

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

Biorremediação de solos contaminados por petróleos: ênfase no uso de biorreatores

ANDRÉA C. DE LIMA RIZZO

SELMA GOMES FERREIRA LEITE

ADRIANA URURAHY SORIANO

RONALDO LUIS CORREA DOS SANTOS

LUIS GONZAGA DOS SANTOS SOBRAL

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

**Biorremediação de solos contaminados por
petróleos: ênfase no uso de biorreatores**

PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA

Luiz Inácio Lula da Silva

José Alencar Gomes da Silva

Vice-Presidente

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Sérgio Rezende

Ministro da Ciência e Tecnologia

Luís Manuel Rebelo Fernandes

Secretário Executivo

Avílio Franco

Secretário de Coordenação das Unidades de Pesquisa

CETEM – CENTRO DE TECNOLOGIA MINERAL

Adão Benvindo da Luz

Diretor do CETEM

Ronaldo Luiz Correa dos Santos

Coordenador de Processos Metalúrgicos e Ambientais

Zuleica Carmen Castilhos

Coordenadora de Planejamento, Acompanhamento e Avaliação

João Alves Sampaio

Coordenador de Processos Minerais

Antônio Rodrigues de Campos

Coordenador de Apoio à Micro e Pequena Empresa

Arnaldo Alcover Neto

Coordenador de Análises Minerais

José da Silva Pessanha

Coordenador de Administração

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

ISSN 0103-7374 ISBN 978-85-61121-03-7

STA-37

Biorremediação de solos contaminados por petróleos: ênfase no uso de biorreatores

Andréa C. de Lima Rizzo

Eng. Química, M.Sc. em Tecnologia e Processos Químicos e
Bioquímicos, Tecnologista Pleno do CETEM/MCT

Selma Gomes Ferreira Leite

Eng. Química, D.Sc. em Tecnologia de Processos Químicos e
Bioquímicos, Professora Titular do Depto. Engenharia Bioquímica
da Escola de Química/UFRJ

Adriana Ururahy Soriano

D.Sc. em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos,
Consultora Técnica CENPES/Petrobras

Ronaldo Luis Correa dos Santos

Eng. Químico, M.Sc. em Eletroquímica, Pesquisador Titular do
CETEM/MCT

Luis Gonzaga dos Santos Sobral

Eng. Químico, Ph.D. em Hidrometalurgia, Pesquisador Titular do
CETEM/MCT

CETEM/MCT

2006

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 minero-metalúrgico, nas áreas de tratamento e recuperação ambiental, que tenham sido desenvolvidos, ao menos em parte, no CETEM.

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

Jackson de Figueiredo Neto

Coordenação editorial

Maria Helena Hatschbach

Revisão

Thatyana Pimentel Rodrigo de Freitas

Revisão de provas

Ana Sofia Mariz

Capa e Editoração eletrônica

Rizzo, Andrea C. de Lima

Biorremediação de solos contaminados por petróleo: ênfase no uso de biorreatores/ Andrea C. L. Rizzo, Selma G. F. Leite, Adriana U. Soriano, Ronaldo L.C Santos, Luis G. S. Sobral. — Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2007.

76p. (Série Tecnologia Ambiental, 37)

1. Solo contaminado por petróleo 2. Biorremediação. 3. Solos. 4. Petróleo. I. Centro de Tecnologia Mineral. II. Leite, Selma G. F. III. Soriano, Adriana U. IV. Santos, Ronaldo C. V. Sobral, Luis G. VI. Título. VII. Série.

CDD – 661.81

SUMÁRIO

RESUMO | ABSTRACT ▶ 7

1 | INTRODUÇÃO ▶ 9

**2 | PETRÓLEO: ORIGEM, COMPOSIÇÃO E ATIVIDADES
POTENCIALMENTE POLUIDORAS ▶ 13**

3 | SOLO ▶ 16

3.1 | Aspectos gerais ▶ 16

3.2 | Contaminação dos solos ▶ 18

**4 | BIORREMEDIAÇÃO: ASPECTOS GERAIS E FATORES QUE AFETAM O
PROCESSO ▶ 21**

4.1 | Aeração ▶ 21

4.2 | Nutrientes ▶ 22

4.3 | Umidade ▶ 23

4.4 | PH ▶ 23

4.5 | Temperatura ▶ 23

4.6 | Agitação ▶ 24

4.7 | Disponibilização dos contaminantes ▶ 25

4.8 | Tipo de solo ▶ 26

**5 | ESTRATÉGIAS DE AUMENTO DA EFICÁCIA DOS PROCESSOS DE
BIORREMEDIAÇÃO ▶ 28**

5.1 | Bioestímulo ▶ 28

5.2 | Bioaumento e Bioenriquecimento ▶ 29

5.3 | Surfactantes ▶ 31

5.4 | Engenharia Genética ▶ 32

5.5 | Adição material estruturante ▶ 33

**6 | TECNOLOGIAS PARA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS
CONTAMINADOS ▶ 36**

7 | BIORREACTORES ▶ 40

7.1 | Tipos de Biorreatores ▶ 42

**8 | ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS
CONTAMINADOS POR HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO ▶ 52**

8.1 | Os microrganismos do solo e seu papel na degradação de
poluentes orgânicos ▶ 53

8.2 | Mecanismos de biodegradação de hidrocarbonetos e
aspectos bioquímicos relacionados ▶ 59

9 | REFERÊNCIAS ▶ 68

RESUMO

A elevada potencialidade do uso de microrganismos, apontados na literatura como agentes degradadores das mais diversas substâncias, aliada ao cada vez mais freqüente emprego da biotecnologia, indicam o tratamento biológico como um dos mais eficientes meios de reduzir os efeitos adversos dos hidrocarbonetos sobre o meio ambiente. Desta forma, a aplicação de técnicas de biorremediação vêm se destacando como uma das estratégias mais promissoras a serem adotadas no tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo. A biorremediação, ao contrário dos processos físicos e químicos, é considerada como um método seguro, eficiente e mais barato para remoção de poluentes perigosos.

A biorremediação de solos, quando comparada com processos químicos e físicos, é uma alternativa ecologicamente mais segura e eficiente para reduzir a poluição por contaminantes orgânicos. Esta tecnologia é baseada na utilização de microrganismos para transformar os poluentes em substâncias com pouca ou nenhuma toxicidade. Este processo pode tornar-se ainda mais efetivo através da utilização de aditivos tais como: nutrientes, mais microrganismos, surfatantes, enzimas comerciais, dentre outros.

O termo biorremediação engloba uma série de tecnologias e técnicas distintas para tratamento não só de solos, mas

ABSTRACT

The high potentiality of microorganisms use, pointed out in the literature as degrading agents of several substances, combined to the ever frequent use of the biotechnology, indicate the biological treatment as one of the most efficient means of reducing the adverse effects of hydrocarbons on the environment. Thus, the application of bioremediation techniques is being distinguished as one of the most promising strategies to be adopted in the treatment of polluted soils by petroleum hydrocarbons. The bioremediation, unlike the physical and chemical processes, is considered as a safe, efficient and cheaper method for removing dangerous pollutants.

The bioremediation of soils, when compared with chemical and physical processes, is an ecologically safer and efficient alternative to reduce the organic pollution. This technology is based on the use of microorganisms to transform those pollutants in substances with little or any toxicity. This process can still become more effective through the use of additive such as: nutrients, more microorganisms, surfactants, and commercial enzymes, among others.

The term bioremediation includes a series of technologies and different techniques for treating not only soils, but also polluted waters and other residues, and that can be classified as *in-situ* or *ex-situ* treatment processes.

também de águas contaminadas e outros resíduos, e que podem ser classificadas como processos de tratamento *ex-situ* ou *in-situ*

No caso específico da biorremediação de solos contaminados, tanto a aplicação de técnicas de tratamentos *in-situ*, quanto de tratamentos *ex-situ* em fase sólida, muitas vezes tornam-se inviáveis sob o ponto de vista técnico (limitações geológicas da área contaminada, dificuldades operacionais, fortes influências climáticas dentre outros) e/ou econômico (custo elevado). Desta forma, a utilização de biorreatores surge como uma alternativa interessante, apresentando como principais vantagens a possibilidade de monitoramento contínuo da performance do sistema, o controle das condições ideais de processo, imprescindíveis à manutenção da atividade microbiana, e o reduzido tempo de remediação.

Palavras-chave: Biorremediação, Solo, Petróleo, Biorreatores

In the specific case of bioremediation of polluted soils, either the application of *in-situ* treatment techniques, or *ex-situ* treatments in solid phase, become many times unfeasible under the technical point of view (geological limitations of the polluted area, operational difficulties, strong climatic influences among other) and/or economical (high cost). Thus, the use of bioreactors appears as an interesting alternative, presenting as main advantages the possibility of continuous monitoring of the system performance, the control of the process ideal conditions, necessary to the maintenance of the microbial activity, and the reduced remediation time.

Key-words: Bioremediation, Soil, Petroleum, Bioreactors

1 | INTRODUÇÃO

Com o processo de industrialização e o desenvolvimento de tecnologias e produtos cada vez mais avançados, não só o progresso e o bem-estar foram gerados. Problemas ligados à poluição ambiental se acentuaram e trouxeram como consequência a necessidade da conscientização quanto à importância da restrição de lançamentos indiscriminados de poluentes nos solos, rios, lagos, oceanos e na atmosfera, bem como investimentos no desenvolvimento e implementação de tecnologias de remediação.

A indústria petroleira brasileira, como exemplo, principalmente refinarias e áreas de produção de petróleo, eventualmente se depara com vazamentos de substâncias oleosas (óleo cru e/ou seus derivados) que atingem tanto os recursos hídricos quanto os solos. As tecnologias para tratamento de águas contaminadas com substâncias oleosas encontram-se em um estágio de desenvolvimento bem mais avançado do que as tecnologias para o tratamento de solos impactados por essas mesmas substâncias. Em decorrência desta realidade torna-se cada vez mais urgente a necessidade de se desenvolver e aplicar uma tecnologia eficiente de tratamento dos solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo que comporte grande carga orgânica e que envolva tempo e custo de processo reduzidos.

A elevada potencialidade do uso de microorganismos, apontados na literatura como agentes degradadores das mais diversas substâncias, aliada ao cada vez mais freqüente emprego da biotecnologia, indicam o tratamento biológico como um dos mais eficientes meios de reduzir os efeitos adversos dos hidrocarbonetos sobre o meio ambiente (ALEXANDER, 1999). Desta forma, a aplicação de técnicas de biorremediação vêm se destacando como uma das estratégias mais promissoras a serem adotadas no tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo (TRINDADE, 2005). Segundo Provident *et al.* (1993), a biorremediação, ao contrário dos processos físicos e químicos, é considerada como um método seguro, eficiente e mais barato para remoção de poluentes perigosos.

Define-se como biorremediação a família de tecnologias que se baseia em processos nos quais organismos vivos, em geral microrganismos e/ou plantas, são responsáveis pela remoção ou redução de poluentes ambientais.

Segundo Bernoth *et al.* (2000), tanto compostos orgânicos como inorgânicos podem ser biodegradados ou transformados através de processos microbianos. Nas aplicações mais comuns da biorremediação, microrganismos que ocorrem naturalmente em solos, ou águas, contaminados são estimulados a acelerar a degradação de contaminantes orgânicos, como hidrocarbonetos de petróleo, através da manipulação de condições ambientais tais como suprimento de oxigênio, concentração de nutrientes e teor de umidade.

O termo biorremediação engloba uma série de tecnologias e técnicas distintas para tratamento não só de solos, mas também de águas contaminadas e outros resíduos, e que podem ser classificadas como processos de tratamento *ex-situ* ou *in-situ*. Os processos de tratamento *ex-situ* são aqueles que envolvem a remoção física do material contaminado do local original e o encaminhamento do mesmo para o processo de tratamento em si, que ocorre em outro local (BOOPATHY, 2000). Por outro lado, os processos de tratamento *in-situ* são baseados no estímulo à biodegradação natural de contaminantes na sub-superfície do solo e da água, sem a escavação da camada superficial do solo, através da adição de nutrientes (principalmente nitrogênio, fósforo e potássio), oxigênio e, em alguns casos, microrganismos. Normalmente os processos de tratamento *in-situ* são associados a sistemas de bombeamento e recirculação da água, de forma a transportar nutrientes e oxigênio aos aquíferos contaminados e solos associados (ROSS, 1990/91).

Dentre as principais tecnologias empregadas na biorremediação podem ser citadas: Bioventing, Air Sparging, Biosparging, Pump-and-treat, Fitorremediação, Landfarming, Compostagem, Biopilhas e os Biorreatores (TRINDADE, 2005; SEMPLE *et al.*, 2001; JORGENSEN *et al.*, 2000; BOOPATHY, 2000; BERNOTH *et al.*, 2000; ALEXANDER, 1999; ROSS, 1990/91; BARKER *et al.*, 1995). A elas pode-se associar técnicas específicas visando o aumento da atividade microbiana como, por

exemplo, o bioestímulo, o bioaumento, a adição de biossurfactantes e a incorporação de matérias estruturantes.

Atualmente, cresce o número de trabalhos envolvendo o uso de biorreatores para tratamento de solos contaminados e de resíduos sólidos (COLLINA *et al.*, 2005; NANO *et al.*, 2003; TROQUET *et al.*, 2003; WARD *et al.*, 2003; RICHNOW *et al.*, 2000; BRINKMANN *et al.*, 1998; URURAHY, 1998; SANER *et al.*, 1996a; SANER *et al.*, 1996 b; BANERJEE *et al.*, 1995; BANERJI *et al.*, 1995; PUSKAS *et al.*, 1995; GRAY *et al.*, 1994; PROVIDENTI *et al.*, 1993).

No caso específico da biorremediação de solos contaminados, tanto a aplicação de técnicas de tratamentos *in-situ*, quanto de tratamentos *ex-situ* em fase sólida, muitas vezes tornam-se inviáveis sob o ponto de vista técnico (limitações geológicas da área contaminada, dificuldades operacionais, fortes influências climáticas dentre outros) e/ou econômico (custo elevado). Desta forma, a utilização de biorreatores surge como uma alternativa interessante, apresentando como principais vantagens a possibilidade de monitoramento contínuo da performance do sistema, o controle das condições ideais de processo, imprescindíveis à manutenção da atividade microbiana, e o reduzido tempo de remediação (GOGOI *et al.*, 2003; WARD *et al.*, 2003; RICHNOW *et al.*, 2000; WOO E PARK, 1999; STROO *et al.*, 1997; TRUAX *et al.*, 1995). Dentre outros fatores que fortalecem esta tendência, chama-se atenção para o fato de que o movimento restrito dos microrganismos no solo, em muito afeta a biodegradação dos contaminantes, uma vez que se torna pequeno o acesso dos mesmos aos nutrientes e aos próprios contaminantes a serem degradados (PROVIDENTI *et al.*, 1993). Em um biorreator essa limitação pode ser totalmente contornada através da instalação de um sistema de homogeneização/mistura adequado.

O emprego de biorreatores torna-se uma alternativa ainda mais promissora nos casos de contaminação de solos de natureza argilosa, em função da baixa aplicabilidade das demais técnicas de biorremediação neste tipo de solo. Isto se deve à característica de baixa permeabilidade apresentada pelos solos argilosos, o que dificulta a incorporação, em sistemas de mistura deficiente, de oxigênio

e nutrientes fundamentais à biodegradação. No tratamento em biorreatores esta dificuldade é contornada, uma vez que estes possuem sistemas eficientes de homogeneização e aeração.

2 | PETRÓLEO: ORIGEM, COMPOSIÇÃO E ATIVIDADES POTENCIALMENTE POLUIDORAS

Ao longo da história da Terra, grande quantidade de organismos animais e vegetais foi, lentamente, depositando-se no fundo dos lagos e mares. Pela ação do calor e da pressão, provocada pelo seguido empilhamento das camadas geológicas, estes depósitos orgânicos foram transformados, face às reações termoquímicas, em petróleo (óleo cru e gás). O petróleo bruto possui em sua composição uma cadeia de hidrocarbonetos, cujas frações leves formam os gases e as frações pesadas o óleo cru. Por isto, o petróleo é definido como uma mistura complexa de hidrocarbonetos sólidos, líquidos e gasosos (CORRÊA, 2003).

O petróleo foi um dos primeiros recursos naturais que nossos antepassados aprenderam a usar. No entanto, sua utilização mais intensa só começou por volta de 1847, quando um comerciante de Pittsburg (Pensilvânia, EUA) começou a engarrafar e vender petróleo proveniente de vazamentos naturais, para ser utilizado como lubrificante (CORRÊA, 2003). Cinco anos mais tarde (1852), um químico canadense descobriu que o aquecimento e a destilação do petróleo produzia um líquido que podia ser utilizado em lâmpadas, o querosene. No entanto, somente em agosto de 1859 foi perfurado o primeiro poço de petróleo em Titusville, Pensilvânia (EUA). A partir daí o petróleo passou a ser utilizado em larga escala, substituindo os combustíveis disponíveis, principalmente o carvão, na indústria, e os óleos de rícino e de baleia, na iluminação. Com a invenção dos motores a explosão, no final do século XIX, começou-se a empregar frações até então desprezadas do petróleo, e suas aplicações multiplicaram-se rapidamente. No final do século XIX, dez países já extraíam petróleo de seus subsolos (PETROBRAS, 2005).

