao solo, em ocasiões de derrames de óleo cru. Muitos estudos têm sido feitos com HPAs devido à natureza carcinogênica e recalcitrante de muitos destes hidrocarbonetos, por isso considerados os compostos mais perigosos presentes no óleo cru. Por serem persistentes à natureza, a presença de HPAs no solo causa grandes danos aos organismos, com prejuízos inestimáveis a todo o ecossistema por longo tempo.

A estrutura dos HPAs tem efeito significativo sobre a biodegradação, uma vez que compostos com menor número de anéis aromáticos, como antraceno, fenantreno e pireno, são mais rapidamente degradados do que criseno, pirileno e 1,2-benzantraceno, que possuem maior número de anéis (ALAN e FERREK, 1993; ALEXANDER, 1994; LIEBERG e CUTRIGHT, 1999). A estrutura química de alguns HPAs é dada na Figura 4.



Fonte: Glaser e Potter, 1996.

Figura 4. Estrutura química de alguns hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs).

2.4 | Sistemas de tratamento de áreas impactadas com hidrocarbonetos de petróleo

São vários os sistemas propostos para a remediação áreas impactadas por petróleo. Contudo, o tratamento a ser adotado deve considerar as condições singulares e intrínsecas da área contaminada. Algumas alternativas de remediação são baseadas em tecnologias como: bombeamento e tratamento (“pump-and-treat”), aeração in situ (“air sparging”), lavagem de solo e re-injeção (recarga artificial); barreiras de contenção física pouco permeável, biorremediação in situ, processos de oxidação química, processos térmicos, e as barreiras físicas permeáveis, processo de encapsulamento e solidificação etc. (FURTADO, 2005; NOBRE e NOBRE, 2003; RISER-ROBERTS, 1998). A seguir serão relatadas algumas tecnologias de tratamento de solo e águas subterrâneas.

2.4.1 | Processos Físicos

Processos de encapsulamento e solidificação

A técnica de microencapsulamento é uma das mais utilizadas para tratamento de solos impactados com altas concentrações de hidrocarbonetos. Nesta técnica utilizam se dois tipos de produtos à base de água: um emulsificante e um composto à base de sílica. A aplicação do primeiro produto promove a emulsificação do hidrocarboneto, enquanto a sílica reage com o hidrocarboneto emulsionado formando um produto não solúvel, o que garante a redução da mobilidade do hidrocarboneto e da toxicidade (RISER-ROBERTS, 1998).

Lavagem do solo

Estes métodos fundamentam-se no princípio tecnológico da transferência de um contaminante do solo para um seqüestrador (ou captador) na fase líquida ou gasosa. Como resultado do tratamento obtém-se, principalmente, o solo tratado e os contaminantes concentrados. Em geral, as argilas têm uma elevada afinidade por muitos dos compostos orgânicos por mecanismos físicos e químicos. Assim, para separar os contaminantes do solo, será necessário promover a quebra das ligações entre as moléculas orgânicas e as partículas do solo, ou extrair as partículas contaminadas do solo (RISER-ROBERTS, 1998). Uma das técnicas de lavagem de solo utiliza surfatantes para remover o contaminante do solo que são utilizados para romper a tensão superficial do óleo, fazendo com que o mesmo fique em solução na forma coloidal. Existem duas formas de aplicação desta técnica, no próprio local (*in situ*) ou em reatores. A forma *in situ* não é muito aplicada, devido à introdução de mais um contaminante no ambiente, como também pela dificuldade de estabelecer condições operacionais seguras (CETESB, 2007).

Os resultados dos processos de lavagem de solo com surfatantes são relativamente rápidos e já vem sendo utilizado há muito tempo. Entretanto, a utilização de biossurfatantes em lavagem de solo é uma prática relativamente nova, sendo que alguns trabalhos relatam a utilização de biossurfatantes em lavagem do solo contaminado com hidrocarboneto de petróleo, onde são utilizadas diferentes concentrações de um biossurfatante do tipo ramnolípido. Nestes trabalhos foi observada uma grande eficácia no processo de lavagem, sendo extraído boa parte do contaminante do solo (URUM *et al.*, 2003; URUM e PEKDEMIR, 2004).

2.4.2 | Processos Químicos

Os processo químicos incluem a extração por solvente, desalogenação química e processos oxidativos avançados, dentre outros. Os Processos Oxidativos Avançados (POAS), em sua grande maioria, há a formação do radical hidroxila ($\text{OH}\cdot$) que é altamente oxidante e capaz de reagir com praticamente todas as classes de compostos orgânicos e inorgânicos. O contaminante é degradado através de uma série de reações químicas, tendo como produtos finais CO_2 , H_2O e íons inorgânicos. A oxidação química é um processo rápido, quando comparado aos processos biológicos, porém, a matriz do solo é modificada pela ação dos agentes oxidantes, fato que não ocorre nos processos biológicos (WATTS *et al.*, 1993; SCOTT e OLLIS, 1995).

2.4.3 | Processos Térmicos

As necessidades energéticas dos processos térmicos são, normalmente, bastante elevadas e, ainda, podem ocasionar emissões de substâncias tóxicas. Contudo, em determinados casos, podem ser utilizadas temperaturas relativamente baixas, reduzindo o consumo de energia. Além disso, existe a possibilidade de minimizar a poluição ambiental pelo tratamento das emissões gasosas. Os custos desse processo dependem, não só do processo em si, como também do teor de umidade, tipo de solo e concentração de poluentes, bem como de medidas de segurança e das regulamentações ambientais em vigor (ALAN e FERREK, 1993). O processo térmico mais utilizado no tratamento de resíduos é a incineração, que é considerada por uns como forma de disposição final de resíduos e consistem na decomposição térmica via oxidação com o objetivo de tornar o resíduo menos volumoso, menos tóxico ou não tóxico (CETESB, 1992).

2.4.4 | Processos Biológicos

Os processos biológicos podem ser tratados *in situ* (no local) ou *ex situ* (fora do local). A seguir serão relatados alguns desses processos.

Processos biológicos *in situ*

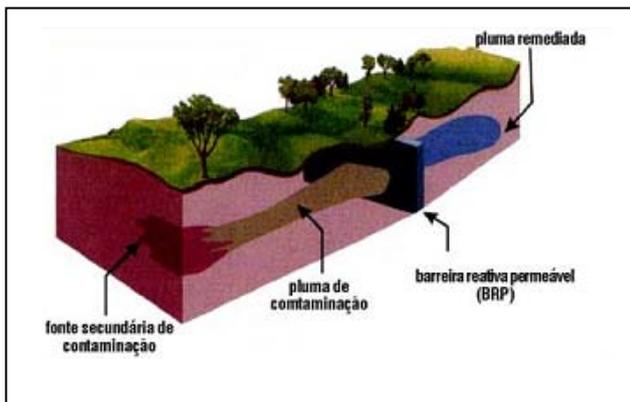
a) Contenção Hidráulica, Bombeamento e Tratamento (*Pump-and-Treat*)

A remediação de contaminantes em solo ou água subterrânea pela utilização de barreira hidráulica é denominada em inglês de 'pump-and-treat' que significa bombeamento e tratamento. É um processo físico ex-situ de extração de águas contaminadas da zona saturada. Neste procedimento, a água contaminada por poluentes orgânicos é retirada por bombeamento, submetida a um processo de remoção de poluentes e descarregada, às vezes, de volta ao reservatório natural. Apesar de ser eficaz no controle da migração de plumas de contaminação, o *pump-and-treat* possui várias restrições físicas e químicas que limitam a sua eficácia quanto à remediação a longo prazo, especialmente se utilizado de forma isolada, ou no caso de aquíferos contaminados com líquidos não miscíveis com a água (NAPLs - *Non Aqueous Phase Liquids*). Técnicas adicionais e associadas a sistemas de controle de migração de plumas são muitas vezes recomendadas, tendo em vista o lento processo de dissolução natural destes líquidos em águas subterrâneas (NOBRE e NOBRE, 2003).

b) Barreiras reativas permeáveis (BRPs)

As barreiras reativas permeáveis (BRPs) consistem em sistemas de engenharia que favorecem a passagem das águas sub-

terrâneas através de barreiras reativas que podem ser aeróbicas ou anaeróbicas no caso de reações mediadas biologicamente. A utilização dessas barreiras é uma tentativa de fazer melhor uso das tecnologias naturais, de forma a acelerar o processo de degradação do contaminante. No Brasil há uma unidade de cloro-soda da Braskem, em Camaçari (Bahia), que faz uso dessa tecnologia, pioneira no país, com custo orçado em R\$ 2,5 milhões (NOBRE e NOBRE, 2003; FURTADO, 2005). A Figura 5 mostra um esquema de tratamento de água subterrânea utilizando uma barreira reativa permeável.



Fonte: Nobre e Nobre, 2003.

Figura 5. Esquema de tratamento de água subterrânea utilizando a técnica de barreira reativa permeável.

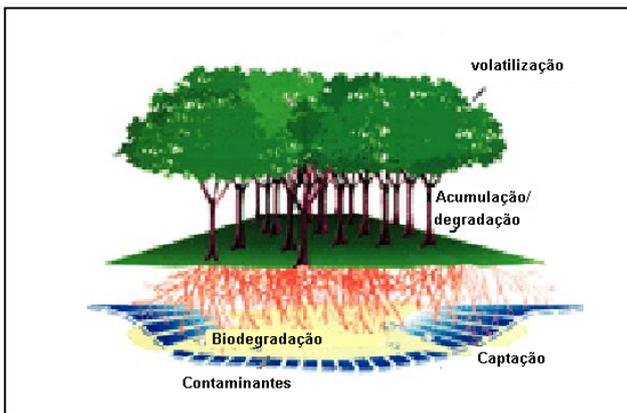
c) Bioventing ou bioventilação

Esta tecnologia é vantajosa por ser um tratamento *in-situ* e, também, por requerer pouca quantidade de equipamentos. Consiste no uso de ar atmosférico para aumentar a atividade de microrganismos aeróbicos na remediação de áreas contaminadas. Solos com baixa permeabilidade, tais como os argilo-

sos, não se adaptam para a utilização desta tecnologia, pois não se consegue suprimento de ar, rápido e adequado, para atender às necessidades de oxigênio para o metabolismo microbiano (ALEXANDER, 1999).

d) Fitorremediação

É um processo biológico que envolve o emprego de plantas utilizadas como agentes despoluidores de solo. Sua utilização tem sido avaliada, principalmente, em solos contaminados com metais pesados (ACICIOLY e SIQUEIRA, 2000), petróleo e derivados de petróleo (ANDERSON e WALTON, 1995; MORENO e CORSEUIL, 2001) e outros compostos orgânicos (CUNNONGHAM *et al.*, 1996). Em geral, é mais difícil trabalhar com contaminantes orgânicos, em razão da diversidade molecular, da complexidade de análise e das constantes transformações a que estão sujeitos. Os metais pesados, por exemplo, são mais facilmente quantificados e raramente formam metabólitos intermediários no solo, como ocorre na biodegradação dos contaminantes orgânicos. Assim, as pesquisas com compostos orgânicos contaminantes de solo exigem técnicas especializadas e de custo elevado, envolvendo o uso de elementos marcados e sofisticada instrumentação analítica (PIRES *et al.*, 2003; PROCÓPIO *et al.*, 2005). A Figura 6 mostra as variáveis envolvidas na técnica de fitorremediação.



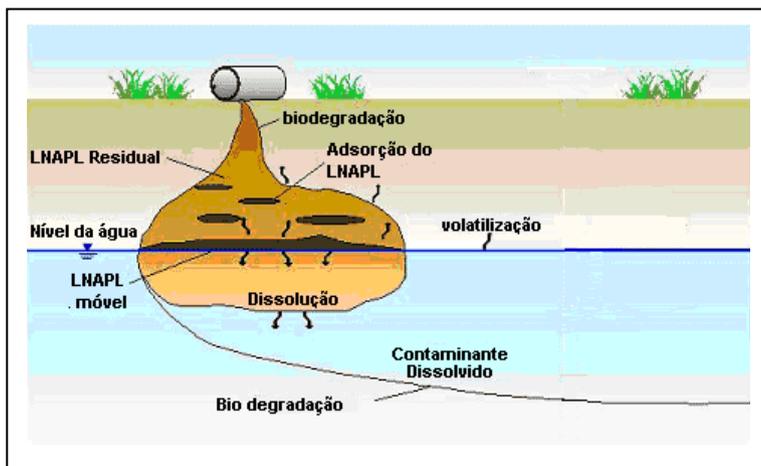
Fonte: <http://arabidopsis.info/students/dom/mainpage.html>

Figura 6. Variáveis envolvidas num processo de Fitorremediação.

e) Atenuação natural monitorada

O processo de atenuação natural monitorada (ANM) é baseado nos princípios naturais de degradação in-situ e resulta da interação de uma série de processos químicos, físicos e biológicos. Em condições favoráveis a biodegradação dos contaminantes ocorre sem intervenção humana para reduzir a massa, toxicidade, mobilidade, volume ou concentração desses contaminantes em solos ou aquíferos. Essa tecnologia, normalmente, demanda um tempo maior para atingir os valores estabelecidos pela lei ambiental (NATIONAL RESEARCH COUCIL, 2000). Quando não há risco que justifique a adoção de tratamento para acelerar a remediação da área, o melhor a fazer é deixar a natureza se autodepurar, ou seja, optar pela chamada Atenuação Natural Monitorada (NOBRE e NOBRE, 2003; FURTADO, 2006). A biodegradação natural pode ser indicada para compostos orgânicos voláteis (VOCs), semivoláteis (SVOCs) e combustíveis de hidrocarbonetos (U.S. EPA, 1995 *apud*

BAPTISTA, 2007). Algumas desvantagens desse tratamento são: a caracterização (avaliação das condições geológicas e geoquímicas) e o monitoramento do local contaminado por um longo período, elevando os custos do tratamento; os produtos finais podem ser mais tóxicos que os contaminantes originais; problemas com a migração do contaminante no solo antes da degradação, causando por exemplo, erosão, volatilização e lixiviação (BAPTISTA, 2007). A Figura 7 mostra as reações envolvidas num processo de atenuação natural.