No Brasil, apesar das primeiras concessões terem sido outorgadas pelo Imperador, em 1858, na Bahia, e da primeira perfuração ter sido realizada no final do século XIX em Bofefes, São Paulo, foi somente

a partir de 1919 que as atividades de perfuração se tornaram mais frequentes. Em 1939, na localidade de Lobato, na Bahia, foi obtido petróleo pela primeira vez no território brasileiro, surgindo assim a indústria nacional do petróleo (PETROBRAS, 2005).

O petróleo é uma matéria-prima essencial à vida moderna, sendo o componente básico de mais de 6.000 produtos. Dele se produz gasolina, combustível de aviação, gás de cozinha, lubrificantes, borrachas, plásticos, tecidos sintéticos, tintas e até mesmo energia elétrica (Figura 1). O petróleo é responsável ainda por cerca de 34% da energia utilizada no Brasil (PETROBRAS, 2005).

Conforme citado anteriormente, o petróleo é um produto da decomposição de matéria orgânica armazenada em sedimentos, que migra através de aquíferos e fica aprisionado em reservatórios. Aproximadamente 600 bilhões de barris de petróleo já foram extraídos do subsolo, porém, muito óleo adicional tem sido localizado por perfurações e ainda está para ser extraído. No entanto, uma grande quantidade permanece para ser encontrada. Estima-se que, considerando todas as bacias sedimentares do mundo, algo em torno de 1.500 e 3.000 bilhões de barris de petróleo poderão ainda vir a serem descobertos (CORRÊA, 2003).

Da etapa de exploração até a comercialização de seus derivados (“do poço ao posto”) alguns impactos ambientais podem ser identificados durante o processamento do petróleo. Esses impactos vão desde as consequências dos estudos sísmicos realizados na etapa de exploração, passando pela geração de resíduos (sólidos e líquidos) e emissões atmosféricas durante o processo de refino, até as consequências de eventuais vazamentos acidentais ocorridos em terra ou em mar.

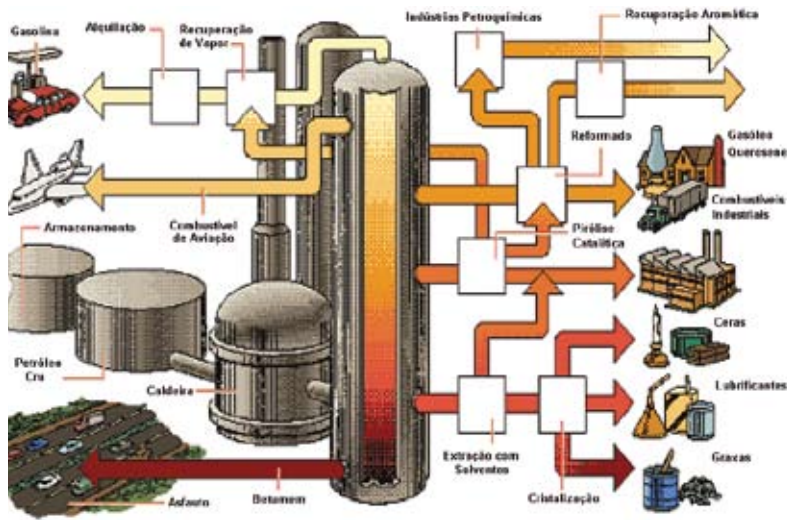


FIGURA 1: Importância do petróleo na vida moderna.

Nas fases de perfuração e produção, os cuidados maiores são com o lançamento de resíduos, entre eles a lama de perfuração, além da prevenção e do controle de acidentes nos poços. No transporte de petróleo e derivados a preocupação é com a adoção de medidas preventivas e de controle, para evitar derrames de óleo. Nas refinarias, tem-se desenvolvido e implantado sistemas de tratamento para todas as emissões atmosféricas potencialmente poluidoras (chaminés, filtros, etc.) e para os despejos líquidos, que são tratados por processos físico-químicos e/ou biológicos. Já os resíduos sólidos podem ser encaminhados para reciclagem (quando possível) ou serem tratados em unidades de recuperação de óleo e/ou de tratamento biológico (biorremediação) (PETROBRAS, 2005). Pode-se afirmar que de todas as etapas que compõem a cadeia produtiva do petróleo, a produção em terra e o refino são as que potencialmente podem vir a poluir os solos.

3 | SOLO

3.1 | Aspectos gerais

O Planeta Terra é constituído de três partes, a atmosfera, a hidrosfera e a geosfera, que interagem constantemente entre si através da ação de agentes físicos, químicos e biológicos. Dessa interação permanente surgiu o solo, definido como uma mistura de compostos minerais e orgânicos, que continua em constante transformação, pois as interações não param de acontecer. Além disso, a ação antropogênica tem agilizado de forma assustadora essas transformações (LUCHESE *et al.*, 2001).

Em um solo encontram-se três fases fundamentais (Figura 2): a sólida, a líquida e a gasosa.

A fase sólida ocupa 50%, em média, do volume total de um solo, sendo constituída por minerais provenientes da decomposição da rocha mãe pela meteorização ou intemperismo, e da matéria orgânica, em constante processo de mineralização e humificação. A concentração de matéria orgânica presente em um solo pode variar de 0,5% em solos desérticos, até 95%, em solos turfosos, sendo que essa concentração normalmente decresce à medida que a profundidade do solo aumenta (LUCHESE *et al.*, 2001).

A fase líquida, ou solução do solo, encontra-se nos espaços vazios da fase sólida, denominados poros do solo, e pode ocupar entre 15 e 35% do volume total do solo. Nessa solução encontram-se os nutrientes na forma iônica ou complexados (LUCHESE *et al.*, 2001).

Da mesma forma, a fase gasosa, ou ar do solo, encontra-se nos poros da fase sólida e, por esse motivo, disputa o mesmo espaço com a fase líquida. Seus volumes são inversamente proporcionais. Num momento de capacidade máxima de retenção de água de um solo, o teor de ar desse solo tende a zero. O ar do solo assemelha-se ao ar atmosférico, pois provém desse. No entanto, a atividade biológica do solo, dentre outros fatores, podem causar alterações na composição do mesmo (LUCHESE *et al.*, 2001).

Como se observa, a composição dos solos pode ser variável, sendo normalmente dependente das características da sua formação. Porém, de modo geral, costuma-se dizer que um solo constitui-se de (Figura 2): 20-30% de ar, 20-30% de água, 45% de minerais e 5% de matéria orgânica.

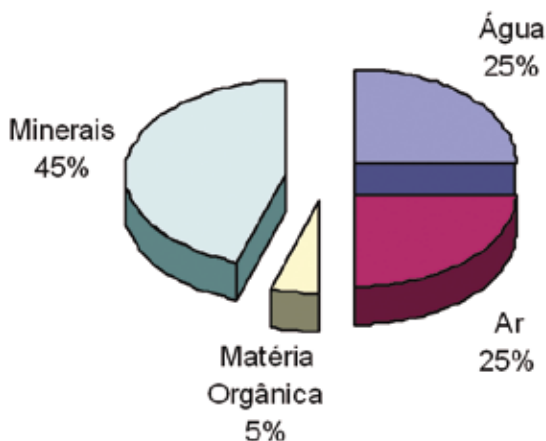


FIGURA 2: Representação esquemática da composição do solo.

O solo é dividido em camadas horizontais, chamada horizontes (Figura 3). As características que podem ser levadas em conta para diferenciação dos horizontes dependem do conhecimento da pessoa que está realizando o trabalho e são baseada em alguns critérios como textura, cor, consistência, estrutura, atividade biológica, tipo de superfície dos agregados etc.

Normalmente o solo possui três horizontes bem fáceis de distinguir: o horizonte O, que representa a matéria orgânica presente na superfície; o horizonte A, que representa a região em que o solo perde material para as camadas mais profundas e o horizonte B, local em que se acumulam os materiais perdidos pelo horizonte A.

Outras camadas importantes para se distinguir um perfil de solo são os horizontes C e R, caracterizados pela rocha matriz decomposta (C) e não decomposta (R).

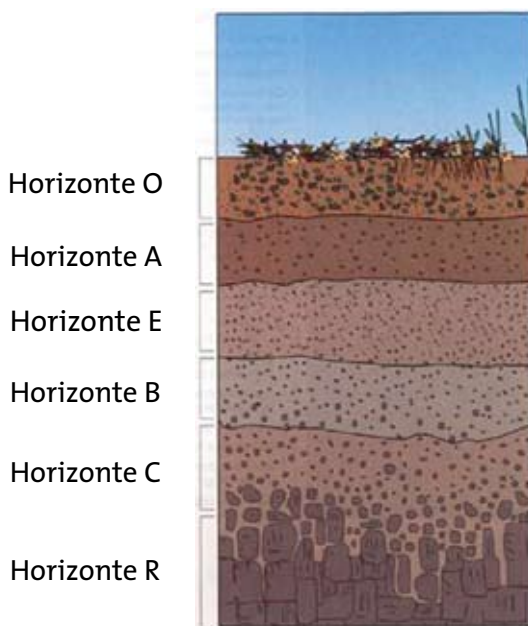


FIGURA 3: Horizontes do solo.

3.2 | Contaminação dos solos

O solo é reconhecido como um recurso natural básico, sendo um componente fundamental dos ecossistemas e dos ciclos naturais, um reservatório de água, um suporte essencial da atividade agrícola e um espaço para as atividades humanas. No entanto, a integridade desse recurso pode, algumas vezes, ser comprometida por atividades antropogênicas inerentes ao desenvolvimento sócio-econômico da humanidade, quando as mesmas são realizadas sem o comprometimento com a preservação ambiental. A degradação do solo pode ocorrer por meio da desertificação, pelo uso de tecnologias inadequadas, pela falta de conservação, pela destruição da vegetação (desmatamento ou queimadas), dentre outros.

A contaminação do solo e do subsolo consiste na deposição, disposição, descarga, infiltração, acumulação, injeção ou aterramento de substâncias ou produtos poluentes, em estado sólido, líquido ou

gasoso. Assim, pode-se concluir que essa contaminação ocorrerá sempre que houver adição de compostos que modifiquem as características naturais do solo e suas utilizações, produzindo efeitos negativos no mesmo (AMBIENTE BRASIL, 2005).

A contaminação de solos pela introdução de óleo no meio ambiente não se constitui em uma novidade; ao contrário, há registros desse tipo de poluição desde 1754. No entanto, conforme citado por Ururahy (1998), foi a partir da década de 60 que as atenções se voltaram para essa realidade e várias técnicas de tratamento passaram a ser adotadas. Essas técnicas baseiam-se em processos físicos (lavagem, extração a vapor), químicos (extração por solvente, processos oxidativos avançados – POAs, desalogenação química, correções superficiais), térmicos (dessorção térmica, incineração) e biológicos (landfarming, biopilhas, biorreatores, etc.). No entanto, o tipo de tratamento a ser adotado deve ser analisado individualmente, avaliando-se as peculiaridades de cada resíduo e os custos envolvidos. Na Tabela 1 encontram-se os custos relativos a alguns dos diferentes tipos de tratamento empregados para solos contaminados.

TABELA 1: Custo estimado de remediação de solos para diferentes tipos de tratamento.

Tratamento	Custo estimado de remediação (U\$/ tonelada)
Remoção para Aterros	Acima de 100
Processos Físicos:	
Lavagem do solo	25-150
Lavagem físico-química	50-175
Extração a vapor	75
Processos Químicos:	
Extração por solvente	50-600
Desalogenação química	175-450
Correções superficiais	10-25

Tratamento	Custo estimado de remediação (U\$/ tonelada)
Tratamentos Térmicos:	
Dessorção térmica	25-225
Incineração	50-1200
Tratamentos Biológicos:	
<i>Landfarming</i>	10-90
<i>Bioventing</i>	15-75
<i>Bioslurry</i>	50-85
Biopilhas	15-35
Biorremediação in-situ	175

Fonte: SEMPLE *et al.*, 2001 apud TRINDADE, 2002.

No que toca aos processos biológicos de tratamento de solos, uma variedade de tecnologias já são utilizadas freqüentemente, e novas e promissoras ferramentas têm sido desenvolvidas a fim de alcançar estágios avançados de tratamento, conforme poderá ser verificado oportunamente ao longo deste trabalho. No entanto, a aceitação da biorremediação como uma tecnologia viável ainda depende da relação custo/benefício e os métodos empregados precisam ter no máximo os mesmos valores dos tratamentos químicos e físicos existentes (TRINDADE, 2002).

4 | BIORREMEDIAÇÃO: ASPECTOS GERAIS E FATORES QUE AFETAM O PROCESSO

A biorremediação engloba uma família de tecnologias que se baseia em processos microbianos de remoção ou redução, completa ou parcial, de poluentes ambientais.

O estabelecimento de condições ambientais adequadas é fundamental para que o processo de biorremediação aconteça de forma eficaz. Caso isto não ocorra, o crescimento e a sobrevivência dos microrganismos envolvidos no processo de degradação serão severamente afetados e, conseqüentemente, a biorremediação dos compostos poluentes ficará comprometida.

Providenti *et al.* (1993) afirmam que as condições ambientais podem afetar o processo de biodegradação em dois níveis: influenciando o crescimento e a atividade microbiana e influenciando também as propriedades físicas e químicas dos poluentes. Os efeitos das diferentes condições ambientais impostas ao sistema solo/poluentes/microbiota podem ser interativos, o que torna difícil prever-se um modelo de comportamento deste sistema. A otimização das condições ambientais é, portanto, uma etapa fundamental no desenvolvimento de qualquer tecnologia a ser adotada no processo de biorremediação de solos contaminados.

A seguir são apresentados alguns dos principais fatores que afetam o processo de biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo.

4.1 | Aeração

Condições aeróbias são necessárias para que ocorra a biodegradação relativamente rápida de hidrocarbonetos de petróleo, uma vez que a degradação anaeróbia destes compostos já foi demonstrada como sendo extremamente lenta (BANERJI *et al.*, 1995).

O oxigênio é utilizado pelos microrganismos não só como acceptor final de elétrons na respiração aeróbia, mas também como substrato nas reações biodegradativas catalisadas pela enzima oxigenase.

Isto inclui o rompimento dos anéis, a hidroxilação dos compostos aromáticos e a oxidação dos compostos alifáticos (PROVIDENTI *et al.*, 1993). A adequada aeração do sistema solo/contaminante é, portanto, essencial ao processo de biodegradação aeróbia.

4.2 | Nutrientes

Para sobreviver, os microrganismos, de uma forma geral, necessitam de fontes de nutrientes e de um acceptor final de elétrons. Organismos aeróbios envolvidos no processo de biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo, como citado anteriormente, utilizam o oxigênio como acceptor final de elétrons e o carbono orgânico, proveniente dos contaminantes, como fonte de carbono. Nitrogênio, fósforo e potássio são, por sua vez, os principais nutrientes inorgânicos adicionados, se necessário, durante os processos de biorremediação. Com o objetivo de prevenir limitações nutricionais durante o tratamento biológico utiliza-se, normalmente, a relação C:N:P:K de 100:10:1:1, baseada no teor de carbono orgânico (LALLY E RUSSEL, 1996). No entanto, Deuel e Holliday (1997) sugerem uma relação C:N:P:K de 150:1:0,25:0,25 como sendo suficiente para suportar o crescimento e a atividade microbiana durante o processo de degradação de poluentes orgânicos em solos.

O nitrogênio pode ser adicionado na forma de uréia, cloreto de amônio ou nitrato de amônia. Segundo Alexander (1999), essas fontes de nitrogênio são facilmente assimiladas pelo metabolismo bacteriano. Já o fósforo pode ser adicionado na forma de fosfato de sódio, fosfato de potássio, sais ortofosfórico e polifosfato (DEUEL E HOLLIDAY, 1997).

Muitos estudos relatam que a adição de nitrogênio e fósforo aumenta a biodegradação de óleo cru e seus derivados, sem que sejam observados danos ao meio ambiente (LEAHY E COLWELL, 1990; MARGESIN E SCHINNER, 1997; WALWORTH *et al.*, 1997; LIN *et al.*, 1999). No entanto, Soriano (2001) verificou que, em estudo visando o estabelecimento das relações nutricionais adequadas para a biorremediação de solo areno-argiloso contaminado por óleo cru, dosagens

excessivas destes nutrientes, principalmente do nitrogênio, podem interferir negativamente no processo de biodegradação. O mesmo efeito inibitório foi comprovado por Trindade *et al.* (2005).