Fonte: www.envirottools.org

Figura 7. Reações envolvidas num processo de atenuação natural após um derrame de petróleo.

Processos biológicos *ex situ*

a) Biopilhas

A tecnologia de Biopilhas envolve a construção de células ou pilhas de solo contaminado de forma a estimular a atividade microbiana aeróbica dentro da pilha através de uma aeração

muito eficiente. A atividade microbiana pode ser aumentada pela adição de umidade e nutrientes como nitrogênio e fósforo. As bactérias degradam os hidrocarbonetos adsorvidos nas partículas de solo, reduzindo assim suas concentrações. Tipicamente, as Biopilhas são construídas sobre uma base impermeável para reduzir o potencial de migração dos lixiviados para o ambiente subsuperficial. Uma malha de dutos perfurados instalados na base da pilha e conectados a um compressor garante a perfeita aeração do conjunto. Em alguns casos, constrói-se um sistema de coleta para o lixiviado, principalmente quando do uso de sistema de adição de umidade. As pilhas são, geralmente, recobertas por plástico para evitar a liberação de contaminantes para a atmosfera, bem como para protegê-la das intempéries. Como o landfarming, a biopilha necessita de espaço suficiente para o tratamento do solo contaminado. Além disso, ao escavar o solo, pode-se liberar para o ambiente compostos orgânicos voláteis (VOCs) (SEABRA, 1997; PALA, 2002).

b) Landfarming

O "landfarming" é uma das tecnologias de remediação que consiste na aplicação do resíduo oleoso na superfície do solo, de modo a reduzir as concentrações dos constituintes de petróleo por meio da biodegradação microbiana. O espalhamento do material oleoso contaminante sobre o solo e a incorporação na camada arável, também denominada camada reativa, pode afetar diretamente e de modo diferenciado, os microrganismos responsáveis pela biodegradação. A biodegradação microbiana, que é o mecanismo primário de eliminação dos poluentes orgânicos do ambiente, compõe a base deste tratamento, sendo de grande importância a manutenção de uma comunidade microbiana heterotrófica ativa, mas são escassos os estudos relaciona-

dos à atividade dos microrganismos em área de tratamento de resíduo petroquímico por "landfarming" (de PAULA *et al.*, 2006).

c) Biorreatores

Os biorreatores facilitam o controle do processo de biodegradação dos poluentes no solo, facilitando a aclimação da microbiota e o desenvolvimento dos microrganismos. Além disso, maximizam as taxas de degradação através da redução ou eliminação dos poluentes. O emprego dos biorreatores vem surgindo como uma tecnologia viável e decisiva para tratamento de solo contaminado com compostos orgânicos (URURAY, 1998).

Baptista e colaboradores (2006) utilizaram reatores de leito fixo para tratamento de solo argiloso contaminado com hidrocarbonetos de petróleo e verificaram uma remoção de cerca de 45% de TPH após 45 dias de ensaio de biodegradação.

2.4.5 | Biorremediação de solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo: o estado da arte

A biorremediação é um método atrativo para a remediação de solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo devido aos baixos custos relativos ao processo. Como dito anteriormente, os processos biológicos baseiam-se na capacidade dos microrganismos em metabolizar uma grande diversidade de compostos químicos e, ainda, que eles podem gradualmente se adaptar às fontes de carbono e de energia disponíveis. Adicionalmente, tanto os solos quanto às águas subterrâneas contêm diferentes espécies microbianas. Por isso, a técnica de biorremediação tem sido amplamente utilizada na recuperação de solos contaminados com óleo cru visto que levam a transformação, através de processos naturais, de xenobióticos em substâncias inócuas, sendo que o solo, como um sistema vivo para o crescimento da

planta, não é destruído. No entanto, o grau de descontaminação irá depender da natureza e concentração do poluente presente, assim como das características do solo (AUTRY e ELLIS, 1992; DEL'ARCO, 1999; ADENIYI e AFOLABI, 2002).

Técnicas de biorremediação de solo impactado com hidrocarbonetos de petróleo

Existem basicamente duas técnicas de utilização da biorremediação que podem ser utilizadas isoladamente ou em conjunto, dependendo das características do contaminante e do solo que são o bioestímulo e o bioaumento.

O bioestímulo consiste na adição de nutrientes (nitrogênio e fósforo) para aumentar a atividade microbiana e a eficácia do processo. Nesta técnica são adicionadas linhagens microbianas para aumentar o potencial de biodegradação dos contaminantes no solo. O nitrogênio pode ser utilizado para o crescimento celular (NH_4 ou NH_3) e como aceptor final de elétrons (NO_3), podendo ser adicionado na forma de uréia, cloreto de amônio ou como qualquer sal de amônio. O fósforo pode ser empregado como fosfato de sódio, fosfato de potássio, sais orto fosfóricos e polifosfatos. Essas fontes são facilmente assimiladas pelo metabolismo microbiano, estimulando a biodegradação dos contaminantes (LIEBEG e CUTRIGHT, 1999 *apud* da CUNHA, 2004).

A utilização da técnica de bioaumento com a adição da população nativa ou não do solo no processo de biorremediação resume-se na aplicação de bactérias e fungos que utilizam os contaminantes orgânicos como fonte de alimento. Uma vez comprovada a capacidade oxidativa de uma determinada cepa, ou ainda da combinação de várias cepas, deve-se adotar modelo de estudo em microcosmo para verificação do potencial de adaptação/competição com a microbiota nativa do solo.

Os organismos mais comuns isolados em áreas contaminadas por hidrocarbonetos são bactérias heterotróficas dos gêneros: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Artrobacter*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium* e *Nocardia* (RISER-ROBERTS, 1998).

Fatores que afetam a biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo

A velocidade da degradação microbiológica dos hidrocarbonetos é influenciada por muitos fatores que direta ou indiretamente tem influência sobre o metabolismo e, por conseguinte, no crescimento das espécies microbianas. São eles:

a) Temperatura

Muitos microrganismos heterotróficos são capazes de degradar hidrocarbonetos dentro de uma ampla faixa de temperatura. Entretanto, em temperaturas muito baixas como por exemplo, na estação de frio, a biodegradação de muitos substratos orgânicos diminui devido à diminuição da atividade microbiológica. Em temperaturas muito altas, as proteínas microbianas podem ser irreversivelmente danificadas, causando interrupções das funções da célula. Várias pesquisas têm demonstrado uma correlação entre a atividade microbiana e a temperatura do solo que, por sua vez, interfere acentuadamente na velocidade de degradação. A faixa de 30 a 40°C é considerada ideal na biodegradação dos hidrocarbonetos (MIROSLAV *et al.*, 1996; ALEXANDER, 1999; TSAI *et al.*, 1992; LEAHY e COLWELL, 1990).

b) pH

O pH do solo tem ação direta na atividade metabólica da microbiota nele existente, sendo função da tolerância de cada espécie microbiana. Segundo Tsai *et al.* (1992), em relação ao pH, os microrganismos podem ser distinguidos em:

- **Indiferentes:** crescem numa faixa ampla de valores de pH. É o caso de um grande número de bactérias, que podem apresentar crescimento entre valores de pH 6 a 9. Para os fungos os valores variam entre 2,0 e 8,0;
- **Neutrófilos:** preferem pH próximo à neutralidade até ligeiramente alcalino. Em geral, as cianobactérias e diatomáceas preferem ambientes neutros ou pouco alcalinos. Já a maioria dos actinomicetos não apresenta crescimento em valores de pH inferiores a 5,5;
- **Acidófilos:** preferem ambientes ácidos;
- **Basófilos:** não suportam valores de pH inferiores a 8,0.

Para a maior parte dos microrganismos envolvidos no processo de biorremediação, a faixa de pH favorável ao seu crescimento é de 6,0 a 8,0, quando a biodegradação tende a ser mais rápida (ATLAS, 1989; ALEXANDER, 1999). Em ambientes de extrema acidez ou alcalinidade, a atividade microbiana decai.

c) Nutrientes

Depois da fonte de carbono, o nitrogênio (N) e o fósforo (P) são os elementos essenciais ao crescimento celular, como já dito anteriormente, sendo que na maioria das vezes, a velocidade de degradação de alguns hidrocarbonetos é influenciada pela presença de N e P no solo. Geralmente, em ambientes contaminados por hidrocarbonetos de petróleo, as fontes de N e P estão em quantidades inadequadas para o crescimento micro-

biano, tendo em vista a elevada quantidade de carbono disponível a ser degradado (MIROSLAV *et al.*, 1996). Nos microrganismos, o N é constituinte de proteínas, ácidos nucléicos e componentes da parede celular enquanto o P, na forma de fosfatos inorgânicos, é utilizado, sobretudo, na geração de energia (ATP), da qual dependem para realizar as sínteses celulares (NYER, 1992; CUNHA, 1996).

d) Umidade, aeração e salinidade

A umidade é um dos fatores físico-químicos que mais afetam a vida microbiana no solo já que os microrganismos requerem uma quantidade razoável de água para o seu crescimento. Solos argilosos retêm água e garantem a atividade dos microrganismos presentes. Geralmente em solos contaminados com óleo cru a taxa de biodegradação aumenta com o ajuste da umidade entre 30 e 90% do valor da capacidade de retenção de líquido. Porém, o valor ótimo de umidade dependerá das propriedades do solo e do contaminante em questão (ALEXANDER, 1999).

O teor de oxigênio dissolvido é um fator limitante nos processos de biorremediação de petróleo no solo, posto que o catabolismo dos hidrocarbonetos alifáticos, cíclicos e aromáticos por bactérias e fungos inicia-se a partir de reações catalisadas por enzimas mono e dioxigenases (ATLAS, 1984; BARTHA, 1986; CRAVO JR., 1998).

Alguns solos possuem altos índices de salinidade e, de um modo geral, solos com alto teor de salinidade constituem um meio desfavorável para a maioria dos microrganismos, pois a salinidade inibe parcial ou totalmente a função dos microrganismos telúricos (bactéria, actinomicetos, fungos, algas e protozoários) (ALEXANDER, 1999).

e) Concentração de hidrocarbonetos *versus* solubilidade

A biodegradação dos hidrocarbonetos ocorre num sistema multifásico envolvendo gases (O_2/CO_2), material orgânico insolúvel em água, sais dissolvidos e microrganismos. A variada composição dos constituintes do petróleo interfere na atividade dos microrganismos. Alguns hidrocarbonetos alifáticos são considerados insolúveis em meios aquosos e a solubilidade desses compostos é inversamente proporcional ao peso molecular, ou seja, quanto maior o peso molecular menor a solubilidade, menor a disponibilidade desses compostos para a ação dos microrganismos e menor a taxa de biodegradação (ROSENBERG, 1993 *apud* DEL'ARCO, 1999).

f) Características do solo

As características físico-químicas dos solos vão influenciar na adsorção de contaminantes, sendo que quanto maior a adsorção menos disponível estará o contaminante para ação dos microrganismos. Muitos compostos orgânicos são sorvidos pelos constituintes do solo, além do que, diversos são os fatores que influenciam na adsorção como tipo e concentração de solutos, tipo e quantidades de materiais argilosos e matéria orgânica no solo, pH, temperatura etc. O tipo de cátion no qual a argila está saturada (íons de Fe, Ca, ou H), bem como a capacidade de troca catiônica também é importante no processo de adsorção (ALEXANDER, 1999).

Muitos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e outros tipos de poluentes não polares são sorvidos, sobretudo pela matéria orgânica nativa mais do que pelos constituintes do solo. De fato, quanto maior a fração orgânica presente na fase sólida, maior o número de moléculas hidrofóbicas sorvidas. Surfatan-tes podem dessorver muitos compostos hidrofóbicos do solo

como, por exemplo, antraceno, fenantreno e pireno. Entretanto, estas concentrações de surfatantes devem ser bem avaliadas para não serem tóxicas, e ainda, que não sejam degradadas preferencialmente pelos microrganismos em detrimento à degradação dos hidrocarbonetos presentes no solo.