4.3 | Umidade

Durante o processo de biorremediação de solos contaminados, o teor de umidade deve ser mantido entre 50-80% da capacidade de campo do solo para que taxas ótimas de degradação sejam obtidas (DEUEL E HOLLIDAY, 1997). Woo e Park (1999) citam que para o caso específico do tratamento em biorreatores, na prática, o teor de umidade necessário à operação ótima do sistema vai variar de acordo com a textura do solo contaminado.

Sabe-se que reduzidos teores de umidade afetam negativamente o metabolismo microbiano, a movimentação dos microrganismos no solo, assim como o transporte dos nutrientes através deste. Por outro lado, teores excessivos de umidade limitam o transporte de oxigênio no solo (PROVIDENTI *et al.*, 1993). A definição do teor de umidade adequado a ser adotado no tratamento biológico de solos contaminados, seja em biorreatores, seja em biopilhas ou *landfarming*, constitui-se, portanto, numa etapa fundamental da otimização do processo de biorremediação.

4.4 | PH

A atividade microbiana é fortemente dependente do pH do meio. Da mesma forma, a solubilidade dos contaminantes e a sorção destes ao solo podem variar em função do pH (PROVIDENTI *et al.*, 1993). Segundo Alexander (1999), nas faixas de pH em torno da neutralidade a biodegradação tende a ser mais efetiva.

4.5 | Temperatura

A temperatura tem profundo efeito não só nas características físicas (solubilidade, sorção, viscosidade, volatilização) dos hidrocarbonetos contaminantes presentes no solo, mas também no metabolismo microbiano (PROVIDENTI *et al.*, 1993; BANEJI *et al.*, 1995). Em temperaturas baixas, hidrocarbonetos líquidos se trans-

formam em parafinas sólidas, hidrocarbonetos solúveis precipitam e ocorre uma queda considerável na solubilidade desses. Estas características físicas alteradas podem interferir significativamente na disponibilização destes contaminantes para os microrganismos responsáveis pela biodegradação, afetando assim as taxas de degradação dos mesmos.

4.6 | Agitação

Os microrganismos, como se sabe, não se dispersam facilmente no solo e não possuem a habilidade de se movimentar de um ponto de contaminação para outro. Este movimento restrito dos microrganismos no solo pode afetar severamente a biodegradação dos contaminantes, uma vez que o substrato precisa estar disponível e acessível tanto para os microrganismos quanto para suas enzimas extracelulares, para que a metabolização dos mesmos ocorra (PROVIDENTI *et al.*, 1993). O movimento é importante para que os microrganismos atinjam as interfaces onde nutrientes, contaminantes e outros microrganismos estejam agregados. Para que a biodegradação efetiva de compostos pouco solúveis ocorra é necessário um contato estreito entre as células e os poluentes.

A adição de água, citada por muitos autores como uma alternativa atrativa, pode auxiliar no aumento do movimento microbiano, porém, esbarra na possibilidade de lixiviação dos poluentes para o lençol freático (no caso de tratamento *in-situ*) e na limitação ao transporte de oxigênio no meio, quando teores excessivos de umidade são adicionados (PROVIDENTI *et al.*, 1993).

Freqüentemente a agitação mecânica, utilizada em algumas técnicas de biorremediação para aumentar a aeração do solo, facilita também a dispersão desse microrganismos degradadores (PROVIDENTI *et al.*, 1993). Diferentes sistemas de agitação vêm sendo estudados de forma a maximizar o contato entre microrganismos e contaminantes durante o processo de biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo (ICP, 2003; ALEF E NANNIPIERI, 1995).

4.7 | Disponibilização dos Contaminantes

A baixa disponibilização, para os microrganismos, de muitos dos contaminantes encontrados em solos é um dos principais fatores que interferem no processo de biodegradação. Mesmo quando microrganismos capazes de degradar os poluentes estão presentes no sistema e todas as condições ambientais estão adequadas, a inabilidade destes microrganismos em entrar em contato com os compostos poluentes pode vir a interferir negativamente nas taxas de degradação (PROVIDENTI *et al.*, 1993).

Não são só as limitações relacionadas ao movimento restrito dos microrganismos no solo, citadas anteriormente, que podem afetar severamente a biodegradação dos contaminantes. Vários autores (BOOPATHY, 2000; ALEF E NANNIPIERI, 1995; PROVIDENTI *et al.*, 1993) indicam que a baixa solubilidade destes contaminantes é um dos fatores que podem influenciar o crescimento microbiano e, conseqüentemente, a biodegradação dos hidrocarbonetos. Em geral, quanto maior a solubilidade do contaminante em água, mais biodegradável esse será (BANERJI *et al.*, 1995).

Adicionalmente, são sugeridos outros possíveis fatores limitantes à biodegradação como, por exemplo, a não emulsificação adequada dos hidrocarbonetos, o que resulta em pequenas áreas superficiais para contato com as células microbianas. Sabe-se que microrganismos que apresentam a capacidade de adesão a compostos hidrofóbicos podem solubilizá-los e, assim, promover a metabolização e a degradação dos mesmos (PROVIDENTI *et al.*, 1993). Sendo assim, uma tentativa de incremento da metabolização e da possibilidade de biodegradação de hidrocarbonetos contaminantes é aumentar a solubilização destes substratos empregando-se, por exemplo, surfactantes e emulsificantes (ALEXANDER, 1999). Os surfactantes, em particular, podem interagir com os compostos presentes nos hidrocarbonetos de petróleo e aumentar a solubilidade dos mesmos em água (BANERJI *et al.*, 1995). Desta forma, a presença de surfactantes, naturais ou sintéticos, torna estes compostos disponíveis aos microrganismos e conseqüentemente à biorremediação.

Diversos pesquisadores (RAHMAN *et al.*, 2003; NITSCHKE E PASTORE, 2002; ALEXANDER, 1999; BANAT, 1995; BANERJI *et al.*, 1995; PROVIDENTI *et al.*, 1993) vêm investigando o uso de emulsificantes e surfactantes produzidos microbiologicamente para aumentar a biodegradação de compostos hidrofóbicos, como os hidrocarbonetos de petróleo. Uma das principais vantagens do emprego dos bioemulsificantes ou biosurfactantes (normalmente glicolipídeos) é a sua biodegradabilidade, baixa toxicidade e elevada eficácia em algumas situações.

O uso dos surfactantes, em particular dos biosurfactantes, é um método promissor de disponibilização dos contaminantes à atividade microbiana, principalmente quando empregado em associação com tecnologias de tratamento *ex-situ* de solos contaminados. No entanto, o seu uso associado a tecnologias de tratamento *in-situ* pode causar a lixiviação dos poluentes hidrofóbicos para o lençol freático devido ao aumento da mobilidade dos mesmos (PROVIDENTI *et al.*, 1993).

4.8 | Tipo de Solo

No caso do tratamento biológico de solos contaminados, o tipo de solo a ser tratado também exerce papel importante na determinação da eficiência da biodegradação.

A metabolização e a biodegradação de muitos poluentes podem ser limitadas pela sorção (adsorção ou absorção) dos compostos aos componentes do solo. A sorção é responsável pelo “aprisionamento” dos contaminantes, removendo-os do estado dissolvido. Se os compostos encontram-se fortemente sorvidos, eles podem se apresentar indisponíveis aos microorganismos, limitando assim a sua biodegradação. Por outro lado, a sorção pode reduzir/minimizar alguns dos efeitos tóxicos dos poluentes no solo através da baixa disponibilização dos mesmos. Desta forma, o comportamento dos contaminantes no solo é influenciado pela competição dos processos de biodegradação e sorção (PROVIDENTI *et al.*, 1993). Em geral, a sorção de compostos hidrofóbicos neutros em solos é dependente do teor de matéria orgânica presente neste

solo. Segundo Providenti *et al.* (1993) a sorção aumenta com o aumento do percentual de matéria orgânica e, conseqüentemente, a biodegradação diminui.

Woo e Park (1999) ressaltam que a textura do solo contaminado determina, em grande parte, a umidade ótima requerida para a operação de biorreatores, variável que se encontra intimamente relacionada ao grau de mistura e à aglomeração. Truax *et al.* (1995) e Boopathy (2000) vão mais além e chamam a atenção para o fato de que a forte dependência entre os parâmetros de processo (comportamento mecânico e biodegradabilidade) e a textura do solo resulta das diferentes propriedades de superfície de frações, tais como areia, silte e argila, que compõem o mesmo.

Conforme citado por Providenti *et al.* (1993), esforços vêm sendo realizados no sentido de superar os fatores limitantes à biodegradação de contaminantes em solos. Problemas relacionados aos microrganismos podem ser superados através (a) do isolamento de espécies ou consórcios degradadores; (b) do melhoramento de formulações e métodos de inoculação para introdução de microrganismos nos solos contaminados e/ou (c) do melhoramento da atividade degradadora de microrganismos endógenos. Já problemas relacionados à disponibilização dos contaminantes e à dispersão dos microrganismos podem ser superados através do uso de surfactantes e da adequada homogeneização do sistema solo/contaminante/microbiota, respectivamente. Por outro lado, se as condições ambientais são originalmente inadequadas, limitando assim a biodegradação dos poluentes, o uso de biorreatores deve então ser considerado, uma vez que nesses é possível o controle efetivo e a otimização destas condições como, por exemplo, a aeração, o teor de umidade, o grau de mistura e a temperatura.

5 | ESTRATÉGIAS DE AUMENTO DA EFICÁCIA DOS PROCESSOS DE BIORREMEDIAÇÃO

Conforme citado anteriormente, vários fatores relacionados ao contaminante e ao ambiente contaminado podem limitar a extensão dos processos de biodegradação. O estabelecimento de condições ambientais adequadas é fundamental para que o processo de biorremediação aconteça de forma eficaz. Caso isto não ocorra, o crescimento e a sobrevivência dos microrganismos envolvidos no processo serão severamente afetados e, conseqüentemente, a biodegradação dos compostos poluentes ficará comprometida.

Várias estratégias de biorremediação envolvendo o aumento da atividade microbiana podem ser empregadas em ambientes contaminados, a fim de acelerar o processo natural de biodegradação desses compostos. Dentre essas, as mais utilizadas para superar as limitações da atividade microbiana e, conseqüentemente, acelerar a degradação dos hidrocarbonetos poluentes são: adição de fontes de nutrientes e oxigênio (“Bioestímulo”); aumento da microflora do solo através da adição de microrganismos endógenos ou exógenos (“Bioaumento” e “Bioenriquecimento”); aumento da disponibilidade dos hidrocarbonetos ao ataque dos microrganismos através da adição de surfactantes ou de microrganismos com habilidade de produzir biosurfactantes; adição de microrganismos geneticamente engenheirados e a adição de material.

5.1 | Bioestímulo

Para sobreviverem, os microrganismos, de forma geral, necessitam de fontes de nutrientes e de um acceptor final de elétrons. Organismos aeróbios envolvidos no processo de biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo utilizam o oxigênio como o acceptor final de elétrons e o carbono orgânico, proveniente dos contaminantes, como principal fonte de carbono. Nitrogênio, fósforo e potássio são, por sua vez, os principais nutrientes inorgânicos adicionados, se necessário, durante os processos de biorremediação.

O bioestímulo é uma das estratégias mais adotadas em processos de recuperação de áreas impactadas e consiste na correção das condições nutricionais (nitrogênio, fósforo, potássio), de aeração, de umidade e de pH do solo, para aumentar a atividade da população existente nas áreas contaminadas (AULENTA *et al.*, 2005; BENTO *et al.*, 2005; GOGOI *et al.*, 2003; LIN *et al.*, 1999; ATLAS, 1981).

O suprimento de oxigênio em sítios contaminados pode ser realizado através da adição de agentes oxidantes, tais como o peróxido de hidrogênio. No entanto, a realização de revolvimento/aragem e aeração forçada do solo são as práticas mais adotadas (VASUDEVAN e RAJARAM, 2001; BOOPATHY, 2000).

Durante o processo de biorremediação de solos contaminados, o teor de umidade deve ser mantido entre 50-80% da capacidade de campo do solo para que taxas ótimas de degradação sejam obtidas (DEUEL e HOLLIDAY, 1997). Woo e Park (1999) citam que, na prática, o teor de umidade necessário à biodegradação dos poluentes vai variar de acordo com a textura do solo contaminado.

A atividade microbiana, por sua vez, é também fortemente dependente do pH do meio. Segundo Alexander (1999), nas faixas de pH em torno da neutralidade, de uma forma geral, a biodegradação tende a ser mais efetiva.

5.2 | Bioaumento e Bioenriquecimento

A densidade de microrganismos degradadores de hidrocarbonetos presentes no solo contaminado a ser remediado é um fator que influencia a taxa e a extensão da biodegradação.

Em situações onde a população microbiana degradadora dos sítios contaminados é pequena ou não é capaz de degradar misturas complexas de hidrocarbonetos, como, por exemplo, o óleo cru, a inoculação com uma concentração maior de microrganismos degradadores torna-se uma estratégia interessante. A mesma deve ser aplicada visando aumentar a biodegradação do composto poluente e reduzir o período de adaptação dos microrganismos presentes nos locais contaminados. Esta estratégia recebe a denominação de **bioaumento**, quando os microrganismos inoculados

são endógenos (extraídos do próprio solo contaminado, crescidos *in vitro* e re-introduzidos no ambiente em maior concentração), ou de **bioenriquecimento**, quando os microrganismos inoculados são exógenos (ROMANTSCHUK *et al.*, 2000; PROVIDENTI *et al.*, 1993;). No entanto, alguns autores adotam o termo bioaumento para ambos os casos (MOREIRA E SIQUEIRA, 2002; VOGEL, 1996).

Destaca-se que para que a inoculação de microrganismos exógenos (bioenriquecimento) tenha sucesso, é necessário que os mesmos tenham habilidade de degradar a maior parte dos contaminantes, possuam estabilidade genética e alto nível de atividade enzimática, capacidade de competir com a população intrínseca do solo, não sejam patogênicos e não produzam substâncias tóxicas durante o processo de biodegradação (LEAHY E COLWELL, 1990; ROMANTSCHUK *et al.*, 2000).

São relatados, na literatura, vários sucessos de aplicação da técnica de bioaumento em ambientes contaminados. Smith *et al.* (1997) obtiveram um aumento da biodegradação de misturas de HPAs após a inoculação do solo com um consórcio composto por bactérias degradadoras. Na revisão realizada por Leahy e Colwell (1990), foi descrito que a adição de bactérias no solo acelerou a taxa de biodegradação de pesticidas. Em recente estudo, Ghazali *et al.* (2004) avaliaram a biorremediação de solo contaminado com óleo diesel aplicando a técnica de bioaumento. Os autores verificaram que a introdução de uma formulação composta por 6 linhagens bacterianas (constituídas predominantemente por *Bacillus* e *Pseudomonas sp.*) isoladas e purificadas de um solo contaminado com hidrocarbonetos, efetivamente foi responsável por uma degradação significativa dos hidrocarbonetos inicialmente presentes no solo contaminado com óleo diesel (57% dos alcanos e 20 - 50% dos alifáticos após 60 dias de ensaio).

Contrariamente, em ambientes onde já se estabeleceu um equilíbrio e a microbiota nativa encontra-se adaptada, tanto o bioaumento quanto o bioenriquecimento podem não acarretar aumento das taxas de biodegradação (ATLAS, 1995; ALEXANDER, 1999). Nestes casos, a simples bioestimulação da microbiota nativa pode ser mais eficiente.

5.3 | Surfactantes

A biodegradação de hidrocarbonetos pode ser limitada pela sorção (adsorção e absorção) desses compostos pelos componentes do solo resultando em uma redução da quantidade de hidrocarbonetos suscetíveis ao ataque microbiano. Além disso, a não emulsificação adequada dos hidrocarbonetos resulta em pequenas áreas superficiais para contato com as células microbianas. Sabe-se que, microrganismos que apresentam a capacidade de adesão a compostos hidrofóbicos podem solubilizá-los e, assim, promover a metabolização e a degradação dos mesmos (PROVIDENTI *et al.*, 1993). Sendo assim, uma tentativa de incremento da metabolização e da possibilidade de biodegradação de hidrocarbonetos contaminantes é aumentar a solubilização destes substratos e uma maior desorção destes da matriz do solo empregando-se surfactantes e emulsificantes (ALEXANDER, 1999). Os surfactantes, em particular, podem interagir com os compostos presentes nos hidrocarbonetos de petróleo e aumentar a solubilidade dos mesmos em água (BANERJI *et al.*, 1995). Desta forma, a presença de surfactantes, naturais ou sintéticos, torna estes compostos disponíveis aos microrganismos e, conseqüentemente, à biorremediação.