2.5 | Surfatantes químicos e biológicos

Os surfatantes são geralmente descritos como aniônicos, não iônicos, catiônicos e anfóteros e podem ser sintetizados quimicamente ou biologicamente. A seguir serão relatados algumas das propriedades e os diferentes tipos de surfatantes.

2.5.1 | Surfatantes Químicos

Os surfatantes são moléculas anfipáticas, constituídas de um grupo polar (hidrofílico) e um grupo não polar (hidrofóbico). Uma molécula de surfatante pode ser representada conforme visto na Figura 8. Devido à sua estrutura, as moléculas de surfatantes se concentram à superfície da água diminuindo a tensão superficial e interagem entre si formando agregados denominados de micelas (BOGNOLO, 1999; BANAT, 2000; MULLIGAN, 2005). Se adicionados a líquidos imiscíveis, como óleo/água, tendem a acumular na interface entre as fases de diferentes graus de polaridade, causando a redução da tensão interfacial destes sistemas.

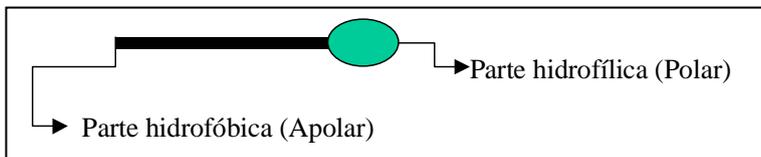


Figura 8. Representação esquemática de um surfatante.

Um surfatante típico possui uma estrutura do tipo R-X, onde R é normalmente linear e X é o grupo polar. A parte hidrofóbica é uma cadeia de hidrocarbonetos variando de 8 a 18 átomos de carbono, sendo que a parte hidrofílica é quem determina se um surfatante é não iônico, aniônico, catiônico ou anfótero. Desta forma, os grupos hidrofílicos podem conter sulfonato, sulfato, carboxilato (aniônicos), amônio quaternário (catiônico), ou poli-oxietileno (não iônico).

Um surfatante catiônico possui, em geral, a fórmula R_nX+Y- , onde R representa uma ou mais cadeias hidrofóbicas, X corresponde a estrutura catiônica e Y é um contra-íon. Em princípio, X pode ser uma série de elementos químicos, como por exemplo: N, P, S, As, Te, Sb, Bi ou halogênios. Dentre os tensoativos aniônicos mais utilizados, a parte polar pode ser formada por sais de ácidos carboxílicos, sulfúrico, sulfônico e fosfórico e a parte apolar pode ser formada de hidrocarbonetos saturados ou insaturados. Para os anfóteros, os quais possuem ambos os grupos aniônicos e catiônicos, dependendo da estrutura e do pH da solução pode prevalecer a espécie aniônica, catiônica ou neutra (HAIGH, 1996; DESHPANDE *et al.*, 1999; OU, 2000; MANIASSO, 2001).

Como já visto anteriormente, o grupo hidrofílico é o que determina a principal diferença entre a maioria dos surfatantes e, dessa forma, é importante conhecer as composições químicas de alguns surfatantes. A Tabela 5 apresenta alguns surfatantes classificados conforme a carga iônica.

Tabela 5. Estrutura química de alguns surfatantes.

Tipo	Agente Tensoativo	Fórmula
Aniônico	Dodecil Sulfato de sódio (SDS)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_4^-\text{Na}^+$
Catiônico	Brometo de dodeciltrimetil amônio (DTAB)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}$
Não iônico	Polioxietileno (32) dodecanol (Brij 35)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{23}\text{OH}$
Anfótero	4-(dodecildimetil amônio) butirato (DAB)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}^+(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_3\text{COO}^-$

Fonte: Maniasso, 2001.

2.5.2 | Surfatantes biológicos ou biossurfatantes

Os biossurfatantes são classificados de acordo com a composição química e sua origem microbiana já que são produtos metabólicos de bactérias e fungos. Essas biomoléculas são principalmente produzidas pelo crescimento de microrganismos aeróbicos em meio aquoso contendo como fonte de carbono carboidratos, hidrocarbonetos, etc. Em geral, os biossurfatantes são biomoléculas neutras ou aniônicas, variando desde pequenos ácidos graxos até grandes polímeros. A parte hidrofóbica também é formada por hidrocarbonetos com cerca de 10 a 18 átomos de carbono, mas pode-se encontrar cadeias de ácidos graxos que são ligadas às proteínas ou peptídeos. A parte hidrofílica é bastante diversificada, podendo ser carboidrato, éster, hidroxila, fosfato ou grupo carboxílico (BOGNOLO, 1999). As principais classes de biossurfatantes incluem glicolipídios, lipossacarídeos, lipoproteínas, lipopeptídios, fosfolipídios e ácidos graxos (BANAT, 1995; NITSCHKE e PASTORE, 2002). A Tabela 6, a seguir, mostra algumas das principais classes de biossurfatantes e os microrganismos envolvidos.

Tabela 6. Principais classes de biossurfatantes e microrganismos produtores.

Tipo de biossurfatante	Microrganismos
Glicolipídios	
Ramnolipídios	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Soforolipídios	<i>Torulopsis bombicola</i> , <i>T. apicola</i>
Trehalolipídios	<i>Rhodococcus erythropolis</i> , <i>Mycobacterium</i> sp.
Lipopeptídios e lipoproteínas	
Peptídio-lipídio	<i>Bacillus licheniformis</i>
Serrawetina	<i>Serratia marcescens</i>
Subtilisina	<i>Bacillus subtilis</i>
Viscosina	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Surfactina	<i>Bacillus subtilis</i>
Polimixina	<i>Bacillus polymyxa</i>
Gramicidina	<i>Bacillus brevis</i>
Ácidos graxos, lipídeos neutros e fosfolipídeos.	
Ácidos graxos	<i>Corynebacterium lepus</i>
Lipídeos neutros	<i>Nocardia erythropolis</i>
Fosfolipídios	<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>
Surfatantes poliméricos	
Emulsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Biodispersan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Liposan	<i>Candida lipolytica</i>
Carboidrato-lipídio-proteína	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Manana-lipídio-proteína	<i>Candida tropicalis</i>
Surfatantes particulados	
Células	Várias bactérias
Vesículas	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>

Fonte: Nitschke e Pastore, 2002.

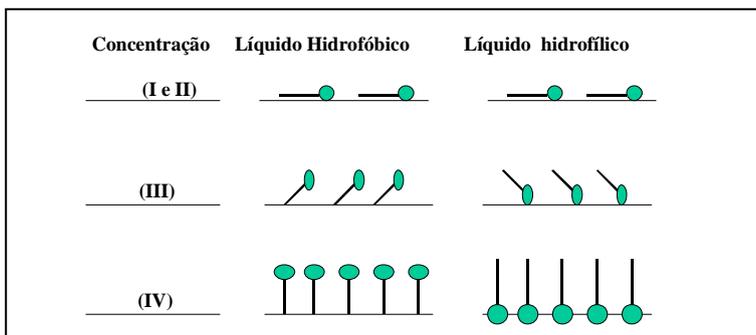
2.5.3 | Propriedades dos surfatantes químicos e biológicos

Vários estudos têm demonstrado que há uma correlação entre a estrutura química do surfatante e suas propriedades, que podem ser das mais diversas, por isso, podendo apresentar aplicação em diferentes setores industriais. Algumas propriedades desses compostos, de origem química ou biológica, são apresentadas a seguir.

Adsorção

A maior característica de um surfatante está no fato dele possuir um grupo polar e um grupo não polar, conforme já citado anteriormente. Tal característica faz com que os surfatantes, em solução, acumulem na superfície de um líquido, diminuindo a sua tensão superficial (PORTER, 1994).

A adsorção do surfatante à superfície (interface líquido/ar) depende da concentração do mesmo na solução. A Figura 9 mostra o efeito do aumento da concentração do surfatante em solução hidrofílica ou hidrofóbica. Em baixas concentrações (I e II), as moléculas de surfatante se distribuem na superfície, ficando paralelamente orientadas. Com o aumento da concentração de surfatante (III) diminui a área disponível em relação ao número de moléculas e, conseqüentemente, tem início uma ligeira ordenação das mesmas em relação à superfície. A orientação vai depender da natureza da superfície hidrofílica ou hidrofóbica. Na concentração IV, conhecida como micelar crítica (CMC), há formação de uma camada unidirecional (PORTER, 1994).

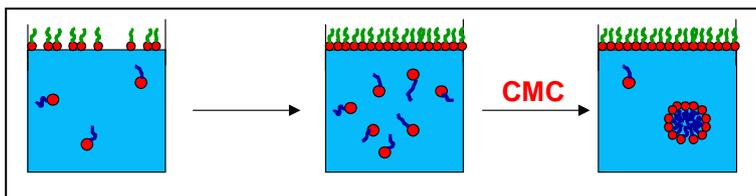


Fonte: Porter, 1994.

Figura 9. Adsorção e concentração de surfatante.

Concentração Micelar Crítica (CMC)

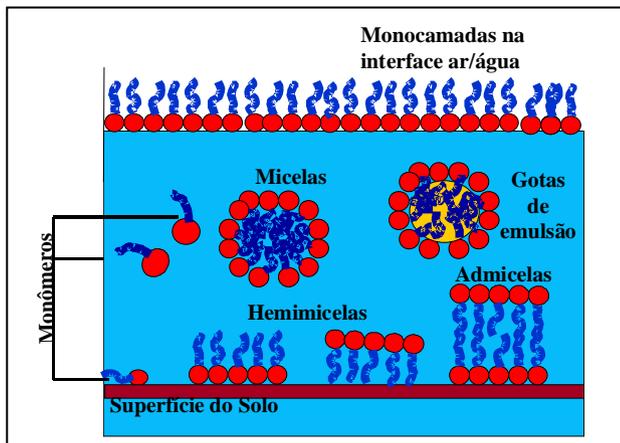
Os surfatantes e/ou biossurfatantes possuem como principal característica a formação, em solução, de agregados chamados de micelas. Em água, as micelas formam-se através da associação entre os grupos hidrofóbicos (cauda) das moléculas, formando uma pseudofase termodinamicamente favorável (núcleo hidrofóbico). Portanto, abaixo da CMC, os surfatantes se apresentam como moléculas individuais ou monômeros. Acima da CMC, as concentrações dos monômeros estão em equilíbrio com as micelas (BOGNOLO, 1999; OU, 2000). A Figura 10 mostra a formação das micelas num sistema água/surfatante na interface água/ar.



Fonte: Porter, 1994.

Figura 10. Formação da CMC num sistema água/surfatante.

A possibilidade de formação dessas micelas, num sistema composto de solo/água/óleo é mostrada na Figura 11. Quando pequenas concentrações de surfatantes são adicionadas ao sistema solo/água, parte das moléculas (monômeros) é adsorvida pelas partículas do solo e o restante forma uma monocamada na interface ar/água, resultando na redução da tensão superficial. Quando a concentração está acima da CMC, os monômeros se agregam formando micelas com duplas camadas de moléculas de surfatantes (admicelas) à superfície do solo, sendo que as moléculas de surfatantes que estão à superfície do solo também ocasionam a redução da tensão interfacial, melhorando a superfície de contato entre as fases aquosa e sólida. Quando há compostos orgânicos hidrofóbicos presentes neste meio, dependendo da concentração do surfatante, há também formação de gotas de emulsão (OU, 2000; HAIGH, 1996).



Fonte: Ou, 2000.

Figura 11. Comportamento de um surfatante em sistema solo/água/óleo.

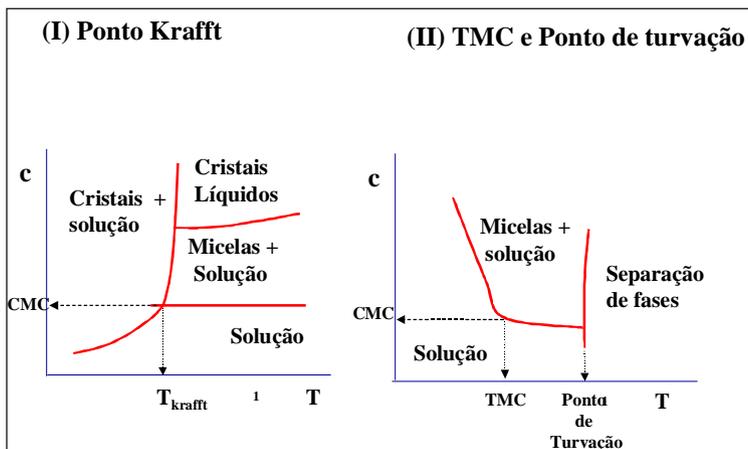
Solubilidade

A solubilidade é uma das propriedades mais importantes de um surfatante, estando diretamente relacionada com o tamanho do grupo hidrofóbico ou hidrofílico. Para um mesmo grupo hidrofílico, o aumento do grupo hidrofóbico causa o aumento do peso molecular do surfatante, que por sua vez, torna-se menos solúvel em água. Similarmente, à medida que se aumenta o grupo hidrofílico, para um mesmo grupo hidrofóbico, o surfatante torna-se mais solúvel em água.