A adição de surfactantes sintéticos aumenta a solubilidade dos hidrocarbonetos, mas a maioria desses compostos é considerada tóxica aos microrganismos e ao meio ambiente (PROVIDENTI *et al.*, 1993; LEAHY E COLWELL, 1990).

Diversos pesquisadores (RAHMAN *et al.*, 2003; NITSCHKE E PASTORE, 2002; ALEXANDER, 1999; BANAT, 1995; BANERJI *et al.*, 1995; PROVIDENTI *et al.*, 1993) vêm investigando o uso de emulsificantes e surfactantes produzidos microbiologicamente para aumentar a biodegradação de compostos hidrofóbicos, como os hidrocarbonetos de petróleo. Uma das principais vantagens do emprego dos bioemulsificantes ou biosurfactantes (normalmente glicolípídeos) é a sua biodegradabilidade, baixa toxicidade e elevada eficácia em algumas situações.

O uso dos surfactantes, em particular dos biosurfactantes, é um método promissor de disponibilização dos contaminantes à atividade microbiana, principalmente quando empregado em associação com tecnologias de tratamento *ex-situ* de solos contaminados. No entanto, o seu uso associado a tecnologias de tratamento *in-situ* pode causar a lixiviação dos poluentes hidrofóbicos para o lençol freático devido ao aumento da mobilidade dos mesmos (PROVIDENTI *et al.*, 1993).

5.4 | Engenharia Genética

A troca de material genético tem sido apresentada como um dos fatores que afetam a obtenção da capacidade de biodegradação de hidrocarbonetos pelos microrganismos, durante o período de adaptação dos mesmos nas áreas contaminadas (SÁ, 2002). Essa troca de material genético pode ocorrer de forma natural, através da transferência de plasmídeos, ou através de modificações genéticas realizadas em laboratório.

A transferência de plasmídeos pode ocorrer naturalmente em solos não estéreis e a frequência deste evento depende do tamanho e da razão de células doadoras e receptoras (PROVIDENTI *et al.*, 1993).

Por outro lado, bactérias podem ser geneticamente modificadas em laboratório para múltiplos propósitos, dentre eles para degradar uma ampla faixa de hidrocarbonetos e/ou produzir biosurfactantes (PIEPER e REINEKE, 2000). Harvey *et al. apud* Providenti *et al.* (1993) relataram aumento da biodegradação de óleo, após a inoculação do solo com *Pseudomonas aeruginosa* SB30, bactéria engenheirada produtora de biosurfactante. Segundo Watanabe (2001), em alguns casos, onde microrganismos geneticamente modificados são introduzidos em ambientes contaminados, a taxa de degradação do poluente é aumentada devido a transconjugações capazes de proporcionar a degradação do poluente, e não pela contribuição direta do organismo inoculado.

No entanto, o conhecimento sobre os impactos da utilização de microrganismos geneticamente modificados em áreas contaminadas

ainda é muito precário, necessitando da realização de pesquisas complementares para elucidar esses efeitos.

5.5 | Adição material estruturante

Conforme mencionado anteriormente, condições aeróbicas e a presença de microrganismos apropriados, e em concentrações adequadas, são condições necessárias para que se obtenha uma elevada taxa de biodegradação em solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo. No entanto, a eficácia dos processos de biorremediação pode ser limitada por fatores como a baixa disponibilidade dos contaminantes e dos nutrientes aos microrganismos, bem como pela aeração insuficiente do solo. Uma baixa concentração de oxigênio pode limitar a biodegradação do óleo, como tem sido comprovado por diversos autores (VASUDEVAN e RAJARAM, 2001; ALEXANDER, 1999). Sabe-se, também, que os fatores limitantes citados são geralmente agravados quando a permeabilidade do solo contaminado é baixa, sendo este parâmetro diretamente relacionado aos elevados teores de argila e silte característicos de grande parte do solo brasileiro. Durante o processo biológico de tratamento, no entanto, a textura do solo, e conseqüentemente a sua permeabilidade, podem ser aumentadas através da adição de materiais estruturantes.

Materiais estruturantes (ou *bulking agents*) são materiais de baixa densidade que, quando incorporados ao solo, são responsáveis pela melhoria de algumas características físico-químicas do mesmo. Os materiais adicionados reduzem a densidade do solo, aumentando a sua porosidade e facilitando a difusão de oxigênio por entre as partículas sólidas. Adicionalmente pode ocorrer alteração na capacidade de retenção de água do solo. Todos esses fatores contribuem conjuntamente para o aumento da aeração do sistema solo-contaminante e, conseqüentemente, da atividade microbiana (VASUDEVAN e RAJARAM, 2001; RHYKERD *et al.*, 1999).

Os materiais estruturantes empregados como auxiliares no processo de biorremediação de solos impactados podem ser de origem inorgânica ou orgânica. Dentre os materiais de origem inorgânica

utilizados pode-se citar argila calcinada, vermiculita, areia, perlita, cascalho, dentre outros (DAVIS e WILSON, 2000; CHO *et al.*, 1997). Já os de origem orgânica incluem materiais como casca de coco, casca de arroz, palha, cavaco de madeira, serragem e farelo de trigo (STRAUBE *et al.*, 2003; DAVIS e WILSON, 2000; ALEXANDER, 1999).

Uma ampla revisão da literatura especializada indica que os materiais estruturantes de origem orgânica são os mais empregados nos processos de biorremediação de solos contaminados por petróleo, seja em escala laboratorial, seja em escala ampliada (RAIMUNDO *et al.*, 2004; MEYSAMI e BAHERI, 2003; STRAUBE *et al.*, 2003; VASUDEVAN e RAJARAM, 2001; JORGENSEN *et al.*, 2000; DAVIS e WILSON, 2000; ALEXANDER, 1999; CHO *et al.*, 1997; ELEKTOROWICKZ, 1994).

Em recente trabalho de associação das técnicas de bioaumento (adição de inóculo microbiano composto de linhagens de fungos filamentosos) e adição de material estruturante, Meysami e Baheri (2003) verificaram, em escala laboratorial, que só ocorreu a colonização dos fungos no solo quando foi adicionado material estruturante ao mesmo. Além disso, os autores observaram que dentre os materiais estruturantes testados (cavaco de madeira, musgo e flocos de farelo de trigo), a mistura de musgo com os flocos de farelo de trigo (5 – 10% de flocos), adicionada na concentração de 6% ao solo contaminado, foi a que apresentou melhor resultado em termos de crescimento, penetração e atividade enzimática microbiana. Segundo os autores, o musgo é majoritariamente composto de resíduos de madeira, que promovem um aumento considerável dos espaços livres no solo, facilitando a aeração do mesmo. Já os flocos de farelo de trigo contêm trigo e glicose, que proporcionam o crescimento acelerado dos fungos filamentosos e induzem a maior produção de enzimas por esses microrganismos.

Vasudevan e Rajaram (2001), em experimentos realizados para otimizar a biorremediação de solo contaminado com borra de petróleo, verificaram uma remoção, em 90 dias, de 76% dos hidrocarbonetos inicialmente presentes na condição onde foi adicionado farelo de trigo como material estruturante. Já na condição onde houve apenas o bioestímulo da microbiota nativa do solo contaminado,

essa remoção foi de 66%. A adição do material estruturante mostrou também ter um efeito fundamental na população microbiana nativa, uma vez que foi observado pelos autores um aumento de 120 vezes na concentração microbiana com relação à população inicial.

Jorgensen *et al.* (2000) empregaram cavaco de madeira como material estruturante, em associação à técnica de bioaumento, para a biorremediação de solo contaminado com óleo lubrificante em biopilha, em escala de campo (40 m³). Os resultados obtidos indicam uma redução de 70% no teor de óleo contaminante, sendo esse resultante basicamente da adição de material estruturante, uma vez que, segundo os autores, a adição de inóculo microbiano (bioaumento) não apresentou efeito positivo no processo de biodegradação do poluente.

A adição de material estruturante torna-se também uma alternativa atraente quando o solo contaminado a ser tratado já passou por um acentuado processo de intemperização e os compostos orgânicos poluentes encontram-se fortemente aderidos à matriz do solo. Nesses casos, apesar da microbiota nativa encontrar-se adaptada à presença do contaminante, a reduzida biodisponibilidade do contaminante e dos nutrientes bem como a reduzida concentração de oxigênio podem ser desfavoráveis ao processo de biorremediação. A adição de materiais estruturantes orgânicos, geralmente, contribui para o aumento da atividade microbiana, de uma forma geral, e também daqueles microrganismos degradadores específicos, como os degradadores de hidrocarbonetos de petróleo (JORGENSEN *et al.*, 2000).

6 | TECNOLOGIAS PARA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS

O termo biorremediação engloba uma série de tecnologias distintas para tratamento não só de solos, mas, também, de águas contaminadas e outros resíduos, e podem ser classificadas como processos *ex-situ* ou *in-situ*. Os processos de tratamento *ex-situ* são aqueles que envolvem a remoção física do material contaminado do local original e o encaminhamento do mesmo para o processo de tratamento em si, que ocorre em outro local (BOOPATHY, 2000). Já os processos de tratamento *in-situ* são baseados no estímulo à biodegradação natural de contaminantes na subsuperfície do solo e da água, sem a escavação da camada superficial do solo, através da adição de nutrientes (principalmente nitrogênio, fósforo e potássio), oxigênio e, em alguns casos, microorganismos. Normalmente os processos de tratamento *in-situ* são associados a sistemas de bombeamento e recirculação da água, de forma a transportar nutrientes e oxigênio aos aquíferos contaminados e solos associados (ROSS, 1990/91).

As principais tecnologias empregadas na biorremediação são apresentadas a seguir (EPA, 2004; TINDADE, 2002; BERNOTH *et al.*, 2000; BOOPATHY, 2000; ALEXANDER, 1999; BARKER *et al.*, 1995; ROSS, 1990/91).

TECNOLOGIAS DE TRATAMENTO IN-SITU:

- ▶ *Bioventing*: tecnologia baseada na introdução de ar na zona insaturada do solo, suprimindo assim a necessidade de oxigênio requerida pelo processo da biodegradação aeróbia.
- ▶ *Biosparging*: tecnologia semelhante ao *Bioventing*, porém o ar é introduzido na zona saturada, isto é, no lençol freático. A proposta é não somente suprir as necessidades de oxigênio, mas, também, transferir os poluentes voláteis para a zona insaturada na qual se encontram os microrganismos capazes de degradá-los. Além disso, a biorremediação irá ocorrer em alguma extensão no aquífero devido à introdução do oxigênio.

- ▶ *Air Sparging*: tecnologia baseada na injeção de ar na zona saturada para volatilização dos contaminantes e remoção dos mesmos no sistema coletor de gases.
- ▶ *Pump-and-treat*: tecnologia baseada no bombeamento da água contaminada para a superfície e posterior tratamento em biorreatores semelhantes aos normalmente utilizados em sistemas de tratamento aeróbio de efluentes líquidos, como, por exemplo, o sistema de lodos ativados.
- ▶ *Atenuação Natural Monitorada ou Biorremediação intrínseca*: processo de tratamento não assistido, sendo apenas realizado monitoramento regular da concentração do contaminante.
- ▶ *Fitorremediação*: tecnologia que envolve a utilização de plantas superiores, diretamente ou indiretamente, resultando em uma remoção ou degradação do poluente. Esse processo pode ocorrer através da remoção do poluente pela própria planta ou pela degradação do poluente pelos microrganismos que colonizam as suas raízes ou que estão em uma porção do solo bem próxima dessas.

TECNOLOGIAS DE TRATAMENTO EX-SITU:

- ▶ *Landfarming*: tecnologia normalmente utilizada para o tratamento de resíduos industriais perigosos. Os resíduos são dispostos em células de tratamento de grandes dimensões e misturados à camada superficial do solo, na qual encontra-se uma maior atividade microbiana. O solo sofre freqüente revolvimento e aragem com objetivo de suprir o oxigênio necessário à atividade microbiana. Da mesma forma, para a manutenção da atividade microbiana, o pH, a umidade e as concentrações de nutrientes são corrigidos periodicamente.
- ▶ *Compostagem*: tecnologia variante do *landfarming*, baseada no tratamento aeróbio, termofílico de resíduos e solos contaminados. O material é misturado com um agente de carga (palha, pedaços de grama, madeira, folhas, serragem, etc) com o objetivo de aumentar a permeabilidade do solo, aumentar a taxa de transferência de oxigênio e servir como fonte de carbono e energia capazes de favorecer o rápido estabelecimento de uma população microbiana numerosa e ativa.

- ▶ *Biopilhas*: tecnologia variante do *landfarming*, baseando-se, no entanto, em um sistema mais complexo que permite o controle da perda de compostos voláteis durante a fase operacional e a introdução de água, nutrientes e oxigênio. Porém, esse tipo de sistema não permite a freqüente mistura do solo para suprir limitações referentes à heterogeneidade e à disponibilização de nutrientes e contaminantes.
- ▶ *Biorreatores*: O tipo de biorreator mais comum para o tratamento de solos contaminados são os reatores de lama ou *slurry reactors*. Neste, após escavação e peneiramento, o solo contaminado é misturado a uma fase aquosa (que pode conter microorganismos e/ou nutrientes e/ou surfactantes). A “lama” gerada contém mais ou menos sólidos (de 10 a 40% p/p) em função do tipo de solo, dos equipamentos de agitação e do sistema de aeração disponíveis. A lama tratada normalmente é desidratada ou, alternativamente, pode ser submetida à biorremediação em fase sólida. Uma outra opção em termos de configuração de biorreatores são os reatores de fase sólida, onde trabalha-se com teores reduzidos de umidade no solo (10 – 20%). Esses reatores, a serem estudados durante o desenvolvimento da presente tese, serão mais bem abordados oportunamente.

No caso específico da biorremediação de solos contaminados, tanto a aplicação de tecnologias de tratamentos *in-situ* quanto a de tratamentos *ex-situ* em fase sólida, tais como *Landfarming*, Biopilhas e Compostagem, muitas vezes tornam-se inviáveis sob o ponto de vista técnico (limitações geológicas da área contaminada, dificuldades operacionais, fortes influências climáticas dentre outros) e/ou econômico (custo elevado). Desta forma, a utilização de biorreatores surge como uma alternativa interessante, apresentando como principais vantagens a possibilidade de monitoramento contínuo da performance do sistema, o controle das condições ideais de processo, imprescindíveis à manutenção da atividade microbiana, e o reduzido tempo de remediação.

O emprego de biorreatores torna-se uma alternativa ainda mais promissora nos casos de contaminação de solos de natureza ar-

gilosa, em função da baixa aplicabilidade das demais técnicas de biorremediação neste tipo de solo. Isto se deve à característica de baixa permeabilidade apresentada pelos solos argilosos, o que dificulta a incorporação de oxigênio e nutrientes fundamentais à biodegradação. No tratamento em biorreatores esta dificuldade é contornada, uma vez que esses possuem sistemas eficientes de homogeneização e aeração.

7 | BIORREATORES

Conforme citado anteriormente, é possível observar um aumento no número de trabalhos envolvendo o uso de biorreatores para tratamento de solos contaminados (NANO *et al.*, 2003; BRINKMANN *et al.*, 1998; URURAHY, 1998; BANERJEE *et al.*, 1995; BANERJI *et al.*, 1995; GRAY *et al.*, 1994; PROVIDENTI *et al.*, 1993). Dentre outros fatores que fortalecem esta tendência, chama-se atenção para o fato, já citado, de que o movimento restrito dos microrganismos no solo em muito afeta a biodegradação dos contaminantes, uma vez que se torna pequeno o acesso dos mesmos aos nutrientes e aos próprios contaminantes a serem degradados.

Nos métodos clássicos de tratamento biológico de solos contaminados, o problema relacionado à manutenção da adequada homogeneização do solo durante o tratamento é sempre encontrado. As principais dificuldades incluem a introdução de aditivos (nutrientes, surfatante, etc.) e a concentração localizada de poluentes em algumas regiões do sistema. Estes problemas podem ser significativamente reduzidos através do uso de biorreatores, onde o material é misturado de forma mais efetiva. Isto permite uma amostragem mais significativa e uma medida mais realista do sucesso do processo de descontaminação (ALEF e NANNIPIERI, 1995).

Quando comparado com as técnicas clássicas de biorremediação, como *Landfarming* e “Biopilhas”, o emprego de biorreatores apresenta como principais vantagens (ALEF e NANNIPIERI, 1995):

- ▶ Controle de emissões atmosféricas e da geração de águas de processo.
- ▶ Controle e manutenção das condições operacionais (pH, temperatura, teor de umidade, etc.).
- ▶ Manutenção de grau de mistura adequado (agitação contínua ou descontínua).
- ▶ Controle da degradação dos poluentes através de um monitoramento mais efetivo.
- ▶ Possibilidade de incorporação de aditivos diretamente no reator

(água, microrganismos, surfatante, nutrientes, corretivos de pH, co-substratos, etc).