Numa temperatura muito baixa, os surfatantes permanecem, principalmente, numa forma cristalina e insolúvel. À medida que a temperatura aumenta, cada vez mais moléculas de surfatantes permanecem em solução até que a concentração do surfatante alcance a CMC. Neste ponto existe, predominantemente, a forma micelar numa determinada temperatura. Dessa forma, a temperatura na qual um monômero alcança a CMC é chamada de temperatura micelar crítica (TMC). Nesta temperatura todas as três fases, a saber: monômero, cristalina e micelar estão em equilíbrio, correspondendo ao ponto Kraft (BHAIRI, 2001).

O ponto de turvação corresponde a temperatura na qual a solução de surfatante torna-se turva. Este fenômeno ocorre quando surfatantes, não iônicos ou anfóteros, em concentrações acima da CMC são aquecidos. Na temperatura chamada de temperatura micelar crítica (TMC) ocorre separação das duas fases, uma pobre em surfatante e a outra rica. Conhecer o ponto de turvação é importante para determinar a estabilidade da amostra para seu armazenamento. Características dos surfatantes como agentes molhantes, espumantes, dispersantes, entre outros exemplos, podem ser modificadas quando estes produ-

tos são utilizados em temperaturas muito abaixo ou muito acima do ponto de turvação (NASCENTES *et al.*, 2002). A Figura 12 mostra como determinar o ponto Kraft e o ponto de turvação para surfatantes.



Fonte: Bhairi, 2001.

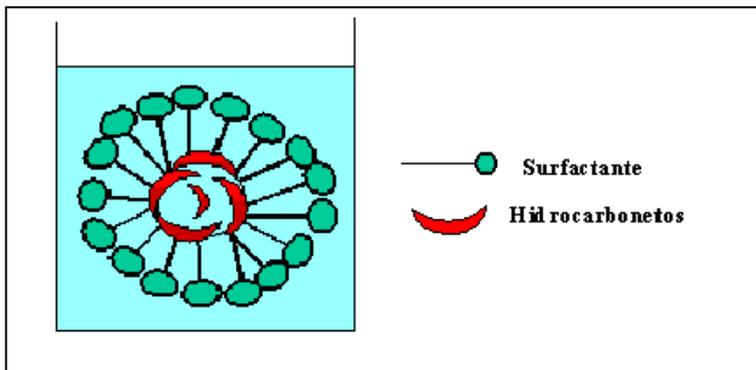
Figura 12. Ponto Kraft e ponto de turvação para surfatantes.

Solubilização de substâncias hidrofóbicas e microemulsão

Substâncias orgânicas que são insolúveis em água podem ser solubilizadas através do emprego de surfatantes, formando uma emulsão estável. O tipo de micela formada dependerá da estrutura química do surfatante e do líquido a ser misturado. De uma forma geral, a aplicação de surfatantes aumenta a solubilidade dos constituintes do petróleo, sendo que os hidrocarbonetos estarão localizados no núcleo das micelas, enquanto que os compostos fracamente polares, como ácidos graxos, álcoois e ésteres, estarão na parte externa das micelas (PORTER,

1994; MULLIGAN, 2001). A Figura 13 mostra a solubilização de hidrocarboneto em água por intermédio de um surfatante.

A intensidade da solubilização é limitada pelo tamanho e número de micelas presentes. De fato, para que um dado composto seja solubilizado é necessário haver um excesso de surfatante em solução. Em solução aquosa a quantidade de substâncias orgânicas capazes de serem solubilizadas é pequena, entretanto, numa certa condição, uma grande quantidade de compostos orgânicos pode apresentar uma aparente “dissolução”, resultando em soluções água em óleo ou óleo em água, visivelmente límpidas e estáveis, as quais são denominadas pelo termo microemulsão. Como já mencionado, os surfatantes se acumulam na interface desses sistemas, alcançando uma situação de equilíbrio. Na interface água/óleo, o surfatante orienta-se de maneira que o grupo polar fica na fase aquosa, e o grupo hidrofóbico (lipofílico), na fase oleosa. A estabilidade da camada interfacial depende da natureza do grupo lipofílico e hidrofílico que formam o surfatante (PORTER, 1994).



Fonte: Porter, 1994.

Figura 13. Solubilização de hidrocarbonetos em fase aquosa pelo emprego de surfatante.

Balanço Hidrofílico/Lipofílico (BHL)

O balanço hidrofílico/lipofílico (Hydrophilic/lipophilic balance - HLB) é a relação entre as partes hidrofílica e hidrofóbica da molécula do surfatante. Os compostos mais hidrofóbicos têm um baixo valor de HBL (1-10), enquanto o aumento no valor de HBL corresponde a um aumento no caráter hidrofílico (HELENIUS e SIMONS, 1975). De acordo com Porter (1994), além de fatores como caráter iônico, pH em solução, entre outros, o valor de HBL também serve para identificar possíveis aplicações de um surfatante. A Tabela 7 mostra uma relação dos valores de HBL e das aplicações e solubilidades correspondentes.

Os surfatantes não iônicos são heterogêneos quanto ao tamanho dos grupos de polioxietileno que constituem a parte hidrofílica da molécula. Por isso, o número de unidades de óxido de etileno por molécula, informado pelo fabricante, é apenas um valor médio. Assim sendo, Griffin (1949) introduziu uma quantidade empírica arbitrária, designada "balanço hidrofílico/lipofílico" (HLB em inglês), para obter uma medida do balanço das partes hidrofílicas e hidrofóbicas de um agente tensoativo não iônico. Este balanço não é tão eficaz para surfatantes iônicos (aniônicos e catiônicos) e a quantificação desta grandeza pode ser avaliada a partir da estrutura média do surfatante.

Tabela 7. Balanço hidrofóbico/lipofílico (HBL) e as respectivas propriedades e aplicações.

BHL	Aparência da água com surfatante	Aplicação	Tipo de emulsão
1-4	Insolúvel	Emulsionante para água em óleo	Água/óleo
4-7	Dispersão leitosa instável	Emulsionante para água em óleo	Água/óleo
7-9	Dispersão opaca estável	Umectante	---
10-13	Solução escura	Detergente e emulsionante para óleo em água	Óleo/água
13 -	Solução transparente	Solubilizante	Óleo/água

Fonte: Porter, 1994; Silva *et al.*, 2003.

2.5.4 | Características dos efeitos dos surfatantes

Os surfatantes têm extensa área de aplicação, dependendo das suas características e efeitos. A seguir são relatados alguns efeitos mais importantes na utilização dos surfatantes.

Efeito umectante (molhabilidade)

Os umectantes são moléculas anfífilas, isto é, possuem na mesma estrutura duas regiões de polaridade opostas: uma polar (ou hidrofílica) com afinidade pela água e outra apolar (ou hidrofóbica) com afinidade por outros solutos, fazendo com que a tensão superficial entre superfícies (água/óleo, água/sólido, água/ar etc) seja reduzida (FARIAS *et al.*, 2006) Um dos efeitos importantes da utilização dos surfatantes seria o efeito umectante ou na promoção de molhabilidade. A Figura 14 ilustra

duas situações: (a) uma gota com pouca afinidade pelo substrato, onde a elevada tensão superficial desfavorece o efeito de molhabilidade, e (b) uma maior área de contato entre a gota e o substrato, indicando uma afinidade elevada, que resulta numa redução substancial da tensão superficial. Assim, pode-se concluir que quanto menor a tensão superficial, maior a facilidade para um líquido se espalhar (SILVA *et al.*, 2003). Os umectantes têm sido adicionados ao sistema bentonita-água para interagir com as partículas de argila, de acordo com sua característica iônica (aniônicos e catiônicos) ou não-iônica. Os umectantes iônicos induzem interações eletrostáticas, enquanto os umectantes não-iônicos são adsorvidos na superfície por interações estéricas. As moléculas de umectantes podem atrair ou repelir as partículas de argila e penetrar entre as camadas, podendo assim aumentar ou diminuir a estabilidade do sistema (PIRES, 2002).

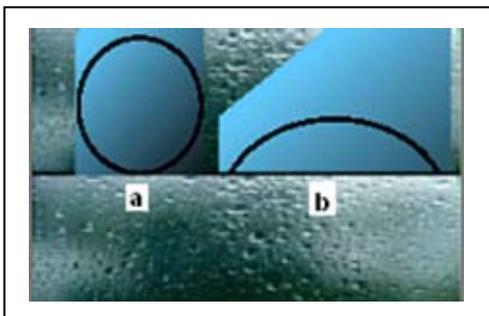


Figura 14. Espalhamento de uma gota sobre uma superfície.

Agente espumante e antiespumante

A maioria dos surfatantes é capaz de espumar, o que pode ser um efeito desejável ou não, dependendo da aplicação. A espuma consiste em dois sistemas de fases termodinamicamente

instáveis de bolhas de gás em líquido ou seja, é uma emulsão presente na superfície ar/água e esta emulsão permanece estável até haver algum fator que a desestabilize como a utilização de agentes antiespumantes. Os agentes antiespumantes contêm uma combinação de partículas sólidas hidrofóbicas (sílica, cera etc.), óleo de silicone e componentes que atuam diretamente na estrutura da espuma, promovendo a perda de elasticidade da espuma que. Outros fatores como aumento ou diminuição de temperatura causam a perda da elasticidade, levando a emulsão (ar em água) a se romper (PETER e ROUETTE, 1989; SALVINI *et al.*, 2006).

Detergência

A detergência é uma das maiores aplicações dos surfatantes e é um processo de remoção de uma substância indesejável de uma superfície sólida, geralmente com aplicação de uma força mecânica na presença de uma substância química como um surfatante (KISSA, 1981; PORTER, 1994). O efeito de detergência envolve uma série de fenômenos que atuam de modo a remover partículas oleosas. Existem muitas condições físico-químicas que se destacam neste processo, tais como: temperatura, presença de eletrólito, dureza da água, ação mecânica e tempo, tipo de substrato, tipo e concentração do surfatante. Além destas, outras condições como solubilidade, HLB, tensão interfacial, CMC, e efeito umectante e espumante são decisivas para o processo de detergência. Todas essas propriedades e condições demonstram a complexidade deste processo. Às vezes, por melhor que seja o surfatante empregado, um destes parâmetros pode impedir que o seu efeito seja destacado, tornando sua utilização inadequada (PORTER, 1994; SILVA *et al.*, 2003).

Dispersante

Atualmente definimos dispersante como um tensoativo que mantém uma dispersão de partículas estável em um meio em que as partículas não são. A dispersão das partículas em solução será estável se algumas forças de atração No início de séc. XX, os primeiros dispersantes utilizados foram os sabões. Nos anos 50, a chegada dos tensoativos etoxilados iniciou a utilização de nonilfenol etoxilado e álcoois graxos etoxilados. Foram introduzidos nos anos 60 os polímeros de bloco EO/PO (óxidos de etileno e propileno). No início da década de 80, passamos a usar o noneno vinil maleato de sódio e também os poliácridatos de sódio de diversos pesos moleculares. No começo dos anos 90, foram desenvolvidos os dispersantes poliméricos que são os mais aplicados atualmente (QUAGLIO, 2007).

Os dispersantes são muito utilizados após um derrame de petróleo em acidentes marinhos, porém, a utilização dos mesmos deve seguir as normas vigentes da resolução CONAMA nº 269 de 14/09/2000.

2.5.5 | Principais propriedades específicas dos biossurfatantes

Os surfatantes biológicos possuem melhores propriedades que muitos surfatantes químicos. Geralmente, possuem baixos valores de CMC (Concentração Micelar Crítica) e tensão interfacial na solução aquosa (BANAT, 1995). A seguir serão relatadas algumas propriedades dos biossurfatantes, segundo vários autores.

- **Atividade na superfície e na interface:** os biossurfatantes são mais efetivos e eficientes que alguns surfatantes químicos, pois conduzem a baixos valores de

tensão superficial mesmo em baixas concentrações (BANAT, 1995; MULLIGAN *et al.*, 2005).

- **Tolerância à temperatura e pH:** alguns biossurfatantes apresentam elevada estabilidade térmica e suas atividades de superfície não são afetadas por altas temperaturas (por exemplo, 90°C). Uma linhagem de *Pseudomonas aeruginosa*, isolada de reservatórios de óleo cru na Venezuela, estava adaptada às condições drásticas de temperatura do reservatório, visto que o biossurfatante (ramnolipídio) foi produzido mesmo em temperatura elevada, em altos teores de salinidade, cálcio e magnésio, e em pH ácido, característicos do reservatório (ROCHA *et al.*, 1992; BOGNOLO, 1999).
- **Força iônica:** biossurfatantes não são precipitados ou saturados em soluções salinas acima de 10%, enquanto 2-3% de sal são suficientes para desativar os surfatantes químicos. *Bacillus* SP018 apresentou crescimento e produção do biossurfatante surfactina em condição de anaerobiose a 50°C e salinidade (NaCl) superior a 10% (LIN, 1996; BOGNOLO, 1999).
- **Biodegradabilidade e baixa toxicidade:** os biossurfatantes são facilmente degradáveis na água e no solo, o que os torna adequados a aplicações como biorremediação, tratamento de efluentes e recuperação de petróleo, entre outras. Sua baixa toxicidade permite o seu uso também em alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos (NITSCHKE e PASTORE, 2002; MULLIGAN *et al.*, 2005).

- Alto índice de emulsificação e solubilização de hidrocarbonetos ou compostos insolúveis em água (WEST e HARWELL, 1992; NITSCHKE e PASTORE, 2002).

2.5.6 | Aplicação dos surfatantes na remoção, limpeza e recuperação de hidrocarbonetos

Limpeza de reservatórios de petróleo

Em geral, os resíduos e as frações de óleos pesados, devido a sua alta viscosidade, sedimentam no fundo de tanques de estocagem originando a formação de depósitos sólidos que não podem ser removidos através do bombeamento convencional. A remoção desses compostos do fundo dos tanques, requer lavagem com solventes ou limpeza manual, onde ambas as técnicas são demoradas e dispendiosas, e inclusive com alto grau de periculosidade. Além disso, estas técnicas deixam grandes volumes de resíduos sólidos contaminados com óleo a serem dispostos. Um processo alternativo de limpeza consiste no uso de biossurfatantes e/ou surfatantes que promovem a diminuição na viscosidade e a formação de emulsões óleo em água (O/A), facilitando o bombeamento. Ademais, o óleo pode ser recuperado através de quebra de emulsões (BOGNOLO, 1999; BANAT, 2000; NITSCHKE e PASTORE, 2002).

Recuperação melhorada do petróleo por ação microbiana (MEOR)

A recuperação melhorada do petróleo por ação microbiana (Microbial Enhanced Oil Recovery- MEOR) consiste em uma tecnologia de recuperação terciária do petróleo que utiliza microrganismos ou produtos de seu metabolismo para a recuperação do óleo residual.

Os microrganismos podem produzir surfatantes, ocasionando a redução da tensão interfacial do sistema óleo/água de produção, que por sua vez provoca a redução das forças capilares que impedem a movimentação do óleo através dos poros da rocha.

Os biossurfatantes também auxiliam na emulsificação e na quebra dos filmes de óleo nas rochas (BANAT, 1995). Outra possibilidade é o uso de microrganismos na produção de polímeros, que favorecem a obstrução das zonas de elevada permeabilidade no reservatório, melhorando assim a eficiência do arraste do óleo.

Com o propósito de estabelecer a MEOR in situ, os microrganismos devem ser capazes de crescer em condições extremas, como alta temperatura, pressão, salinidade e baixa tensão de oxigênio (BANAT, 2000; NITSCHKE e PASTORE, 2002).

Remediação de áreas impactadas com petróleo

Os acidentes com derramamento de óleo têm causado muitos problemas ecológicos e sociais. A fim de favorecer a regeneração das áreas impactadas tem sido adotado o emprego de surfatantes químicos e/ou biológicos como auxiliares no tratamento biológico. A utilização destes compostos promove o aumento da interação superficial de sistemas água/óleo, acelera a degradação microbiana de vários hidrocarbonetos em solos ou em águas e promove a dessorção de compostos orgânicos em solo (MULLIGAN *et al.*, 2001; KINGSLEY *et al.*, 2004).

Ultimamente, os surfatantes e/ou biossurfatantes vêm sendo muito utilizados na biorremediação de solos impactados por óleo cru para disponibilizar os hidrocarbonetos para ação dos

microrganismos. Devido às características de cada solo, os hidrocarbonetos podem adsorver os contaminantes em sua matriz, dificultando a biorremediação. Neste contexto, há uma necessidade de se conhecer um pouco melhor as características de cada solo e como estas podem interferir no processo de biorremediação.

2.5.7 | Efeito da adição de surfatantes na melhora da biodegradação de compostos orgânicos sorvidos no solo

A etapa limitante na biorremediação é o baixo nível de disponibilidade de certos hidrocarbonetos, seja por estarem sorvidos na matriz do solo ou por possuírem baixa solubilidade em sistemas aquosos, ambos impeditivos ao ataque microbiano. Os surfatantes podem aumentar a biodisponibilidade desses compostos pelo aumento da solubilidade em sistemas aquosos e, também, pelo aumento da superfície de contato através da formação de uma emulsão estável. Acima da concentração micelar crítica (CMC), os surfatantes permanecem separados dentro do núcleo hidrofóbico micelar, aumentando a solubilidade aparente. Em algumas circunstâncias, esta separação (partição) dentro das micelas pode tornar os hidrocarbonetos mais acessíveis aos microrganismos aumentando a taxa de biodegradação (MORAN *et al.*, 2000).

A melhora na biodegradação em solos contaminados com óleo cru, utilizando-se alguns tipos de surfatantes, pode ser vista, principalmente, através da dessorção do óleo cru sorvido no solo e pelo aumento da solubilidade dos mesmos quando os surfatantes são utilizados em concentrações iguais ou superiores aos valores da CMC (Concentração Micelar Crítica) de cada um (OU, 2000). A seguir serão relatados alguns experi-

mentos com utilização de surfatantes para aumentar a taxa de biodegradação do óleo sorvido no solo.

Oberbremer e colaboradores (1990) adicionaram um Soforolípido para uma mistura de 10% de solo e 1,35% em peso de hidrocarbonetos e observaram 90% de biodegradação de hidrocarbonetos em 72h quando comparados a 81% de biodegradação em 114h sem adição do biossurfatante.

Aronstein e Alexander (1993) conduziram ensaios para observar se a adição de um surfatante não iônico (NOVEL II 14212-56) na superfície de um solo contaminado com fenantreno e policlorados (PCBs) aumentaria ou não os índices de biodegradação desses contaminantes. Para este fim, bombearam soluções contendo de 10 a 100µg/L de surfatante para o solo. Dessa forma observaram aumento na biodegradação do fenantreno porém, não foi verificado aumento na biodegradação dos PCBs. Entretanto, foi verificado, também, que estas concentrações de surfatantes não contribuíram para aumentar a lixiviação desses contaminantes.

Robinson e colaboradores (1996) estudaram a aplicação de um ramnolípido usando 4g/L deste biossurfatante, obtendo-se a mineralização do 4,4-clorobifenil (cerca de 213 vezes maior que o controle).

Deschênes e colaboradores (1996) avaliaram o efeito de 2 surfatantes (um químico e um biológico) num solo contaminado por um longo período com HPAs. O surfatante químico era o SDS e o biológico era produzido por *Pseudomonas aeruginosa*. Os surfatantes foram adicionados ao solo a cada duas semanas numa concentração de 10, 100 e 500mg/g de solo. Após 45 dias de ensaios de biodegradação, os autores observaram que os HPAs com 3 anéis foram quase que totalmente biode-

gradados, quando se utilizaram as concentrações de 100 e 500mg/g, principalmente, quando se utilizou o SDS. Para os HPAs acima de 4 anéis foi sugerida a degradação preferencial dos surfatantes já que não se observou diminuição na biodegradação dos HPAs.

Rojas-Avalizapa e colaboradores (2000) avaliaram, através de um planejamento experimental, se o ajuste da relação nutricional C:N:P e também a adição de um surfatante não iônico aumentaria os índices de biodegradação de policlorados (PCBs) que estavam presentes num solo em altas concentrações. Após 35 dias de ensaios de biodegradação observaram que o ajuste da relação nutricional C/N/P serviu para aumentar consideravelmente a atividade heterotrófica do solo porém, a grande melhora na biodegradação foi observada com a presença do Tween-80 que apresentou uma remoção de 39-60% dos PCBs.

Mayer e Chavez (2000) verificaram que a adição de um ramnolípido pôde aumentar a biodegradação de hexadecano, octadecano, n-parafinas e fenantreno em sistemas líquidos e a biodegradação do hexadecano, tetradecano, prístino e misturas de hidrocarbonetos em solo.

Noormam e colaboradores (2002) estudaram os efeitos do ramnolípido e observaram que estes foram úteis quando a taxa de biodegradação era limitada. Por exemplo, no caso de solo com tamanho do poro pequeno (6nm), o hexadecano estava aderido ao solo e sua disponibilidade era limitada. A adição do ramnolípido liberou o substrato e o contaminante para ação dos microrganismos.

Cubitto e colaboradores (2005) conduziram ensaios com adição de um biossurfatante produzido por *Bacillus subtilis* O9 em solo

contaminado com óleo cru em 3 diferentes concentrações (1,9; 19,5 e 39mg/kg de solo) e observaram que o biossurfatante serviu para estimular a atividade microbiana e melhorar a degradação de hidrocarbonetos alifáticos, porém nessas concentrações estudadas não foi observado melhora na biodegradação dos hidrocarbonetos aromáticos.

Millioli e colaboradores (2005) estudaram a adição de diferentes concentrações de um biossurfatante do tipo ramnolípido em solo extremamente argiloso e intemperizado, verificando que a medida que se aumentava a concentração do ramnolípido a eficiência de biodegradação aumentava, porém até uma faixa de 0,4% p/p de ramnolípido. A partir dessa concentração, observaram um decréscimo na eficiência de biodegradação, necessitando de um estudo mais aprofundado para observar se estas concentrações estariam sendo tóxicas ou não processo de biodegradação do óleo.

2.6 | Ecotoxicidade

Bioensaios de ecotoxicidade são metodologias analíticas que permitem caracterizar a toxicidade de efluentes e substâncias químicas em geral. A exposição de organismos vivos (bioindicadores) a estas substâncias é uma ferramenta valiosa de análise ambiental. Para testes de toxicidade em solo, as interações entre os compostos químicos e o solo devem ser levadas em consideração para prever corretamente o impacto químico no ambiente. O solo é um componente-chave do meio ambiente e, dependendo do tipo de minerais, matéria orgânica, pH, potencial redox, umidade e manejo do solo, os contaminantes podem ser adsorvidos ou liberados, tendo efeitos tóxicos diferentes. Os testes de toxicidade podem ser classificados de acordo com

o tempo de exposição (agudo ou crônico), o modo do efeito (morte, crescimento, reprodução) ou a resposta do efeito (letal ou sub-letal) (KAPANEN e ITAVAARA, 2001). As respostas de toxicidade aguda podem ser expressas como valores de LC50 (concentração letal) ou EC50 (concentração efetiva) que significa que a metade dos organismos morre ou uma mudança específica ocorre no seu comportamento normal, respectivamente. A toxicidade aguda é avaliada num período de tempo relativamente curto para o ciclo de vida do organismo testado. Os testes com *Daphnia*, ratos e pássaros são avaliados num período de 24 a 48 h que são tempos suficientes para expressar toxicidade aguda. Já a toxicidade crônica é utilizada para determinar efeitos longos e duradouros que não resultam em morte. Organismos unicelulares com tempo de vida inferior a 24h podem ser utilizados para avaliar a toxicidade crônica. (LANDS e YU, 1995; KAPANEN e ITAVAARA, 2001). Para a utilização de surfatante como agente remediador na técnica de biorremediação de solo impactado com óleo cru, é necessário um estudo mais aprofundado dos efeitos desses agentes no solo. Para tal, testes de ecotoxicidades são importantes para avaliar o comportamento da adição dos mesmos no solo. A seguir serão relatados alguns testes de ecotoxicidade.

2.6.1 | Testes enzimáticos

A atividade enzimática pode ser utilizada para descrever os efeitos de compostos tóxicos sobre a população microbiológica do solo. As enzimas usadas na atividade microbiológica do solo são as hidrolases (fosfatases e ureases) e as oxidoreduases (desidrogenases) (RATSEP, 1991). A determinação da atividade desidrogenásica é o método mais comum utilizado para testes de toxicidade enzimática e é o método baseado na esti-

mativa da taxa de redução de TTC (trifeniletrazilium clorídrico) a TPF (trifenil formazan) nos solos após incubação a 30°C por 24 h. O TTC funciona comoceptor final de elétrons, sendo, portanto, um dos métodos mais frequentemente usado para tal estimativa (BITTON e KOOPMAN, 1992).

2.6.2 | Testes com minhocas

As minhocas são essencialmente cosmopolitanas e vulneráveis a maioria dos fatores que especialmente afetam os ecossistemas do solo. As espécies recomendadas pelo padrão ASTM (1995) e OECD (1984) são *Eisenia fetida* e *E. andrei* que podem ser cultivadas facilmente no laboratório. O padrão ASTM (1995) para toxicidade em solo utilizando *E. fetida* é usado para avaliar os efeitos tóxicos letais ou subletais da minhocas num curto período de tempo. Os efeitos subletais podem ser o crescimento, comportamento, reprodução e processos fisiológicos. A duração do teste de toxicidade aguda varia de 7 a 14 dias e o teste de reprodução em torno de 9 semanas (KAPANEN e ITAVAARA, 2001).

Há também o teste de fuga de minhocas que permite a avaliação de sítios contaminados com nível de estresse mais baixo dos organismos do que os testes de toxicidade aguda e pode ser aplicado facilmente para verificar compostos tóxicos no solo. O teste de fuga pode, em muitos casos, ser um indicador mais sensível do que os testes de toxicidade aguda. Este teste pode ser avaliado em 24 ou 48h (YEARLEY *et al.*, 1996).