- ▶ Sistema de aeração facilitado.
- ▶ Reduzida área requerida para instalação do sistema.
- ▶ Possibilidade de tratamento de solos com teor expressivo de partículas finas.
- ▶ Não há contato direto entre o conteúdo do reator (poluentes) e o ambiente durante o processo de tratamento, o que representa vantagem do ponto de vista ambiental e de segurança.

Ainda segundo Alef e Nannipieri (1995), o tempo requerido para a descontaminação de solos em biorreatores é menor do que o envolvido em biopilhas, porém encontra-se diretamente relacionado a fatores tais como o tipo de contaminante, sua concentração, tipo de matriz do solo, etc. Os autores exemplificam estas afirmações citando que para o tratamento de solos arenosos, contaminados com hidrocarbonetos facilmente biodegradáveis, são necessários apenas alguns dias de operação, enquanto para solos argilosos ou siltosos, impactados por hidrocarbonetos poliaromáticos, são esperadas várias semanas para se atingir níveis aceitáveis de recuperação.

Se o tempo envolvido nos processos de biorremediação depende de uma série de fatores, o custo, por sua vez, se encontra totalmente relacionado à extensão deste tempo. Também o tipo de reator adotado interfere na economicidade do tratamento, em função de diferentes custos de investimento e de operação a ele associados. De acordo com Alef e Nannipieri (1995), o custo total de tratamento de solos em biorreatores normalmente se situa na faixa de US\$ 200,00 a US\$ 300,00 por tonelada. Como se pode perceber, a questão econômica envolvida nos processos de descontaminação de solos é bem complexa, devendo ser avaliada à luz de comparações não só financeiras, mas, também, técnicas.

No caso específico de solos contaminados por óleo ou resíduos oleosos, freqüentemente acumulados em diques, tanto em refinarias quanto em áreas de produção, a associação dos diferentes fatores citados, tais como características e heterogeneidade do solo a

ser tratado, microrganismos e rotas bioquímicas, possivelmente envolvidos em sua decomposição vêm apontando, a despeito do custo, para a viabilidade de utilização de biorreatores.

A seleção da configuração mais indicada de biorreator a ser adotada, bem como da técnica de biorremediação associada (bioestímulo, bioaumento, incorporação de material estruturante, dosagem de biossurfatantes, etc.) devem ser realizadas levando-se em consideração as características do solo a ser tratado (percentual de material argiloso, etc.), a natureza do contaminante (recalcitrância, viscosidade, etc.), a composição da mistura a ser tratada (sólido, água e contaminante), os microrganismos envolvidos, o grau de importância da aeração, o nível de necessidade de agitação, dentre outros.

7.1 | Tipos de Biorreatores

Vários tipos de biorreatores vêm sendo testados para diferentes aplicações (COLLINA *et al.*, 2005; ICP, 2003; NANO *et al.*, 2003; TROQUET *et al.*, 2003; WARD *et al.*, 2003; RICHNOW *et al.*, 2000; WOO e PARK, 1999; BRINKMANN *et al.*, 1998; URURAHY, 1998; SANER *et al.*, 1996a; SANER *et al.*, 1996 b; ALEF e NANNIPIERI, 1995; BANERJEE *et al.*, 1995; BANERJI *et al.*, 1995; KRÜGER *et al.*, 1995; PUSKAS *et al.*, 1995; TRUAX *et al.*, 1995; GRAY *et al.*, 1994; PROVIDENTI *et al.*, 1993).

Para tratamento de solos contaminados, sem prévia remoção das frações mais finas do solo, é recomendado o uso de biorreatores horizontais (reatores de fase sólida: tambor rotativo ou tambor fixo) (ALEF e NANNIPIERI, 1995). O procedimento de lavagem de alguns solos contaminados, por sua vez, produz uma suspensão altamente contaminada contendo frações finas do solo. Os biorreatores verticais (reatores de fase semi-sólida ou reatores de lama) já são mais adequados ao tratamento destas suspensões.

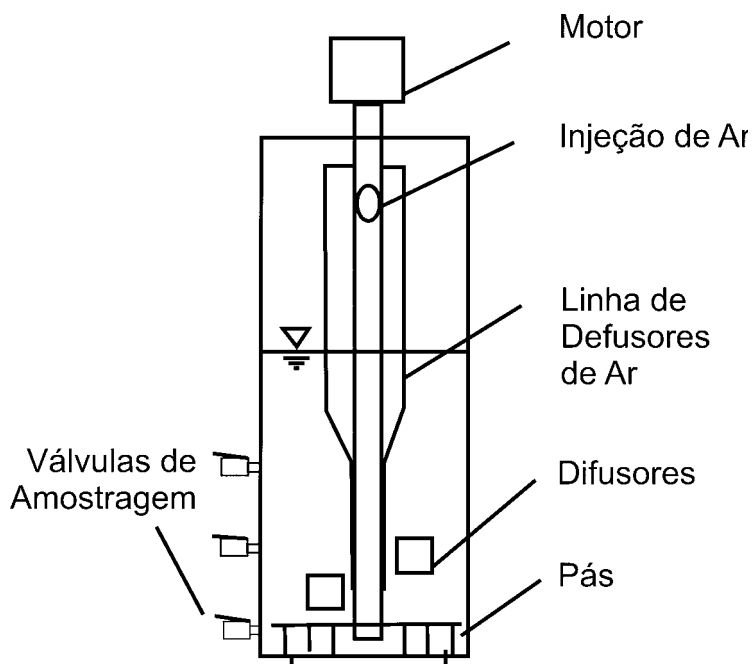
Conforme citado por Alef e Nannipieri (1995) a maioria dos biorreatores tem incorporado à sua estrutura um sistema de agitação que assegura que o material a ser tratado seja adequadamente homogeneizado. Isto possibilita a introdução e mistura adequada de aditivos para ajuste de alguns parâmetros como teor de umidade,

fontes de oxigênio e nutrientes, pH, etc. Alguns reatores, se necessário, podem também contar com um sistema de aquecimento de forma a acelerar o processo de biodegradação.

7.1.1 REATORES DE FASE SEMI – SÓLIDA (OU REATORES DE LAMA)

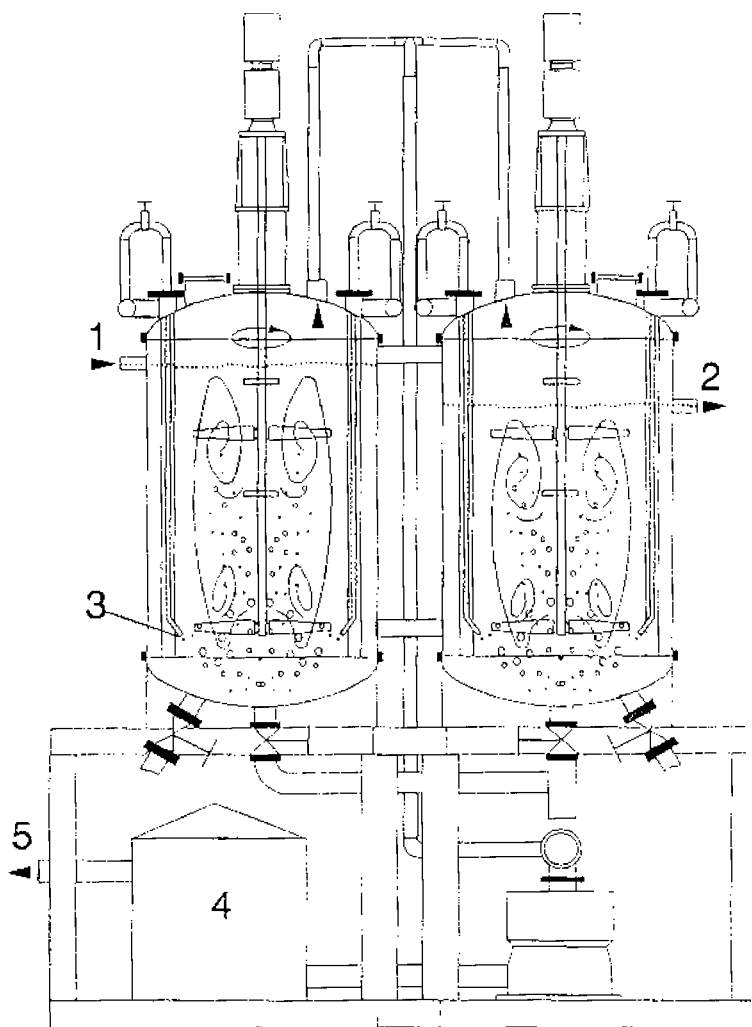
A maior parte dos trabalhos realizados sobre biorremediação de solos contaminados empregando-se biorreatores aborda o tratamento em fase semi-sólida (lama). O tratamento em reatores de lama é análogo ao tratamento biológico convencional com biomassa em suspensão (ex: lodos ativados). Segundo Mueller *et al.* (1991) os biorreatores de lama podem ser projetados com diferentes configurações (Figuras 4 e 5), de forma a otimizar fatores que normalmente são limitantes do crescimento e da atividade microbiana no solo (principalmente a disponibilização de substrato, nutrientes inorgânicos e oxigênio). Para que este grau de otimização da atividade microbiana seja atingido, é adicionada água ao solo contaminado objetivando a formação uma “lama” (suspensão de solo em água). Esta “lama” é continuamente agitada de forma a maximizar a taxa de transferência de massa e o contato entre os contaminantes e os microrganismos capazes de degradá-los (STROO *et al.*, 1997). Os reatores de lama podem ter sua operação conduzida sob o sistema de batelada simples, batelada seqüencial ou com alimentação semicontínua ou contínua.

Normalmente aplicam-se, no tratamento em fase semi-sólida, equipamentos (biorreatores) verticais, nos quais, via de regra, o teor de sólidos se situa na faixa de 20 a 40% (ALEF e NANNIPIERI, 1995). Além disto, as partículas de solo no interior deste tipo de reator não devem exceder o tamanho de 100 μm . Em função destas exigências, os biorreatores verticais (reatores de lama) são normalmente empregados em combinação com sistemas de lavagem de solos.



Fonte: BANERJI *et al.*, 1995.

FIGURA 4: Biorreator de Lama utilizado para testes em escala piloto.



Fonte: ALEF E NANNIPIERI, 1995.

FIGURA 5: Biorreatores de Lama em Cascata: (1) Alimentação; (2) Descarga; (3) Entrada de Ar Comprimido; (4) Filtro de Carvão Ativado; (5) Saída de Ar Filtrado.

Woo e Park (1999) citam que o tratamento de solos contaminados em biorreatores verticais de lama é considerado um dos métodos mais rápidos de biorremediação, uma vez que os substratos são eficientemente transportados até a população microbiana. O uso deste tipo de reator apresenta também, como vantagens, rápidas taxas de degradação, pequena área requerida para instalação e alto grau de flexibilidade. As rápidas taxas de degradação são resultantes da habilidade de maximizar as taxas de transferência de massa e fornecer condições ótimas para atividade microbiana (STROO *et al.*, 1997). A variedade de opções para sistemas de agitação e aeração permite o tratamento de uma grande diversidade de materiais com diferentes características. Conforme citado por Stroo *et al.* (1997) o principal objetivo da agitação e da aeração é fornecer oxigênio suficiente através da lama de forma a prevenir as limitações à atividade microbiana inerentes à transferência de oxigênio. A agitação do conteúdo do reator pode ser realizada somente pela aeração ou através da aeração associada a um sistema mecânico de agitação.

No entanto, este tipo de tratamento é relativamente caro (woo e PARK,1999). Conforme citado anteriormente, o emprego de biorreatores de lama é limitado ao tratamento de solos contendo teor considerável de partículas finas. Solos que contenham partículas mais grossas, como areia, que requerem um dispêndio energético elevado para serem mantidas em suspensão e adequadamente homogeneizadas neste tipo de reator, necessitam passar por uma etapa prévia de separação desta fração mais grossa da fração silte e argila e por uma etapa de lavagem. Desta forma, este tipo de tratamento requer a incorporação de outras etapas operacionais como a lavagem do solo e o tratamento dos efluentes gerados no sistema, o que eleva em muito o custo do tratamento.

Banerjee *et al.* (1995) citam também como principais desvantagens do uso de biorreatores de lama a elevada razão água/sólidos (valores típicos situam-se em torno de 4:1, ou mais, em peso) e a elevada energia requerida para agitação do sistema de forma a manter as partículas de solo em suspensão.

7.1.2 REATORES DE FASE SÓLIDA

Os biorreatores de fase sólida são particularmente adequados ao tratamento de material com alto teor de sólido. Nestes tipos de biorreatores o teor de umidade é mantido em níveis suficientes apenas para a manutenção da atividade microbiana. Apesar das vantagens econômicas associadas à redução da incorporação de água na biorremediação de solos, relativamente poucos são os estudos que exploram os biorreatores de fase sólida, em função dos efeitos prejudiciais que a limitação da água pode vir a exercer sobre o metabolismo microbiano.

Alef e Nannipieri (1995) destacam que, dentre as configurações de reatores de fase sólida mais comuns estão as horizontais, que podem apresentar duas subconfigurações, que diferem entre si, basicamente, na forma de mistura: os tambores rotativos e os tambores fixos. Nos primeiros, a homogeneização do sistema é promovida pela rotação do tambor como um todo, em torno de seu eixo, enquanto, na segunda, a mistura se deve à movimentação de um eixo central, de geometria variada.

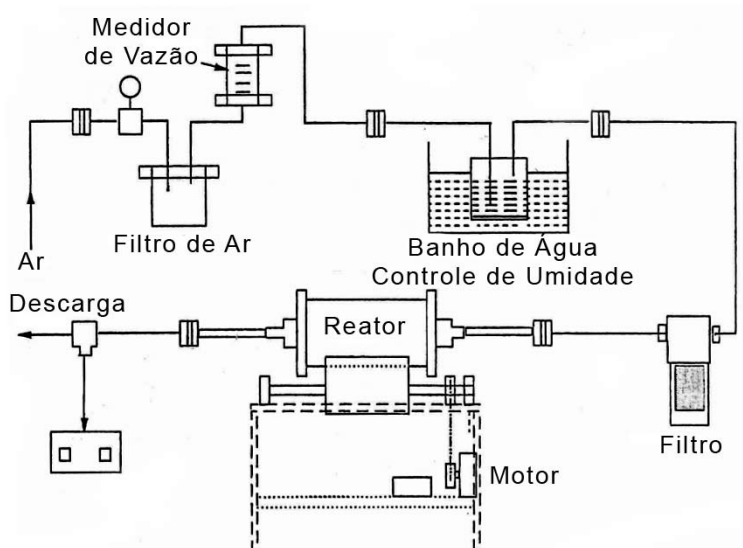
Tambor Rotativo

O emprego de biorreatores do tipo tambor rotativo no tratamento de solos contaminados vêm sendo frequentemente citado na literatura (WOO E PARK, 1999; BRINKMANN *et al.*, 1998; BANERJEE *et al.*, 1995; KRÜGER *et al.*, 1995; TRUAX *et al.*, 1995; ALEF E NANNIPIERI, 1995). Biorreatores do tipo tambor rotativo apresentam uma combinação atrativa entre agitação efetiva, mesmo com elevados teores de sólidos (MASLIYAH *et al.* 1992), e elevadas taxas de aeração (GRAY *et al.* 1994). Segundo Alef e Nannipieri (1995) a capacidade efetiva deste tipo de reator gira em torno de 60% do volume total do mesmo.

Segundo Woo e Park (1999), os primeiros biorreatores deste tipo apresentaram limitações no que conferia à homogeneização/agitação adequada em função da formação de filme de solo na parede do reator e à formação de agregados de solo (*pellets*). Isto fazia com que as taxas de transferência de massa fossem reduzidas e, conseqüentemente, ocorria um decréscimo na atividade microbia-

na. Esforços para aumentar a eficiência de agitação através da incorporação de impelidores de pás no interior do tambor foram, em sua maioria, bem sucedidos, porém implicam em um consumo de energia significativamente mais elevado. Alternativamente, a adição de teores adequados de umidade no reator se mostrou efetiva para agitação sem acarretar em agregação do material. Parthen *et al.* (1990) reportam que a adição de 50% (peso/peso) de água apresenta efeito benéfico no tratamento de solo contaminado com PAH's e hidrocarbonetos. No entanto, o autor não sugere teores ótimos de água a serem adicionados a solos com diferentes texturas. Woo e Park (1995), por sua vez, apresentam em seu trabalho o resultado do efeito do teor de água (20, 30 e 40% de umidade) e da velocidade de rotação do tambor (1, 3, 6 e 12 rpm) na taxa de biodegradação de PAH's presentes como contaminantes em um solo contendo 81% de areia, 18,4% de silte e 0,6% de argila, utilizando um biorreator do tipo tambor rotativo de 12,6 litros de capacidade. Para as condições operacionais otimizadas, foi obtida uma degradação de 95% dos PAH's totais após 20 dias de tratamento.