Knoke e colaboradores (1999) avaliaram a toxicidade de solo contaminado com pentaclorofenol PCP e hidrocarbonetos de petróleo utilizando técnicas de biorremediação como bioestímulo e bioaumento. A técnica de bioestímulo foi avaliada pela adição

de fósforo ao solo e a técnica de bioaumentação adicionando-se *Pseudomonas* sp UG30. Os testes de toxicidade foram monitorados usando, dentre outros, o Microtox, germinação com semente de alfaca e mortalidade de minhocas. Após os ensaios de biodegradação, observaram que os testes feitos com minhoca e com alfaca, a adição de fósforo ao solo aumentou a toxicidade enquanto que os testes com o bioaumentação com *Pseudomonas* sp. houve redução da toxicidade, sugerindo que dependendo da técnica de biorremediação utilizada a toxicidade pode aumentar ou diminuir.

Safwat e colaboradores (2002) conduziram testes de toxicidade com dois tipos de minhocas *Lumbricus terrestris* and *E. fetida* em solo contaminado com 0,5 a 2,5% de óleo cru. O solo contaminado com 0,5% p/p de óleo cru não causou danos às minhocas mas a partir da concentração de 1,5% houve redução da sobrevivência das minhocas em 40%.

Sisino e colaboradores (2006) avaliaram a toxicidade de amostras de áreas contaminadas com diferentes concentrações de hidrocarbonetos através de teste de fuga das minhocas e verificaram que 90% dos organismos fugiram da seção que continha a amostra contaminada para a seção onde estava o solo controle, indicando que a amostra pode ser considerada tóxica, apresentando sua função de habitat limitada. A toxicidade dessa amostra foi posteriormente confirmada pelos ensaios de letalidade e reprodução. Os resultados preliminares indicaram que o ensaio de comportamento foi um indicador rápido da toxicidade da amostra e pode ser aplicado como complemento da avaliação de áreas contaminadas por hidrocarbonetos.

2.6.3 | Fitotoxicidade

Plantas sensíveis a substâncias tóxicas podem ser utilizadas como bioindicadores. De acordo Fletcher (1991), os testes com plantas podem ser utilizados em cinco categorias diferentes:

- **Biotransformação:** transformação de compostos causada pelas plantas.
- **Captação de cadeia alimentar:** quantidade e concentração de elementos tóxicos que podem entrar na cadeia alimentar através da captação das plantas.
- **Sentinela:** monitoramento de poluentes observando os sintomas de toxicidade exibidos pelas plantas.
- **Indicadoras:** certas plantas que indicam as características do solo, tanto físicas, quanto químicas.
- **Fitotoxicidade:** dentre esses testes, o de fitotoxicidade tem recebido maior atenção nos últimos anos. A fitotoxicidade pode ser determinada pela germinação das sementes, alongamento da raiz e crescimento da muda. A Tabela 8 mostra algumas espécies recomendadas pela A OECD (1984b); USEPA e FDA (FLETCHER, 1991).

Muitos estudos têm demonstrado a eficiência de espécies como pepino e agrião (HELFRICH *et al.*, 1998), alface e soja (GUNDERSSON *et al.*, 1997) em testes de toxicidade e estes testes também são realizados para verificar a toxicidade do óleo cru. Sherry e colaboradores (1994) observaram a redução de 15% da eficiência germinativa da semente de *Lactuca sativa* pela presença de óleo cru.

Tabela 8. Espécies recomendadas pela OECD (1984b), USEPA e FDA.

Nome comum	Espécie
Azevém	<i>Lolium perene</i>
Arroz	<i>Oryza sativa</i>
Aveia	<i>Avena sativa</i>
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i>
Sorgo	<i>Sorghum bicolor</i>
Mostarda	<i>Brassica Alba</i>
Rabanete	<i>Raphanus sativus</i>
Nabo	<i>Brassica rapa</i>
Repolho	<i>Brassica campestris</i>
Feijão	<i>Phaseolus aureus</i> <i>Phaseolus vulgaris</i>
Alface	<i>Lactuca sativa</i>
Pepino	<i>Cucumis sativus</i>
Cenoura	<i>Daucus carota</i>
Soja	<i>Glycine Max</i>
Milho	<i>Zea mays</i>
Cebola	<i>Allium cepa</i>
Trigo	<i>Triticum aestivum</i>
Agrião	<i>Lepidium sativum</i>

Fonte: Fletcher, 1991.

Banks e Schultz (2005) avaliaram a fitotoxicidade em solo contaminado com óleo cru através de testes de germinação de plantas, como alface (*L. sativa*), milheto (*Panicum miliaceum*), rabanete (*Raphanus sativus.*), trevo vermelho (*Trifolium pratense*)

e trigo (*Triticum aestivum*) e observaram que enquanto a maioria das plantas mostrou pouca sensibilidade ao poluente, somente a alface teve uma diferença estatisticamente significativa, sugerindo que a *Lactuca sativa* é uma ótima escolha para avaliar a toxicidade de solo contaminado com petróleo.

A necessidade de medir os riscos ecotoxicológicos aliados ao uso de agentes remediadores ao solo vem chamando atenção dos pesquisadores nos últimos anos. Há, ainda, a necessidade de padronização por parte dos pesquisadores em relação às metodologias utilizadas, pois há muitos testes sendo avaliados ultimamente, mas poucos são padronizados.

3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da revisão bibliográfica dos últimos anos, foi possível avaliar que para solos com alto teor de argila e contaminados com altas concentrações de compostos hidrofóbicos, a técnica de biorremediação sofre limitações, tendo em vista que estes compostos, por estarem adsorvidos à matriz do solo, estão poucos disponíveis para ação dos microrganismos. Dessa forma, muitos estudos vêm demonstrando que a adição de surfatantes aumenta a disponibilidade dos hidrocarbonetos para o ataque dos microrganismos presente no solo, melhorando a biodegradação dos mesmos. A melhora na biodegradação pode ser verificada, principalmente pelo aumento da solubilidade e/ou dessorção dos hidrocarbonetos sorvidos no solo e difusão facilitada dos hidrocarbonetos da fase sólida para a fase líquida.

Ressalta-se ainda, que as interações entre surfatantes e óleo cru; surfatantes e os componentes do solo e entre surfatantes e os microrganismos devem ser bem investigadas, sendo que a investigação da toxicidade da adição destes agentes remediadores ao solo é extremamente importante para prever o impacto da adição dos mesmos ao meio ambiente.

4 | AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer a Petrobras pelo incentivo a esta pesquisa; ao CETEM pela infra-estrutura concedida; a ANP pelo apoio técnico e financeiro e a EQ/UFRJ pela realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADENIYI, A. A. e AFOLABI, J. A. Determination of total petroleum hydrocarbons and heavy metals in soils within the vicinity of facilities handling refined petroleum products in Lagos metropolis. *Environmental International*, vol. 28, pp. 79-82. 2002.
- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V.; V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. *Tópicos em ciência do solo*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, vol. 1. pp. 299-352. 2000.
- ALAN, A.A e FERREK, J.R. Advantage and disadvantages of burning oil. In: *International Oil Spill Conference*. API, Washington. pp. 765-772. 1993.
- ALEXANDER, M. *Biodegradation and Bioremediation*. Academic press, Inc. 302p. 1994.
- ALEXANDER, M. *Biodegradation and Bioremediation*. Academic Press. California. 302p. 1999.
- ALEF, K. e NANNIPIERE, P. *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. London: Academic Press. 576p. 1995.
- ANDERSON, T. A.; COATS, J. R. Screening rhizosphere soil samples for the ability to mineralize elevated concentrations of atrazine and metolachlor. *J. Environ. Sci. Health, B*, vol. 30, pp. 473-484, 1995.
- ANDREA, M.M.; PETTINELLI, Jr. Efeitos de aplicação de pesticidas sobre a biomassa e a respiração de microrganismos de solos. *Arq. Inst. Biol.*, vol.67, Nº 2, pp.223-228. 2000.
- ARONSTEIN, B. N. e ALEXANDER, M. "Effect of Non-ionic Surfactant Added to the Soil Surface on the Biodegradation of Aromatic Hydrocarbons Within the Soil". *Applied Microbiology & Biotechnology* vol. 39. pp. 386-390.1993.
- ASSIS, E.P.M.; CORDEIRO, M.A.S.; PAULINO, H.P. CARNEIRO, M.A.C. Efeito da aplicação de nitrogênio na atividade microbiana e na decomposição da palhada de sorgo em solo de cerrado sob

- plantio direto. Pesquisa Agropecuária Tropical, vol. 33 N° 2, pp. 107-112. 2003.
- ASTM (Standard Guide for Conducting a Laboratory Soil Toxicity Test with Lubricity Earthworm *Eisenia fetida*.
- ATLAS, R. M. Petroleum Microbiology. New York: Macmillan Publishing Company, 1984. 632p.
- AUTRY, A.R. e ELLIS, G.M., Bioremediation: An effective remedial alternative for petroleum hydrocarbon-contaminated soil. Environmental Progress, vol. 11, n.4, pp. 318-323. 1992.
- BHAIRI, S.M. Detergents: A guide of properties and uses of detergents in biology and biochemistry. Ed. Calbiochem Novabiochem Corporation. 2001.
- BANAT, I.M. Biosurfactants production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation: A review. Bio-resource Technology. vol. 51. pp. 1-12. 1995.
- BANAT, I.M. Pontential commercial application of microbial surfactants. Appl. Microbiol Biotechnology. vol. 53, pp. 495-508. 2000.
- BANKS, M.K.; SCHULTZ, K.E. Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum contaminated soil. Water, air & soil pollution, vol. 167, N° 4, pp. 211-219. 2005.
- BAPTISTA, J.S. Avaliação do emprego de biossurfactante na biorremediação de solo contaminado com óleo diesel. Orientadoras: Eliana Flávia C. Sérvulo e Denize Dias de Carvalho. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2007. 137p. Dissertação.(Doutorado em ciências).
- BARTHA, R. Biotechnology of petroleum pollutant biodegradation. Microbial Ecology. vol. 12, pp. 155-172.
- BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J. G. L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S.; Introdução a engenharia ambiental. São Paulo – 2002.

- BIOTTON, G.; KOOPMAN, B. Bacterial and enzymatic bioassays for toxicity testing in the environment. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* vol. 125, pp. 1-22. 1991.
- BOGNOLO, G. Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons. *Colloids and Surfaces.* vol. 152. pp. 41-52. 1999.
- BRO-RASMUSSEN, F. Hexachlorobenzene: na ecological profile of na organochlorine compounds. In: MORRIS, C.R.; CABRAL, C.R. Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium (IARC Scientific Publications, n. 77) Lyon, International Agency for Research on cancer. 1986.
- BUENO, B. de S.; VILAR, O.M. "Mecânica dos solos". Universidade de Viçosa, centro de ciências exatas e tecnológicas, departamento de engenharia civil. Minas Gerais, Brasil. 129p, 1980.
- BURGER, J. Oil Spill. Rutgers University Press. New Jersey. 261p. 1997.
- CALLAHAN, C. A. Earthworms as ecotoxicological assessment tools. In: EDWARDS, C.A.; NEUHAUSER, E.F. Earthworms in waste and environmental management, spb academic, The Hague, pp. 295-301. 1988.
- CARRARO, F. L. Enciclopédia Globo para cursos fundamental e médio. Editora Globo. Porto Alegre, Rio Grande do Sul – Brasil, 1977.
- CETEBS - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental In: www.ambiente.sp.gov.br. site acessado em setembro de 2007.
- CORREA, O.L.S. Petróleo, noções sobre exploração, perfuração, produção e microbiologia. Editora Interciencia. 89p. 2003
- CUNHA, C.D. Avaliação de biodegradação de gasolina em solo. Orientador: Selma Gomes Leite. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 1996. 97p. Dissertação.(Mestrado em ciências).
- CUNHA, C.D. Avaliação de diferentes tecnologias de biorremediação de água subterrânea contaminada com gasolina e análise molecular da comunidade presente. Orientador: Selma Gomes Leite. Rio

- de Janeiro: UFRJ/EQ, 2004. 176p. Dissertação.(Doutorado em ciências).
- CRAVO Jr., W. B. Biodegradação de querosene de aviação(QVA) por culturas mistas e por *Pseudomas aeruginosas*. Orientador: Francisca Pessoa de França. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 1998. 68p. Dissertação.(Mestrado em ciências).
- CUBITTO, M.A.; MÓRAN, A.C.; COMMENDATORE, M. CHIARELLO, M.N.; BALDINI, M.D.; SENERIZ, F. Effects of *Bacillus subtilis* O9 biosurfactant on the bioremediation of crude oil-polluted soil. *Biodegradation*. vol.15, N° 5, pp. 281-287. 2005
- DAVIS, J.W.; MANDSEN, S. Factors affecting the biodegradation of toluene in soil. *Chemosphere*, vol. 33, NO 1, pp. 107-130.1996.
- DE PAULA, A.M.; SOARES, C.R.F.S.; SIQUERIRA, J.O. Biomassa, atividade microbiana e fungos micorrízicos em solo de "landfarming" de resíduos petroquímicos *Rev. bras. eng. agríc. Ambient.* vol.10 No.2 Campina Grande Apr./June 2006.
- DEL'ARCO, J. P. Degradação de hidrocarbonetos por bactérias e fungos em sedimento arenoso. Orientador: Francisca Pessoa de França. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 1999. 171p. Dissertação.(Mestrado em ciências).
- DESCHÊNES, L.; LAFRANCE, P.; VILLENEUVE, J. P.; SAMSOM, R. Adding sodium dodecyl sulfate and *Pseudomonas aeruginosa* UG2 biosurfactant inhibits polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation in a weathered creosote contaminated soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 46. N° 5-6, pp. 638-646. 1996.
- DESHPANDE, S. SHIAU, B.J.; WADE, D.; SABATINI, D.A. e HARWELL, J.H. Surfactants selection for enhancing ex situ soil washing. *Pergamon*. vol. 33, N.° 2, pp. 551-360. 1999.
- DEUEL, L. E. e HOLLIDAY, G. H. *Soil Remediation for the Petroleum Extraction Industry* . PennWell, 2nd. Ed., TULSA, U.S.A., 242p.1997

- DOUGLAS, L.E; HEFFNER, D.A. Process for in situ biodegradation of soil hydrocarbon contaminated soil. Patent number US 5017289, 1991.
- DRAGUN, J. The soil chemistry of hazardous Materials. Amherst Scientific Publishers Ed.; Massachusetts, 1998.
- DUA, M.; SINGH, A.; SETHUNATHAN, N.; JOHRI, A. K. Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. *Apply Microbiology Biotechnology*. vol. 59, pp.143-152. 2002.
- ELEKTOROWICZ, M. Bioremediation of petroleum- contaminated clayey soil with pretreatment. *Environmental Technology*. vol. 15. pp. 373-380. 1994.
- EPA. In situ remediation technology status report: surfactant enhancements. Washington, EPA 542-K94-oo3. 1995.
- FARIAS, K.V.; AMORIM, L.V.; FERREIRA, H.C.; PEREIRA. Estudo da reologia e espessura do reboco de fluidos de perfuração: influência de dispersantes e umectante aniônicos. *Cerâmica* vol.52 no.324 São Paulo. 2006
- FLETCHER, J. A brief overview of plant toxicity testing. In: GORUCH, J.W.; LOWER, W.R.; LEWIS, M.A.; WANG, W. *Plants for toxicity Assessment*. Astm, Philadelphia, PA. ASTM Publication code number (PCN) 04011150-16. pp. 1-11. 1991.
- FORMARIZ, T.P.; URBAN, M.C.C.; SILVA JUNIOR, A.; GREMIÃO, M.P.D.; OLIVEIRA, A.G. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* vol.41 no.3 São Paulo. 2005
- FURTADO, M. Remediação de solos: Para afastar o perigo que se esconde nos subterrâneos das grandes cidades, meios legais e econômicos devem fomentar obras de descontaminação. IN: *Química e Derivados*, edição 437 de maio de 2005.
- FURTADO, M. Remediação de solos: Hidrogeologia define concepção do projeto - Estudo das condições naturais do solo define técnica ideal para recuperar área contaminada. IN: *Química e Derivados*, Edição 446 de fevereiro de 2006.

- GLASER, J. A; POTTER. C.L. Soil bioremediation research EPA. Bio-cycle. pp. 50–54. Jan. 1996.
- GRIFFIN, W.C. Classification of surface active agents by “HLB”. J. Soc. Cosmetic Chem., vol. 1, pp. 311-326. 1949.
- GROVER, R. Adsorption and desorption of urea herbicides in soils. Canadian Journal of Soil Science, vol.35, N°2, pp.127-135. 1975.
- GUNDERSSON, C.A.; KOSTUK, J.M.; MITCELL, H.G.; NAPOLITANO, G.E.; WICKER, L.F.; RICHMOND, J.E.; STEWART, A.J. Multispecies toxicity assessment of compost produced in bioremediation of an explosives-contaminated sediment. Environmental Toxicology and Chemistry, v.16, p.2529-2537, 1997.
- HAIG, S.D. A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil. The Science of the Total Environment. vol. 185. pp. 161-170. 1996.
- HELENIUS, A. e SIMONS, K. Solubilization of membranes by detergents., Biochim.Biophys. Acta, vol. 415, pp. 29-79. 1975.
- HELFRICH, P.; CHEFETZ, B.; HADAR, Y.; CHEN, Y.; SCHNABL, H. A novel method for determining phytotoxicity in compost. Compost Science and Utilization, v.6, p.6-13, 1998.
- INOUE, A.; YAMAMOTO, M.; HORIKOSHI, K. Pseudomas putida which can grow in the presence of toluene. Application Environmental Microbiology, vol. 57, N0.5. pp. 1560-1562.1991.
- JAHAN, K.; AHMED, T. e MAIER, W.J. Modeling the influence of non-ionic surfactants on biodegradation of phenanthrene, Wat. Res. vol 33. pp. 2181-2193. 1999.
- JENKINSON, D.S. e LADD, J.N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E.A. & LADD, J.N., eds., Soil Biol. Biochem., 5:415-471, 1981.
- JUMA, N. G. The pedosphere and its dynamics: What is soil?, 1.1 Introduction[On line]. (1999, april 1). Avaliable in HTTP: <http://www.pedosphere.com/>[2002].

- KAPANEN, A.; ITAVAARA, M. Ecotoxicity tests for compost applications. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 49, pp. 1-16.2001.
- KENNEDY, A. C.; SMITH, K. L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant and Soil*, vol. 170, pp. 75-86, 1995.
- KINGSLEY, U.; PEKDEMIR, T.; MEHMET, Ç. Surfactant treatment of crude oil contaminated soil. *Journal of Colloid and Interface Science*. vol. 276, pp. 456-464. 2004.
- KISSA, E. Wetting and Detergency . *Pure & Appl. Chem.*, vol. 53, pp. 2255- 58, 1981.
- KNOKE, K.L.; MARWOOD, T. M.; CASSIDY, M.B.; LEE, H.; TREVORS, J.T.; LIU, D.; SEECH, A. A. Comparison of Five Bioassays to Monitor Toxicity During Bioremediation of Pentachlorophenol-Contaminated Soil. *Water, Air, & Soil Pollution*. vol. 10 N° 1-2, pp. 157-169. 1999.
- La GREGA, P.L. BUCKINGHAM, J.C. EVANS In: *Hazardous Waste Management*, McGraw-Hill, New York , pp. 859. 1994.
- LANDIS, G. W.; YU, M.H. *Introduction to environmental toxicology: Impacts of chemicals upon ecological systems*, CRC press (Lewis), Boca Raton, FL. 328p. 1995.
- LAWRENCE, M.J. Surfactants Systems: microemulsions and vesicles as vesicles for drug delivery. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacobined*. vol. 19, pp. 257-270. 1994
- LEAHY, J.G.; COLWELL, R.R. Microbial degradation of hydrocarbons in the environmental. *Microbiological Reviews*. vol. 54, N0.3. pp. 305-315, 1990.
- LIEBEG, E. W.; CUTRIGHT, T. J. The investigation of enhanced bioremediation through the addition of macro and micro nutrients in a PAHs contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*. vol. 44. pp. 55- 64. 1999.

- LICHTENSTEIN, E.P.; SCHULTZ, K.R. The effects of moisture and microorganisms on the persistence and metabolism of some organophosphorus insecticides in soils, with special emphases on parathion. *Journal of Economic Entomology*, vol.57, pp.618-627. 1964.
- LIN, S.C. Biosurfactants: recent advances. *Journal chem. Tech. Biotechnol.* vol. 66, pp. 109-120. 1996.
- LUCHESE, E.B.; FAVERO, L.O.B.; LENZI, E. Fundamentos da química do solo. Livraria Freitas Bastos Editora S.A. Rio de Janeiro. 182p. 2001.
- MADGAN, M.T.; MARTINO, J.M.; PARKER, J. Brook: *Biology of microorganisms*, Prentice Hall Ed., New Jersey. 2000.
- MAIER, R.M.; SOBERON-CHAVEZ, G. Pseudomonas aeruginosa rhamnolipids: biosynthesis and potential application. *Applied Microbiology and biotechnology*, vol. 54, pp. 625-633. 2000.
- MANIASSO, N. Ambientes micelares em química analítica. *Química Nova*, vol. 24, No 1., pp. 87-93. 2001.
- MATSUOKA, M.; MENDES, I.C.; LOUREIRO, M.F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste (MT). *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, vol. 27 Nº3, pp. 425-433. 2003.
- MENDELSSOHN, Q.L.I.A.; HENRY Jr, C.B.; ROBERTS, P. O.; WALSH, M.M.; OVERTON, E.B. e PORTIER, R.J. Effects of bioremediation agents on soil degradation in mineral and sandy salt marsh sediments. *Environmental Technology*. vol. 20, pp. 825-837. 1999.
- MILANI, J.E.; BRANDÃO, J. A. S. L.; ZÁLAN P.V.; GAMBOA, L. A. P. Petróleo na margem continental brasileira: geologia, exploração, resultados e perspectivas. *Rev. Bras. Geof.* vol.18 No.3 São Paulo 2000.
- MILLIOLI, V.S.; SANTOS, L.C. dos; RIZZO, A. C. L.; SORIANO, A. U.; SANTOS, R.L.C. dos. Evaluation of optimum concentration of two anionic surfactants in biodegradation of crude oil contaminated soil. In: 9th International FZK / TNO

Conference on Soil-Water Systems, Bordeaux / France, 3 - 7 October 2005.

MORÁN, A. C.; OLIVEIRA, N.; COMMENDATORE, M.; ESTEVES, J.L. e SINERIZ, F. Enhancement of hydrocarbon waste biodegradation by addition of a biosurfactant from *Bacillus subtilis*: Biodegradation vol. 11, pp. 65-71. 2000.

MOREIRA, M.S.F.; SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. Editora UFLA. 626p. 2002.

MIROSLAV, N.; HORAKOVA, D. Mixture of microorganisms, its use for biodegradation of hydrocarbons, as well as process for its application. Patent Number: US 5575998. 1996.

MITTAL, L.K. Handbook of micro emulsion science and technology. New York: Promod Kumar, 1999. pp.1-13.

MULLIGAN, C.N.; YONG, R.N.; GIBBS, B.F. On the use of biosurfactants for the removal of heavy metals from oil-contend soil. Environmental Progress. vol.18, pp. 50-54. 1999.

MULLIGAN, C.N.; YONG, N.R.; GIBBS, F.B. Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review. Engineering Geology, vol. 60 , pp 271-380. 2001.

MULLIGAN, C.N. Environmental applications for biosurfactants. Environmental Pollution. vol.133, pp.183-198. 2005

NASCENTES, C.C.; ARRUDA, A.Z.; MANIASSO, N. Experimentos didáticos em química analítica envolvendo separação de fases e pré-concentração. Química Nova, vol. 25. No 3. pp. 483-489. 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Natural attenuation for groundwater remediation. National Academy of Sciences, Washington, 274p. 2000.

NEDWELL, D.B. & GRAY, T.R.G. Soil and sediment as matrices for microbial growth. In: Ecological of Microbial Communities. Cambridge University Press, U.K, pp. 21-54. 1987.