Banerjee *et al.* (1995) reportam o uso de um biorreator do tipo tambor rotativo, com 2 kg de capacidade, no tratamento de solo argiloso contaminado com antraceno. O equipamento foi operado com carga de sólidos de cerca de 60%, em peso, e inoculado com cultura mista de bactéria. O monitoramento do desprendimento de CO₂ demonstrou que a degradação e a mineralização do antraceno ocorreu simultaneamente, e que cerca de 55% do antraceno inicial foi mineralizado. O diagrama esquemático da unidade experimental utilizada pelos autores é apresentado na Figura 6, a seguir.



Fonte: BANERJEE *et al.*, 1995.

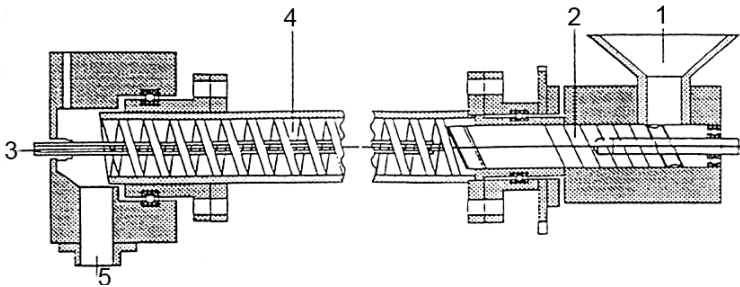
FIGURA 6: Diagrama Esquemático de Unidade Experimental com Biorreator do Tipo Tambor Rotativo para Tratamento de Solo Contaminado.

Cabe destacar que neste tipo de configuração é imprescindível a otimização do sistema de agitação e do sistema de introdução de ar.

Tambor Fixo

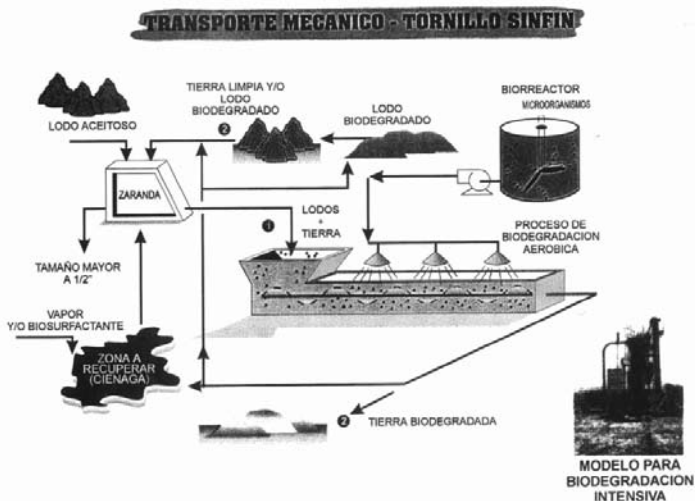
Segundo Alef e Nannipieri (1995), tambores fixos apresentam a vantagem de poderem ser utilizados em escala ampliada (reatores de volume total de 420 m³ já foram construídos), apesar de só comportarem um nível de ocupação máximo de 40%, enquanto em tambores rotativos é possível atingir percentagens de ocupação de até 60% do volume útil. O modelo de agitador, ilustrado por estes autores (Figura 7), consiste em um eixo helicoidal, que atua tal como um parafuso transportador, a exemplo dos que são usados na classificação e no transporte de minérios. Cabe ressaltar que os parafusos transportadores se adequam mais a processos contínu-

os, que envolvem tempos de residência relativamente reduzidos; desta forma, é de se esperar que sua aplicabilidade na biorremediação de solos seja limitada. Ainda assim, o Instituto Colombiano do Petróleo (ICP)/Empresa Colombiana de Petróleo (ECP) oferece em sua homepage a tecnologia intitulada *Proceso Semicontínuo para la Biodegradación Estimulada e Intensiva de Lodos Aceitosos*, que consiste, justamente, no tratamento biológico de resíduos sólidos da indústria do petróleo (borras oleosas) em reatores do tipo tambor fixo, dotado de eixo helicoidal (parafuso transportador) (Figura 8). Tal tecnologia apresenta como vantagem acelerar cerca de 16 vezes o processo de biodegradação natural dos hidrocarbonetos. Poucos detalhes adicionais são oferecidos, por se tratar de uma área de interesse comercial (ICP, 2003).



Fonte: ALEF E NANNIPIERI, 1995.

FIGURA 7: Reator do Tipo Tambor Fixo: (1) Alimentação do Solo Contaminado; (2) Transporte do Solo no Interior do Reator; (3) Adição de Aditivos; (4) Corpo do Reator; (5) Descarga de Solo Tratado.



M625

Fonte: <http://www.icp.ecp.com/home/oferta/icp/pros-semi-biodegradacion.htm>

FIGURA 8: Esquema Representativo do *Proceso Semicontinuo para la Biodegradación Estimulada e Intensiva de Lodos Aceitosos.*

8 | ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO

A biorremediação é definida como a família de tecnologias que se baseia em processos microbianos de conversão de poluentes ambientais em produtos não tóxicos, como dióxido de carbono (via degradação aeróbia), água e sais inorgânicos simples, ou algumas vezes CH_4 (via degradação anaeróbia) (BERNOTH *et al.*, 2000). No caso dos processos aeróbios, o termo mineralização é empregado para caracterizar a degradação completa do poluente a formas inorgânicas como CO_2 , H_2O , NH_3 e outros (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Muitas vezes esse termo é considerado um sinônimo de biodegradação, porém nem sempre o processo de biodegradação leva à mineralização completa do poluente.

Segundo Bernoth *et al.* (2000), tanto compostos orgânicos como inorgânicos podem ser biodegradados ou transformados através de processos microbianos. Nas aplicações mais comuns da biorremediação, microrganismos que ocorrem naturalmente em solos, ou águas, contaminados são estimulados a acelerar a degradação de contaminantes orgânicos, como hidrocarbonetos de petróleo, através da manipulação de condições ambientais tais como suprimento de oxigênio, concentração de nutrientes e teor de umidade.

Do ponto de vista prático, segundo Moreira e Siqueira (2002), a biorremediação é fundamentada em três aspectos principais:

- a) A existência de microrganismos com capacidade catabólica para degradar o contaminante;
- b) A disponibilidade ou a acessibilidade do contaminante ao ataque microbiano ou enzimático;
- c) A existência de condições ambientais adequadas para o crescimento e atividade do agente biorremediador.

No presente trabalho, maior enfoque será dado aos microrganismos responsáveis pelo processo de biorremediação de solos impactados por hidrocarbonetos de petróleo e alguns dos fundamentos bioquímicos envolvidos nesse processo.

8.1 | Os microrganismos do solo e seu papel na degradação de poluentes orgânicos

O solo é um *habitat* bastante peculiar com relação a outros *habitats* terrestres devido a sua natureza heterogênea complexa e dinâmica. Essas características permitem que organismos com metabolismos completamente distintos possam conviver lado a lado, interagindo em um estado de equilíbrio dinâmico, muitas vezes com relações de dependência essenciais para a sua sobrevivência. Quanto maior a complexidade da comunidade biológica, como ocorre na maioria dos solos, maior é a sua estabilidade (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Os microrganismos que habitam o solo realizam atividades imprescindíveis para a manutenção e sobrevivência também das comunidades vegetais e animais. Como citado por Louis Pasteur: “*O papel dos infinitamente pequenos é infinitamente grande*”. No solo, as atividades principais dos organismos são: decomposição da matéria orgânica, produção de húmus, ciclagem de nutrientes e energia, fixação de nitrogênio atmosférico, produção de compostos complexos que causam agregação do solo, decomposição dos poluentes (xenobióticos) e controle biológico de pragas e doenças (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

A biota do solo inclui representantes de todos os grupos de microrganismos (bactérias, fungos, algas) e cada microhabitat do solo, em um tempo ou outro, pode conter células de diferentes espécies que podem estar interagindo positivamente ou negativamente (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Um exemplo de interação é a simbiose definida como a associação permanente, ou prolongada, entre organismos dissimilares que é caracterizada por contato físico, troca de metabólitos e de nutrientes, integração morfológica e fisiológica e regulação funcional entre parceiros (DE BARY *apud* MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Outros exemplos de interações positivas são comensalismo, protocooperação e mutualismo. Já como interações negativas, pode-se citar a competição, o parasitismo e a predação.

A presença de um microrganismo específico em determinado solo é função das condições ambientais dominantes e dos limites de sua bagagem genética (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Algumas espécies de microrganismos podem sobreviver em condições extremas de salinidade, temperatura, pressão e pH. Além disso, os microrganismos, de modo geral, são bastante versáteis em adaptar-se a mudanças ambientais. Limitações físicas (umidade, aeração, porosidade) e químicas (disponibilidade de nutrientes e toxicidade de elementos como metais pesados e hidrocarbonetos) podem ocorrer nos solos, porém muitas espécies são capazes de se adaptar a essas condições (MOREIRA e MOREIRA, 2002). A adoção de práticas de recuperação de solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo, através da aplicação de técnicas de biorremediação, vale-se justamente dessa versatilidade microbiana, uma vez que os microrganismos envolvidos no processo desenvolvem, ou apresentam naturalmente, a capacidade de utilizar o composto poluente (xenobiótico) como fonte de carbono e energia na ausência de uma fonte mais facilmente assimilável.

Romantschik *et al.* *apud* Trindade (2002), citam que existem, pelo menos, dois/duas principais casos/situações que resultam em microrganismos capazes de degradar um ou mais compostos orgânicos:

1. A microbiota nativa é exposta ao contaminante xenobiótico por um período suficientemente longo para a evolução genética criar a rota metabólica de degradação do composto. Esse tipo de evolução acontece constantemente, porém, é relativamente lenta. Como consequência, a comunidade microbiana possui a rota de degradação, mas a degradação pode ser ineficiente devido à baixa concentração celular ou pelo baixo nível de atividade microbiana;
2. A microbiota nativa, a qual está adaptada às condições locais, é exposta ao contaminante xenobiótico e essa população adquire genes e rotas de degradação de microrganismos imigrados naturalmente de outro local. A transferência de material genético pode ocorrer por conjugação, transdução ou transformação. Todos esses processos ocorrem nos ambientes naturais, porém também são relativamente lentos.

No entanto, a lentidão e ineficiência notadas nestes processos naturais podem ser contornadas pela introdução, ao local contaminado, de microrganismos exógenos que possuem as rotas metabólicas de degradação os quais agem, desta forma, como doadores de material genético, e também pela introdução de microrganismos modificados geneticamente, os quais possuem rotas obtidas artificialmente em laboratórios (TRINDADE, 2002; WATANABE, 2001). Essas duas opções de aumento da atividade microbiana, e consequentemente da eficiência do processo de biorremediação, serão melhor discutidas mais adiante neste trabalho.

De acordo com Atlas (1981), existem vários gêneros e espécies de microrganismos capazes de biodegradar hidrocarbonetos. Zobell *apud* Atlas (1981) identificou mais de 100 espécies, representativas de 30 gêneros, com capacidade de consumir hidrocarbonetos, dentre eles bactérias, fungos e algas.

A diversidade metabólica e o curto tempo de geração das bactérias caracterizam-nas como boas iniciadoras das reações de biodegradação de poluentes (SÁ, 2002). Dentre os gêneros de bactérias degradadoras de hidrocarbonetos de petróleo predominam *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Nocardia*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* e *Micrococcus* (LEBLANC E FITZGERALD, 1990). Vasudevan e Rajaram (2001) verificaram que um consórcio microbiano constituído por linhagens dos gêneros *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium* e *Aeromonas* foram capazes de degradar 75% do óleo cru presente em um solo contaminado.

Embora as bactérias sejam responsáveis pela biodegradação da maioria dos hidrocarbonetos, algumas espécies de fungos filamentosos e leveduras têm habilidade de degradar esses compostos (PRINCE, 1993).

Os fungos são considerados mais eficientes que as bactérias sob condições adversas do processo como, por exemplo, valores extremos de pH, limitação de nutrientes e baixos teores de umidade. Dentre os fungos filamentosos, algumas linhagens de *Penicillium sp.* e *Aspergillus sp.* são reconhecidas como sendo capazes de de-

gradar uma maior quantidade de hidrocarbonetos. Além desses, Colombo *et al.* (1996) constataram o consumo de hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos por linhagens dos gêneros *Pleurotus*, *Trametes* e *Corioloopsis*.

A vantagem do emprego de fungos filamentosos em relação às bactérias que habitam os solos contaminados, por exemplo, reside na capacidade que os primeiros possuem em excretar enzimas que atacam diretamente os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs), enquanto as bactérias possuem um sistema enzimático intracelular. Além disso, os fungos são capazes de degradar moléculas de HPAs de alto peso molecular (quatro ou mais anéis), enquanto a maioria das bactérias limita-se à degradação de HPAs de baixo peso molecular (GROTENHUIS *et al.*, 1998).

Em alguns estudos envolvendo a utilização de hidrocarbonetos de petróleo por leveduras, relata-se que diferentes espécies do gênero *Candida* demonstraram preferência em degradar hidrocarbonetos de cadeias lineares (SÁ, 2002). Outros trabalhos demonstram que leveduras pertencentes aos gêneros *Sporobolomyces* e *Rhodotorula* foram capazes de degradar hidrocarbonetos alifáticos, cíclicos e aromáticos (DEL'ARCO, 1999). Atlas (1991) citou outros três gêneros de leveduras com esta mesma capacidade: *Saccharomyces*, *Trichosporium* e *Cladosporium*. Komagata *et al. apud* Atlas (1981) descobriram 56 espécies de levedura capazes de consumir hidrocarbonetos; sendo que a maioria delas pertencia ao gênero *Candida*. Ahearn *et al. apud* Atlas (1981) também isolaram do solo outros gêneros de levedura capazes de biodegradar hidrocarbonetos: *Rhodospiridium*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Sporobolomyces* e *Trichosporon*. Sá (2002), em estudo envolvendo a biorremediação de solo tropical contaminado com óleo cru, identificou e isolou, como uma das principais linhagens degradadoras do poluente orgânico, uma levedura da espécie *Rhodotorula glutinis var. dairenesis*.

Poucos estudos têm sido conduzidos a fim de investigar o potencial de degradação de hidrocarbonetos por espécies de algas. Cerniglia *et al.* (1992) observaram que nove cianobactérias, cinco algas verdes, uma alga vermelha, uma alga marrom e duas diatomáceas

foram capazes de degradar naftaleno em meio líquido. Walter *et al.* apud Leahy e Colwell (1990) constataram que a alga *Prototheca zopfii* degradou 40% dos hidrocarbonetos contidos no óleo cru quando esse foi utilizado como substrato.

Reconhecidamente, as bactérias são os principais microrganismos degradadores de hidrocarbonetos envolvidos no processo de biorremediação de solos, uma vez que, com o aumento da profundidade do solo, o número de bactérias não é drasticamente afetado, enquanto o número de fungos ou actinomicetos diminui. Este aumento da população bacteriana é atribuído à habilidade das bactérias utilizarem outros aceptores de elétrons que não o oxigênio (BOOPATHY, 2000). Esta presença acentuada da população bacteriana em solos pode ser observada pelos dados apresentados na Tabela 2.

TABELA 2: Distribuição Típica da População Microbiana em Solos e Água Subterrânea.

Microrganismos	População
Superfície (nº de células/g de solo)	
Bactérias	10^8 - 10^9
Actinomicetos	10^7 - 10^8
Fungos	10^5 - 10^6
Algas	10^4 - 10^5
Subsolo (nº de células/g de solo)	
Bactérias	10^3 - 10^7
Água Subterrânea (nº de células/ml)	
Bactérias	10^2 - 10^5

Fonte: VIEIRA apud TRINDADE, 2002.

De acordo com o que foi apresentado anteriormente, fica clara a existência de uma ampla variedade de microrganismos com habilidade para utilizar hidrocarbonetos. Um resumo dos microrganismos, encontrado na literatura, com esta habilidade, encontra-se na Tabela 3.

TABELA 3: Gêneros Microbianos Degradadores de Hidrocarbonetos.