- NEIVA, J. Conheça o petróleo 5ª edição. Rio de Janeiro: ao Livro Técnico e científico, 1986.
- NIELSEN, M.N. e WINDING, A. Microorganisms as indicators of soil health. Denmark, National Environmental Research Institute, (Technical Report, n.388). 84p. 2002.
- NITSCHKE, M.; PASTORE, G.M. "Biossurfactantes: propriedades e aplicações". Química Nova, vol. 25, No. 5, pp. 772-776.2002.
- NOORDMAN, W.H.; WACHER, J.J.J.; BOER, G.L. de; JANSSEN, D.B. The enhancement by biosurfactants of hexadecane degrade by *Pseudomonas aeruginosa* varies with substrate availability. Journal of Biotechnology, vol. 94; pp. 195-121. 2002.
- NYER, E. Groundwater treatment technology. New York Van Nostrand Reinhold. 306p.1992.
- NOBRE, M.M; NOBRE, R.C. Remediação de solos: Técnicas alternativas melhoram desempenho. In: Química e Derivados, Edição de 417 de julho de 2003.
- NOVA, V.N.A.; BACCHI, O.O.S.; REICHARDT, K. Potencial da água no sistema solo-planta estimado através da fase vapor. Science Agricultural. vol. 53 NO. 1, Piracicaba Jan/Abril. 1996.
- OBERBREMER, A. MULLER-HURTIG, R.; WAGNER, F. Effect of addition of microbial surfactans on hydrocarbon degradation in soil population in a stirred reactor. Applied Microbiology and biotechnology, vol. 32, pp. 485-489. 1990.
- OBLINGER, J. L. e KOBURGER, J. A. Understanding and Teaching the Most Probable Number Technique. Journal of Mik Food Tecnology. 1975
- OECD (Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests. OECD Guidelines for testing of chemical. OECD Paris. (1984a)
- OECD (Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline 208: Terrestrial Plants, Growth Test. OECD Guidelines for testing of chemical. OECD Paris. (1984b)

- OU, Z.Q. (2000). "Separate and combine environmental behavior of surfactants and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)" In: <http://tumb1.biblio.tu-muenchen.de/publ/diss/ww/2000/ou.pdf>. Acessado em março 2002.
- PALA, D.M. (2002). "Estudo da biorremediação de solo impactado por óleo cru". Orientadores: Geraldo Lippel Sant'Anna Jr. e Denize Dias de Carvalho Freire. Rio de Janeiro: COPPE/UFRJ. 114p. Dissertação (Mestrado em ciências).
- PETER, M.; ROUETTE, H.K. Grundlagen der Textilveredlung, Frankfurt am Main, pp.285-301.1989.
- PERUZZO, M.T.; CANTO, E.L. do. Química na abordagem do cotidiano. Volume único. Editora Moderna. 1ª edição. São Paulo. 512p. 1996.
- PEZESHKI, S.R., HESYER, M.W.; LIN, Q.; NYMAN, J.A. The effects of oil spill and clean up o dominant US Gulf coast marsh marophytes: a review. Environmental Pollution. 108. pp 129–139. 2000.
- PINTO, C. S. Curso básico de mecânica de solos em 16 aulas/2º edição – São Paulo, 2002.
- PIRES, A. R. P. Síntese e Propriedades de Soluções de Tensoativos Catiônicos Derivador de (3-Dimetilaminipropil) Amidas de Ácidos Carboxílicos, Tese de Doutorado, Universidade de S. Paulo, 80p. 2002.
- PIRES, F.R.; SOUZA, C.M; SILVA, A.A; PROCÓPIO, S.O.; FERREIRA, L.R. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas Planta daninha, vol.21, No.2; pp.335-341. Ago 2003
- PRADO, H. Solos tropicais - potencialidade, limitações, manejo e capacidade de uso. Piracicaba, 166p. 1995.
- PREVEDELLO, C.L. Física do solo. Editora SAEAFS; Curitiba, 250p. 1996.
- PROCÓPIO, S.O.I.; SANTOS, J.B.; PIRES, F.R.I.; SILVA, A.A.; SANTOS, E.A.; FERREIRA, L.R. Fitorremediação de solo contami-

- nado com trifloxysulfuron-sodium por mucuna-preta (*Stizolobium aterrimum*). Planta daninha, , vol.23, No.4, pp.719-724. Dez 2005.
- PORTER, M.R.; Handbook of surfactants. Blackie Academic & Professional. Second Edition. 324p. 1994.
- QUAGLIO, C.L. Química ensina a fazer suspensões estáveis. In: Química e Derivados. Ed. N° 459, março 2007.
- RATSEP, R. Biological variables for monitoring the effects of pollution in a small catchments areas. A Literature survey. Environmental. Monitory. Nord. vol. 8, pp. 6-21. 1991.
- RESENDE, M. CURI, N. RESENDE, S.B. CORRÊA, G.F. Pedologia – Base para distinção de ambientes. Viçosa: NEPUT, 2002. 338p.
- RISER-ROBERTS, V. Remediation of petroleum contaminated soil: biological, physical, and chemical process. Lewis Publishers. 542p. 1998.
- RIZZO, A.C.L.; RAIMUNDO, R. (2003). Determinação de óleos e grasas, em solo, por gravimetria empregando método de extração com ultrassom. IT2003-001-00 – Instrução de Trabalho elaborada para o CETEM.
- ROBINSON, K.G.; GHOSH, M.M.; SHI, Z. Mineralization enhanced of non-aqueous phase and soil-bound PCB using biosurfactant. Water Science and Technology, vol. 34. pp. 303-309. 1996.
- ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A.; Introdução a química ambiental – Porto Alegre, 2004.
- ROCHA, J.M.S. Aplicações de agentes tensoativos em biotecnologia. In: http://dequim.ist.utl.pt/bbio/64/pdf/agentes_tensioactivos.pdf (2003). Acessado em Janeiro de 2004.
- ROCHA, C.; SAN-BLAS, F.; SAN-BLAS, G.; VIERMA, L. Biosurfatants production by two isolates of *Pseudomas aeruginosa*. World J. Microbil. Biotech., vol. 8, pp. 125-128. 1992.
- ROJAS-AVELIZAPA, N.G.; RODRIGUEZ-VALQUEZ, R.; SAVAL-BOHORQUEZ, S.; ALVAREZ, P.J.J. Effect of C/N/P ratio and non-

- ionic surfactant on polychlorinated biphenyl biodegradation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. vol 16, N° 4, pp. 319-324. 2000.
- ROMO, L. "Coloideofísica –Coloide oquímica – Fenómenos de Superfície", d.Universitaria, Quito 1981. 639p.
- ROSENBERG, E. Exploiting microbial growth on hydrocarbon: new markets. *Trends biotechnol*, vol. 11, pp. 419-424. 1993.
- SAFWAT, H.; SHAKIR, H.; WEAVER, R.W. Earthworm survival in oil contaminated soil. *Plant and soil*. vol. 240, N°1, pp. 127-132. 2002.
- SALVINI, R.; GARCIA, J. R.; OLIVEIRA, I. R.; PANDOLFELLI, V.C. Agente espumante e seus efeitos nas propriedades físicas de alumina porosa. *Cerâmica* vol.52 N° 321 São Paulo. 2006.
- SEABRA, P. N. C. 1997. Uso de tensoativos na mobilização e biodegradação de óleo diesel em solos impactados. Tese de Mestrado. Rio de Janeiro. COPPE/UFRJ.
- SHERRY, J.P. SCOTT, B.F. NAGY, E. DUTKA, B.J. Investigation of the sublethal effects of some petroleum refinery effluents. *Journal of aquatic ecosystem stress and recovery*. Vol 3, N° 2, pp. 129-137. 1994.
- SCOTT, J.P.; OLLIS, D.F. Integration of chemical and biological oxidation processes for water treatment: review and recommendations. *Environmental Progress*. vol. 14. n° 2. pp.88–103. May.1995.
- SILVA, A.L.C.; PONSETTO, E.; ROSA, F. Tensoativos: conceitos gerais e aplicações em tintas. ART TV007 – 08/03. Oxiteno S/A Indústria e Comércio. 2003. Disponível em: <http://www.oxiteno.com.br/aplicacoes/mercados/doc/>. Acessado em Janeiro/2006.
- SINGH, R.P.; GUPTA, N.; SINGH, S.; SINGH, A.; SUMAN, R.; ANNEI, K. Toxicity of ionic and nonionic surfactants to six microbes found in Angra, India. *Bull Environmente contam. Toxicol*. vol. 69, pp. 265-270. 2002.

- SISINO, C.L.S.; BULUS, M.R.M.; MOREIRA, J.C.; RIZZO, A.C.L. Ensaio de comportamento com minhocas (*Eisenia Fetida*) para avaliação de áreas contaminadas: Resultados preliminares para contaminação por hidrocarbonetos. *Journal of the Brazilian society of ecotoxicol.*, vol. 1 Nº 2 pp. 137- 140. 41 – 44. 2006.
- TSAI, S.M.; BARAIBAR, A.V.L.; ROMANI, V.L.M.. Efeitos de fatores físicos e químicos sobre os microrganismos do solo: umidade e aeração. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. *Microbiologia do solo*. Sociedade Brasileira de ciência do solo. Campinas. 1992.
- TREVORS, J.T. Dehydrogenase activity in soil: a comparison between the INT and TTC assay. *Soil Biol. Biochem.*, vol.16, pp. 673-674, 1984.
- URUM, K.; PEKDEMIR, T. C.; OPUR, M. Optimum conditions for washing of crude oil-contaminated soil with biosurfactant solutions. *Process Safety Environ. Protect.* Vol. 81, pp. 203-209. 2003
- URUM, K., PEKDEMIR, T. C. Evaluation of biosurfactants for crude oil contaminated soil washing. *Chemosphere* vol. 57, pp. 1139–1150. 2004
- URURAHY, A. F. P. Biodegradação de resíduos oleosos proveniente de refinaria de Petróleo. Dissertação Tese de D. Sc., Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, Brasil, 127p. 1998.
- USEPA8015B. Nonhalogenated organics using CG/FID. EPA, revision 2, 28p. 1996.
- VECCHIOLI, G.L.; DEL PANNO, M.T.; PAINCEIRA, M.T. Use of selected autochthonous soil bacteria to enhance degradation of hydrocarbons in soil. *Environmental Pollution*, vol. 67 , pp. 249-258. 1990
- VOLPON, A.G.T.; VITAL, R.L.; CASELLA, R.C. Método NMP em microescala para contagem de microrganismos consumidores de hidrocarbonetos. Comunicação técnica SEBIO N. 06/98.

- WATTS, R.J.; UDELL, M.D.; MONSEN, R.M. Use of iron minerals in optimizing the peroxide treatment of contaminated soil. *Water Environmental Research*. vol. 65. n° 7. pp. 839–844. Nov/Dec. 1993.
- WALKLEY, A ; BLACK, L.A Na examination of the Detjareff method for determining soil organic matter and propose modification of the chromic titration methods. *Soil Science*. vol. 37 pp. 29–38. 1934. Apud JARAMILLO, I.R. *Fundamentos teóricos-prácticos de temas selectos de la ciencia del suelo. Parte 1* Universidad Autónoma Metropolitana, México. 1996.
- WEBER, W. J.; CORSEUIL, H.X. Inoculation of contaminates subfur-face soil with enriched indigenous microbes to enhance bioremediation rates. *Water Research*. vol. 28, N0 6, pp. 1407-1414, 1994.
- WEST, C.C. e HARWELL, J.H. Surfactant and surface remediation. *Environm. Sci. Techonol*. vol. 26, pp. 2324-2330. 1992.
- WILSON, S.C. e JONES, K.C. Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): A review, *Environ. Pollut*. vol. 81, pp. 229-249. 1993.
- YEARDLEY, R. B.; LAZORCHAK, J. M.; GAST, L. C. The potential of an earthworm avoidance test for evaluation of hazardous waste sites. *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 15 pp. 1532-1537. 1996.
- YERUSHALMI, L.; ROCHELEAU, S.; CIMPOIA, R.; SARRAZIN, M.; SUNAHARA, G.; PEISAJOVICH, A.; LECLAIR, G.; GUIOT, S.R. Enhanced biodegradation of petroleum hydrocarbons in contaminated soil. *Bioremediation Journal*, vol. 7, pp. 37–51, 2003.

SÉRIES CETEM

As Séries Monográficas do CETEM são o principal material de divulgação da produção científica realizada no Centro. Até o final do ano de 2007, já foram publicados, eletronicamente e/ou impressos em papel, cerca de 200 títulos, distribuídos entre as seis séries atualmente em circulação: Rochas e Minerais Industriais (SRMI), Tecnologia Mineral (STM), Tecnologia Ambiental (STA), Estudos e Documentos (SED), Gestão e Planejamento Ambiental (SGPA) e Inovação e Qualidade (SIQ). A Série Iniciação Científica consiste numa publicação eletrônica anual.

A lista das publicações poderá ser consultada em nossa homepage. As obras estão disponíveis em texto completo para download. Visite-nos em <http://www.cetem.gov.br/series>.

Últimos números da Série Tecnologia Ambiental

STA-49 – **Remoção de óleo e arsênio de efluente industrial utilizando xisto retornado.** Patrícia Ferreira Prado, Cláudia Duarte da Cunha, Selma Gomes Ferreira Leite e Fernando Jorge Santos Oliveira, 2008.

STA-48 – **Implantação de tecnologias de remediação de água subterrânea contaminada por gasolina em postos de abastecimento: estudo em campo e em microcosmos.** Aline Alves Soares, Cláudia Duarte da Cunha e Selma Gomes Ferreira Leite, 2008.

STA-47 – **Biorremediação de Água Subterrânea Contaminada com Gasolina e Análise Molecular da Comunidade Bacteriana Presente.** Cláudia Duarte da Cunha, Selma Gomes Ferreira Leite, Alexandre Soares Rosado e Mário do Rosário, 2008.

INFORMAÇÕES GERAIS

CETEM – Centro de Tecnologia Mineral
Avenida Pedro Calmon, 900 – Cidade Universitária
21941-908 – Rio de Janeiro – RJ

Geral: (21) 3867-7222

Biblioteca: (21) 3865-7218 ou 3865-7233

Telefax: (21) 2260-2837

E-mail: biblioteca@cetem.gov.br

Homepage: <http://www.cetem.gov.br>

NOVAS PUBLICAÇÕES

Se você se interessar por um número maior de exemplares ou outro título de uma das nossas publicações, entre em contato com a nossa biblioteca no endereço acima.

Solicita-se permuta.

We ask for interchange.