Bactérias	
<i>Achromobacter</i>	<i>Mycobacterium</i>
<i>Acinetobacter</i>	<i>Nocardia</i>
<i>Aeromonas</i>	<i>Pasteurella</i>
<i>Agrobacterium</i>	<i>Proteus</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Arthrobacter</i>	<i>Rhodococcus</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Sarcina</i>
<i>Brevibacterium</i>	<i>Serratia</i>
<i>Burkholderia</i>	<i>Shingomonas</i>
<i>Chromobacterium</i>	<i>Spirillum</i>
<i>Comamonas</i>	<i>Streptomyces</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Vibrio</i>
<i>Cytophaga</i>	<i>Xanthomonas</i>
<i>Flavobacterium</i>	
<i>Gluconobacter</i>	
<i>Micrococcus</i>	

Fungos			Alga
Leveduras	Bolores		
<i>Candida</i>	<i>Acremonium</i>	<i>Graphium</i>	<i>Prototheca zopfii</i>
<i>Debaryomyces</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Humicola</i>	
<i>Rhodotorula</i>	<i>Aureobasidium</i>	<i>Lulworthia</i>	
<i>Sporobolomyces</i>	<i>Beauveria</i>	<i>Mortierella</i>	
	<i>Botrytis</i>	<i>Mucor</i>	
	<i>Ceriporiopsis</i>	<i>Oxyoirus</i>	
	<i>Chrysosporium</i>	<i>Paecilomyces</i>	
	<i>Cladosporium</i>	<i>Penicillium</i>	
	<i>Cochliobolus</i>	<i>Phialophora</i>	
	<i>Colorospora</i>	<i>Phoma</i>	
	<i>Coniothyrium</i>	<i>Pleurotus</i>	
	<i>Corioloopsis</i>	<i>Rhizopus</i>	
	<i>Cryphonectria</i>	<i>Scolecobasidium</i>	
	<i>Cylindrocarpon</i>	<i>Scopulariopsis</i>	
	<i>Dendryphiella</i>	<i>Sprotrichum</i>	
	<i>Drechslera</i>	<i>Spicaria</i>	
	<i>Fusarium</i>	<i>Tolyposcladium</i>	
	<i>Geotrichum</i>	<i>Trametes</i>	
	<i>Glicocladium</i>	<i>Trichoderma</i>	
	<i>Gongronella</i>	<i>Varicosporina</i>	
		<i>Verticillium</i>	

Fonte: TRINDADE, 2002; Sá 2002

Apesar da enorme diversidade microbiana encontrada no solo (WATANABE, 2001) e da presença de várias espécies potencialmente degradadoras de hidrocarbonetos, deve-se lembrar, conforme citado por Moreira e Siqueira (2002), que somente uma pequena fração da biomassa do solo tem atividade heterotrófica, e, normalmente, apenas parte desta é competente para a degradação do composto poluente de interesse. Além disso, deve-se considerar que o processo de degradação é, na maioria das vezes, executado por um consórcio microbiano, e não por uma colônia ou população única, o que exige interações controladas e equilibradas entre os componentes de uma comunidade degradadora.

8.2 | Mecanismos de biodegradação de hidrocarbonetos e aspectos bioquímicos relacionados

Nos últimos 20 anos, várias pesquisas vêm sendo realizadas com a finalidade de elucidar as vias metabólicas de degradação de hidrocarbonetos de petróleo (PRINCE *et al.*, 1999).

Existem aproximadamente 200.000 compostos diferentes no óleo cru. Geralmente, todos aqueles que têm cadeias carbônicas curtas são facilmente degradados, já o aumento das cadeias implica em uma maior complexidade estrutural e, conseqüentemente, em uma diminuição do número de microrganismos capazes de degradar estes compostos. Algumas das maiores estruturas moleculares são insolúveis e a maioria dos microrganismos pode utilizar apenas os compostos dissolvidos em água (LEBLANC e FITZGERALD, 1990). Como conseqüência, observa-se entre os diversos hidrocarbonetos uma diferença em relação a sua susceptibilidade ao ataque microbiano. Em geral, a ordem decrescente de susceptibilidade é: n-alcanos > alcanos ramificados > compostos aromáticos de baixo peso molecular > ciclo-alcanos > compostos poliaromáticos > compostos polares (LEAHY e COLWELL, 1990).

Sabe-se que os hidrocarbonetos podem ser degradados através de três vias metabólicas: respiração aeróbica, respiração anaeróbia e via fermentativa (RATLEDGE, 1994). Na via aeróbia, a primeira etapa da biodegradação consiste na oxidação do hidrocarboneto,

que é promovida por enzimas oxigenases. Nessa via, o oxigênio é utilizado como aceptor final de elétrons e os produtos finais são, principalmente, CO_2 e H_2O . Na respiração anaeróbica substratos inorgânicos desempenham a função de aceptores finais de elétrons, onde o CO_2 é reduzido a metano, sulfato a sulfeto, nitrato a nitrogênio molecular ou íon amônio. Já a degradação por via fermentativa caracteriza-se por empregar os substratos fosforilados como aceptores finais de elétrons, resultando em compostos como CO_2 , acetato, etanol, propionato e butirato (ENGLER e KENZIE *apud* URURAHY, 1998; RATLEDGE, 1994).

Levando-se em consideração que a biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo em solo é prioritariamente regida por processos aeróbios, somente essa via metabólica de degradação será abordada neste trabalho.

A decomposição aeróbica de um composto orgânico poluente (geralmente uma macromolécula) no solo é um processo biocatalítico complexo que envolve a ação das enzimas que produzem monômeros específicos em função da composição do substrato disponível. Durante a decomposição, processos distintos, porém simultâneos, ocorrem (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002):

- a) As macromoléculas do poluente são atacadas pelas enzimas extracelulares de origem microbiana, produzindo moléculas menores, que são absorvidas e utilizadas como substrato pelo próprio microrganismo que promoveu aquela transformação, ou por outros, no caso de co-metabolismo;
- b) Os monômeros e oligômeros, presentes no material em decomposição, são rapidamente consumidos e transformados em biomassa, CO_2 e energia;
- c) Como resultado da proliferação microbiana, o carbono e os nutrientes presentes no solo são transformados em novas moléculas, como proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos, quitina e outros;
- d) Finalmente, restos celulares e metabólitos microbianos, subprodutos da decomposição do poluente, e complexos organo-minerais acumulam-se na matéria orgânica do solo como moléculas quimicamente estáveis, formando o húmus do solo.

Cabe destacar que os poluentes orgânicos e sua taxa de biodegradação no solo dependerão basicamente da sua composição química, da acessibilidade, ou não, entre esses e as células e/ou enzimas (bi-disponibilidade), e das condições físico-químicas do ambiente.

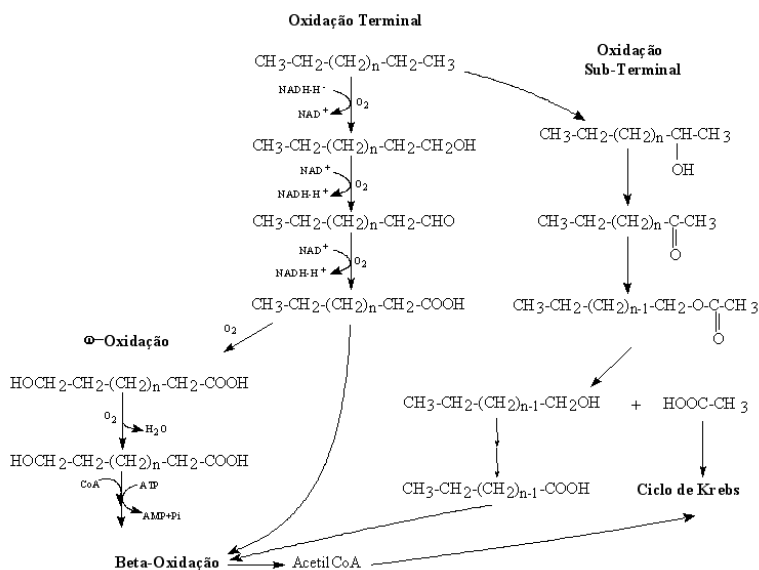
A seguir, serão apresentados os principais aspectos bioquímicos envolvidos na biodegradação dos hidrocarbonetos.

8.2.1 HIDROCARBONETOS ALIFÁTICOS LINEARES E RAMIFICADOS

Os hidrocarbonetos alifáticos lineares e ramificados são considerados potenciais substratos para a maioria dos microrganismos degradadores de óleo cru, podendo ser classificados em saturados e insaturados. Esses últimos são raramente encontrados no óleo cru e muito abundantes em produtos derivados do refino (DEL'ARCO, 1999).

A maior parte dos microrganismos converte, inicialmente, hidrocarbonetos alifáticos lineares (n-alcenos) em álcoois correspondentes, através da ação das enzimas hidroxilases, também conhecidas como monooxigenases. Os mecanismos de degradação envolvendo dioxigenases, onde os n-alcenos são transformados nos hidroperóxidos e subseqüentemente reduzidos aos álcoois correspondentes, também são conhecidos, entretanto não parecem ocorrer abundantemente. Oxidações subterminais, que levam à formação de álcoois secundários, raramente ocorrem (URURAHY, 1998).

A metabolização subseqüente do álcool pode seguir diferentes vias, conforme representado na Figura 9.



Fonte: WATKINSON e MORGAN apud TRINDADE, 2002.

FIGURA 9: Principais vias metabólicas de degradação de n-alcenos

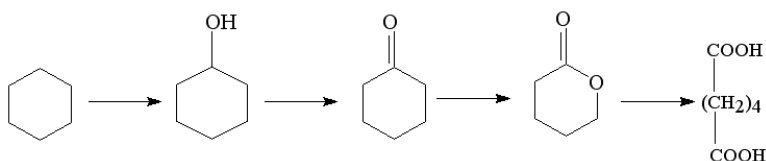
Através da via de oxidação terminal, normalmente, o álcool produzido é primeiramente oxidado a aldeído e depois ao ácido graxo correspondente, por intermédio de enzimas álcool desidrogenase e aldeído desidrogenase, respectivamente. Os ácidos graxos, finalmente, entram na via metabólica da β-oxidação, formando dois compostos de carbono e acetilcoenzima A, com eventual liberação de CO_2 (LINDLEY, 1995). Já os álcoois subterminais são oxidados a cetonas, posteriormente a ésteres e esses, em seguida, são hidrolisados gerando um ácido e um álcool. Após a etapa de oxidação do álcool, os ácidos produzidos podem ser metabolizados em vias celulares normais (Ciclo de Krebs) (URURAHY, 1998).

De um modo geral, os alcanos ramificados são menos susceptíveis ao ataque microbiano do que os n-alcenos equivalentes devido ao impedimento estérico oferecido às enzimas oxidativas, em especial quando estas ramificações ocorrem em posição β e constituem compostos ramificados quaternários.

8.2.2 HIDROCARBONETOS CÍCLICOS

Segundo Sá (2002), os hidrocarbonetos cíclicos (cicloalcanos) são, normalmente, compostos resistentes ao ataque microbiano. No entanto, alguns trabalhos demonstram que os cicloalcanos substituídos e não substituídos podem sofrer degradação oxidativa e co-oxidativa. Os cicloalcanos não substituídos podem ser cometabolizados formando cetonas e álcoois. Após a oxigenação, a degradação prossegue com a clivagem do anel. Já a degradação dos cicloalcanos substituídos ocorre por via oxidativa, onde o ataque inicial ocorre na posição da substituição, formando compostos intermediários (composto cíclico de ácido carboxílico e aromático) que sofrem clivagem do anel (PRINCE, 1993). Normalmente, a degradação dos hidrocarbonetos cíclicos não substituídos ocorre mais lentamente do que a metabolização das formas substituídas. Em particular, compostos cíclicos altamente condensados apresentam elevada resistência à biodegradação devido a sua complexidade estrutural e ao seu estado físico (DEL'ARCO, 1999).

Pode-se verificar na Figura 10 a via metabólica de degradação do ciclohexano por *Pseudomona sp.* e *Nocardia sp.*



Fonte: WATKINSON e MORGAN apud TRINDADE, 2002.

FIGURA 10: Via metabólica de degradação do ciclohexano por *Pseudomona sp.* e *Nocardia sp.*

8.2.3 HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS

Conhece-se, atualmente, uma grande variedade de bactérias e fungos, além de algumas algas, que apresentam a habilidade de metabolizar os hidrocarbonetos aromáticos e os poliaromáticos (HPAS) (ALEXANDER, 1999). No entanto, a recalcitrância destes compostos é diretamente proporcional ao número de anéis condensados compreendidos na molécula do contaminante. Apesar de pou-

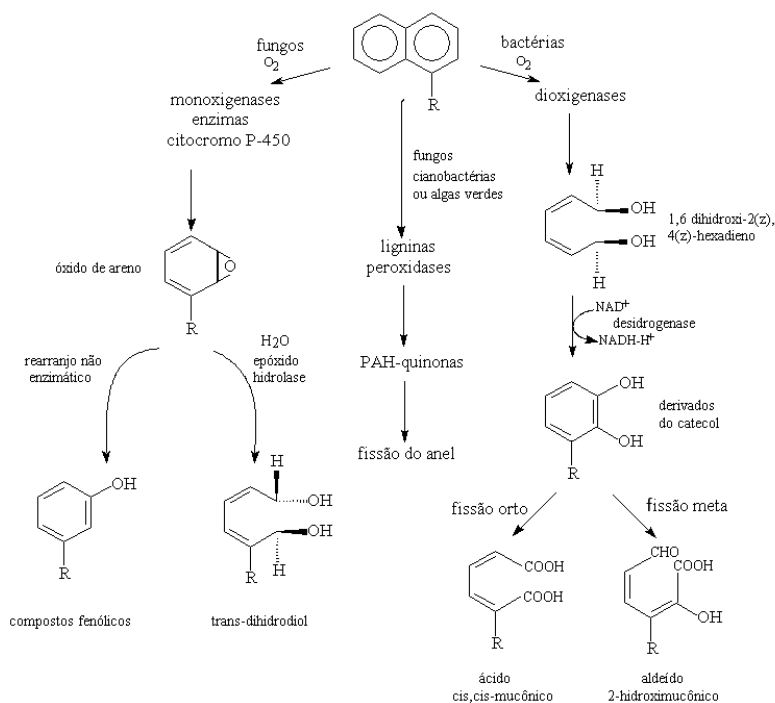
co elucidadas, existem fortes indicativos que o consumo de tais substâncias segue vias similares ao das estruturas monocíclicas (ALEXANDER, 1999).

De uma forma geral, observa-se que dois tipos de reações ocorrem na degradação de hidrocarbonetos aromáticos. A primeira é a quebra do anel aromático, ou de um dos anéis dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), pela atuação enzimática localizada e específica. A segunda reação é aparentemente uma hidroxilação não específica na qual as enzimas catalisam uma reação de adição de um grupamento hidroxila (-OH) em uma ou mais posições no substrato (ALEXANDER, 1999).

Geralmente, a degradação dos hidrocarbonetos aromáticos não substituídos, como, por exemplo, o benzeno, inicia-se com a formação de catecol. Em seguida, este pode ser catabolizado tanto pela enzima catecol 1,2-desidrogenase, entrando na via α -cetodipato, quanto pela enzima catecol 2,3-dioxigenase, mais comum em organismos eucariotas (MESARCH *et al.*, 2000; URURAHY, 1998). Já nos hidrocarbonetos aromáticos substituídos, o ataque inicial das enzimas pode ocorrer tanto na substituição quanto diretamente no anel.

Os hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs) são compostos orgânicos encontrados no petróleo e que possuem dois ou mais anéis benzênicos e baixa solubilidade em água. Como exemplos podemos citar naftaleno, antraceno, benzo(a)pireno, fenatreno, dentre outros. Sabe-se que os principais processos de remoção desses poluentes do ambiente são a biotransformação e a biodegradação (CERNIGLIA, 1992). A taxa de biodegradação desses compostos é inversamente proporcional ao número de anéis da molécula. Os HPAs de baixo peso molecular são degradados mais rapidamente que os compostos de maior peso molecular.

Pode-se verificar, pela Figura 10, que as bactérias e fungos diferem quanto à forma de ataque a moléculas dos compostos poliaromáticos onde os fungos filamentosos utilizam uma etapa de hidroxilação para dar início à quebra do anel aromático e posterior assimilação, enquanto a maioria das bactérias utiliza inicialmente uma etapa de oxidação.



Fonte: DEL'ARCO, 1999.

FIGURA 11: Vias metabólicas de degradação de hidrocarbonetos poliaromáticos.

8.2.4 ASFALTENOS E RESINAS

Os alftenos e as resinas são compostos que possuem estruturas muito complexas (substâncias aromáticas de alto peso molecular), de difícil análise pelas metodologias químicas convencionais, prejudicando bastante o entendimento da sua metabolização pelos microrganismos (PRINCE, 1993). A elucidação dos processos bioquímicos dos compostos asfaltênicos e resinas presentes no petróleo é um dos principais desafios para as futuras pesquisas sobre biodegradação de óleo cru.

De acordo com ampla revisão sobre biodegradação de hidrocarbonetos, realizada por Atlas (1981), nenhuma via metabólica uniforme tem sido determinada para os asfaltenos. Entretanto, alguns tra-

balhos são realizados com a finalidade de esclarecer essa dúvida. Bertrand *et al. apud* Atlas (1991) evidenciaram a degradação de asfaltenos e resinas através do processo de co-oxidação. Rontaine *et al. apud* Atlas (1991) também identificaram a co-oxidação de compostos asfálticos por um consórcio bacteriano, na presença de misturas de n-alcenos com 12 a 18 átomos de carbono.

8.2.5 MISTURAS COMPLEXAS DE HIDROCARBONETOS

Sabe-se que a quantidade e o tipo de hidrocarbonetos presentes no petróleo ou em misturas complexas influenciam a biodegradação individual desses componentes nas áreas impactadas.

Westlake *et al. apud* Atlas (1981) investigaram o efeito da composição do óleo cru na biodegradação de hidrocarbonetos e verificaram que a habilidade da população mista de microrganismos em utilizar os hidrocarbonetos como fonte de carbono foi extremamente influenciada pela fração insaturada e pela fração asfáltica dos óleos. Eles também observaram que na carência de hidrocarbonetos do tipo n-alcenos, a fração aromática do óleo foi capaz de sustentar o crescimento bacteriano.

No metabolismo de misturas complexas de hidrocarbonetos, como no caso de ambientes contaminados com óleo cru, os processos de cometabolismo e inibição devem ser considerados, pois ambos podem ocorrer (SÁ, 2002).

Pirnik *et al. apud* Atlas (1981) não observaram a biodegradação de pristano na presença de hexadecano. Enquanto Lepetit e Tagger *apud* Atlas (1981) determinaram que a produção de um composto intermediário (acetato), durante o processo de biodegradação, reduziu a utilização de hexadecano como substrato pelos microrganismos. Portanto, o processo de inibição provoca a permanência de alguns componentes do óleo cru, dificultando a recuperação dos ambientes contaminados.

Muitos hidrocarbonetos com cadeias ramificadas e cicloalcenos são removidos de ambientes contaminados com óleo cru, devido ao processo de cometabolismo. Segundo a revisão de Atlas (1981), durante a biodegradação de misturas complexas de hidrocarbo-

netos, a ocorrência do cometabolismo pode conduzir tanto à eliminação de compostos de difícil degradação quanto ao acúmulo de hidrocarbonetos de pesos moleculares e estruturas químicas diferentes, podendo acarretar um aumento de toxicidade dos sistemas contaminados.

9 | REFERÊNCIAS

- ALEF, K. e NANNIPIERI, P. In: *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, 1st ed., 576 p (1995).
- ALEXANDER, M. In: *Biodegradation and Bioremediation*. Academic Press, 2nd ed., San Diego, U.S.A., 453p (1999).
- ATLAS, R. M. *Bioremediation of Petroleum Pollutants*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 317-327 (1995).
- ATLAS, R.M.. *Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons: an Environmental Perspective*. *Microbiological Reviews*, 45(1): 180-209 (1981).
- ATLAS, R.M.. *Microbial Hydrocarbon Degradation-Bioremediation of Oil Spills*. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 52: 149-156 (1991).
- AULENTA, F., BIANCHI A., MAJONE, M., PAPINI, M. P., POTALIVO, M., TANDOI. *Assessment of natural or enhanced in situ bioremediation at a chlorinated solvent-contaminated aquifer in Italy: a microcosm study*. *Environment International*, 31:185-190 (2005).
- BANAT, I. M. *Biosurfactants production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation: A review*. *Bioresource Technology*, 51:1-12 (1995).
- BANERJEE, D. K.; FEDORAK, P. M.; HASHIMOTO, A.; MASLIYAH, J. H.; PICKARD, M. A. e GRAY, M. R. *Monitoring the Biological Treatment of Anthracene-Contaminated Soil in a Rotating-Drum Bioreactor*. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 43:521-528 (1995) .
- BANERJI, S. K.; ZAPPI, M. E.; TEETER, C.L., GUNNISON, D.; CULLINANE, M. J. e MORGAN, R. T. In: *Bioremediation of soils contaminated with petroleum hydrocarbons using bioslurry reactors*. U.S. Army Corps of Engineers, Washington, DC, october, 61p, (1995).
- BARKER, J.; CHATZIS, J. e OLIVEIRA, E. In: *Petrochemical contamination in the subsurface: processes, site assessment, remediation*. CENPES/PETROBRAS, 21 a 24 de agosto de 1995, Rio de Janeiro, Brasil (1995).
- BENTO, F.M., CAMARGO, F.A.O., OKEKE. B. C. e FRANKENBERGER, W.T.. *Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation*. *Bioresource Technology*, 96:1049-1055 (2005).

- BERNETH, L.; FIRTH, I.; McALLISTER, P. e RHODES, S. Biotechnologies For Remediation and Pollution Control in the Mining Industry. *Minerals & Metallurgical Processing*, 17(2): 105-111(2000).
- BOOPATHY, R. Factors Limiting Bioremediation Technologies. *Bioresource Technology*, 74:63-67 (2000).
- BRINKMANN, D.; RÖHRS, J. e SCHÜGERL, K. Bioremediation of Diesel Fuel Contaminated Soil in a Rotating Bioreactor. Part I: Influence of Oxygen Saturation. *Chemical Engineering Technology*, 21:168-172 (1998).
- CERNIGLIA, C.E. Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Biodegradation*, 3:351-368 (1992).
- CHO, B., CHINO, H., TSUJI, H., KUNITO, T., NAGAOKA, K., OTSUKA, S., YAMASHITA, K., MATSUMOTO, S. e OYAIZU, H. Laboratory-scale bioremediation of oil-contaminated soil of Kuwait with soil amendment materials. *Chemosphere*, 35 (7):1599-1611(1997).
- COLLINA, E., BESTETTI, G., DII GENNARO, P., FRANZETTI, A., GUGLIERSI, F., LASAGNI, M. e PITEA, D. Naphthalene biodegradation kinetics in an aerobic slurry-phase bioreactor. *Environment International*, 31 (2): 167-171 (2005).
- COLOMBO, J. C., CABELLO, M. e ARAMBARRI, A. M. Biodegradation of Aliphatic and Aromatic Hydrocarbons by Natural Soil Microflora and Pure Cultures of Imperfect and Lignolytic Fungi. *Environmental Pollution*, 94(3): 355-362 (1996).
- CORRÊA, O. L. S. In: *Petróleo: noções sobre exploração, perfuração, produção e microbiologia*. Rio de Janeiro: Ed. Interciência (2003).
- DAVIS, J. G. e WILSON, C. R. In: *Choosing a soil amendment*. Gardening series no 7.235, Colorado State University, Cooperative Extension 6/00 (2000).
- DEL'ARCO, J.P. Degradação de Hidrocarbonetos por Bactérias e Fungos em Sedimento Arenoso. Tese D. Sc., Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, Brasil, 171p (1999).
- DEUEL, L.E. e HOLLIDAY, G. H. In: *Soil Remediation for The Petroleum Extraction Industry*. PennWell, 2nd ed., Tulsa, U.S.A., 242p (1997).
- ELEKTOROWICZ, M. Bioremediation of petroleum-contaminated clayey soil with pretreatment. *Environmental Technology*, 15: 373-380 (1994).

- FIELD, S. D. Advanced biological treatment and separation of hazardous constituents from petrochemical sludges. *Journal of Hazardous Materials*, 28:101-113 (1991).
- GHAZALI, F. M., RAHMAN, R. N. Z. A., SALLEH, A. B. E BASRI, M. Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 54:61-67 (2004).
- GOGOI, B. K., DUTTA, N. N., GOSWAMI, P. e KRISHNA MOHAN, T. R. A Case Study of Bioremediation of Petroleum-Hydrocarbon Contaminated Soil at a Crude Oil Spill Site. *Advances in Environmental Research*, 7:767-782 (2003).
- GRAY, M. R.; BANERJEE, D. K.; FEDORAK, P. M.; HASHIMOTO, A.; MASLIYAH, J. H. e PICKARD, M. A. Biological Remediation of Anthracene-contaminated Soil in Rotating Bioreactors. *Appl Microbiol Biotechnol*, 40: 933-940 (1994).
- GROTENHUIS, T., FIELD, JIM, WASSEVELD, R. e RULKENS, W. Biodegradation of Polyaromatic Hydrocarbons (PAH) in polluted soil by the white-rot fungus *Bjerkandera*. Em: Extended summaries – Biochemistry of bioremediation by fungi. *Journal of Chemistry Technology and Biotechnology*. 71: 356-367 (1998).
- HAHN, W. J. e LOEHR, R. C. In: Biological treatment of petroleum oily sludges. SPE - Society of Petroleum Engineers - Permian Basin Oil and Gas Recovery Conference, Midland, Texas, march 18-20, U.S.A, 519-530 (1992).
- HOLMAN, H., Y., TSANG, Y. W. E WOLFF, V. A. Effects of soil moisture on biodegradation of petroleum hydrocarbons in a silt loam. Report LBL#36993, Lawrence Berkeley Laboratory, Berkeley, CA (1995).
- WESTON, R. F. In: Remediation of diesel and fuel oil hydrocarbons in high clay content soils: a field comparison of amendment performance conducted at the Maré Island Naval Shipyard, 2000 (<http://enviornfesc.navy.mil/erb/restoration/technologies/remed/bio> - página consultada em 14/07/04).
- HUESEMANN, M. H.; MOORE, K. O. e JOHNSON, R. N. The fate of BDAT polynuclear aromatic compounds during biotreatment of refinery API oil separator sludge. *Environmental Progress*, 12 (1): 30-38 (1993).
- INFANTE, C. e GONZÁLEZ, O. Comparacion del processo de biodegradacion de lodos petrolizados en biorreactores y en suelos. *Vision Tecnologica*, 3 (1):29-34 (1995).

- JORGENSEN, K. S., PUUSTINEN, J. e SUORTTI, A. M. Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soil By Composting in Biopiles. *Environmental Pollution*, 107:245-254 (2000).
- KRÜGER, M.; HARRISON, A. B. e BETTS, W. B. Treatment of Hydrocarbon Contaminated Soil Using A Rotating-Drum Bioreactor. *Microbios*, 83:243-247 (1995).
- LALLY, C. e RUSSEL, M. Soil and Water Bioremediation Using Bioreactors. <http://www.ce.vt.edu/enviro2/gwprimer/bioreact/bior.htm> (1996).
- LAUCH, R.P., HERRMAN, J. G., MAHAFFEY, W. R., JONES, A. B., DOSANI, M. e HESSLING, J. Removal of creosote from soil by bioslurry reactors. *Environmental Progress*, 11 (4): 265-271 (1992).
- LEAHY, J.G. e COLWELL, R.R. Microbial Degradation of Hydrocarbons in The Environment. *Microbiological Reviews*, 54 (3):305-315 (1990).
- LEBLANC, L. e FITZGERALD, A. Bioremediation: Striking Successes in Spill Cleanup, but Obstacles Remain. *Offshore*, September, 26-30 (1990).
- LIN, Q., MENDELSSOHN, I.A, HENRY JR, C.B, ROBERTS, P.O, WALSH, M.M., OVERTON, E.B. e PORTIER, R.J. Effects of bioremediation agents on oil degradation in mineral and sandy salt marsh sediments. *Environmental Technology*, 20:825-837 (1999).
- LINDLEY, N.D. Bioconversion and Biodegradation of Aliphatic Hydrocarbons. *Can. J. Bot.*, 43 (1): 51034-51042 (1995).
- LUCHESE, E. B., FAVERO, L. O. B. e LENZI, E. In: Fundamentos da química do solo. Rio de Janeiro: Ed. Freitas Bastos, 2001.
- MARGESIN, R. e SCHINNER, F. Efficiency of Indigenous and Inoculation Cold-Adapted Soil Microorganisms for Biodegradation of Diesel Oil in Alpine Soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 63 (7): 2660-2664 (1997).
- MASLIYAH, J. H., AFACAN, A. e WONG, A. K. M. Flow of slightly settling slurries in a horizontal rotary drum. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 70:1083-1089 (1992).
- MESARCH, M. B., NAKATSU, C. H. e NIES, L. Development of Catechol 2,3-Dioxygenase-Specific Primers for Monitoring Bioremediation by Competitive Quantitative PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (2):678-683 (2000).

- MEYSAMI, P. e BAHERI, H. Pre-screening of fungi and bulking agents for contaminated soil bioremediation. *Advances in Environmental Research*, 7:881-887 (2003).
- MOREIRA, F. M. S. e SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. Lavras: Editora. UFLA, Brasil (2002).
- MUELLER, J. G., LANTZ, S. E., BLATTMANN, B. O. e CHAPMAN, P. J. Bench-Scale Evaluation of Alternative Biological Treatment Processes for the Remediation of Pentachlorophenol- and Creosote-Contaminated Materials: Slurry-Phase Bioremediation. *Environ. Sci. Technology*, 25:1055-1061 (1991).
- NANO, G., BORRONI, A e ROTA, R. Combined Slurry and Solid-Phase Bioremediation of Diesel Contaminated Soils. *Journal of Hazardous Materials*, B100:79-94 (2003).
- NITSCHKE, M. e PASTORE, G.M. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. *Química Nova*, 25 (5): 772-776 (2002).
- PARTHEN J., SPRENGER, B.; EBNER, H. G. e SCUGERL, K. Determination of Technical Parameters for Microbial Soil Cleaning in Bioreactors. *DECHEMA Biotechnology Conferences*, 4:463-566 (1990).
- PIEPER, D. H. e REINEKE, W. Engineering Bacteria for Bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology*, 11:262-270 (2000).
- PRINCE, R.C, VARADARAJ, R., FIOCCO, R. J. e LESSARD, R.R. Bioremediation As An Oil Spill Response Tool. *Environmental Technology*, 20:891-896 (1999).
- PRINCE, R.C. Petroleum Spill Bioremediation in Marine Environments. *Critical Reviews in Microbiology*, 19 (4):217-242 (1993).
- PROVIDENTI, M. A., LEE, H. e TREVORS, J. T. (1993). Selected Factors Limiting the Microbial Degradation of Recalcitrant Compounds. *Journal of Industrial Microbiology*, 12:379-395 (1993).
- PUSKAS, K., AL-AWADHI, N., ABDULLAH, F. e LITERATHY, P. Remediation of oil-contaminated sandy soil in a slurry reactor. *Environment International*, 21 (4):413-421 (1995).
- RAHMAN, K.S.M., THAHIRA-RAHMAN, J., KORKOUTAS, Y., MARCHANT, I.P.R. e BANAT, I.M. Enhanced bioremediation of n-alkane in petroleum sludge using bacterial consortium amended with rhamnolipid and micronutrients. *Bioresource Technology*, 90:159-168 (2003).

- RAIMUNDO, R. S., MACEDO, R. C. e RIZZO, A. C. L. Tratamento de solo contaminado por petróleo empregando material estruturante. In: 44º Congresso Brasileiro de Química, Associação Brasileira de Química (ABQ), 20 a 24 de Setembro de 2004, Fortaleza, Ceará (2004).
- RAMÍREZ, N., GROSSO, J., CASTRO, A., AMADOR, L. e LEÓN, G. Nuevas tecnologías para biodegradacion de lodos aceitosos. In: CONEXPO ARPEL'92 (1992).
- RATLEDGE, C. In: Biochemistry of microbial degradation. Kluwer academic Publisher, The Netherlands (1994).
- RHYKERD, R. L., CREWS, B., MCINNES, K. J. e WEAVER, R. W. Impact of bulking agents, forced aeration, and tillage on remediation of oil-contaminated soil. *Bioresource Technology*, 67:279-285, (1999).
- RICHNOW, H. H., ANNWEILER, E., KONING, M., LUTH, J. C., STEGMANN, R., GARMS, C., FRANCKE, W. e MICHAELIS, W. Tracing the Transformation of Labelled [1-13C]phenanthrene in a Soil Bioreactor. *Environmental Pollution*, 108:91-101 (2000).
- ROMANTSCHUK, M., SARAND, I., PETÄNEN, T., PELTOLA, R., JONSSON-VIHANNE, M., KOIVULA, T., YRJÄLÄ, K. e HAAHTELA, K. Means to Improve The Effect of In Situ Bioremediation of Contaminated Soil: an overview of novel approaches. *Environmental Pollution*, 107:179-185 (2000).
- ROSS, D. Slurry-phase bioremediation: Case studies and cost comparisons. *Remediation*, 1 (1):61-74 (1991).
- SÁ, M. C. C. Tratamento de solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo. Tese M. Sc., Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, Brasil, 116p (2002).
- SALAMEH, M. F. e KABRICK, R. M. Treatment of petroleum oily sludges in liquid/solid contact reactors – Results of batch testing. In: Proceedings of the 46th Industrial Waste Conference, Purdue University, West Lafayette, Indiana, U.S.A, 55-64 (1992).
- SANER, M., BACHOFEN, R. e SCHNEIDER, K. Simulation of onsite vacuum heap aeration and soil surface enlargement by a closed agitated soil bioreactor. *Microbiological Research*, 151:29-35 (1996b).

- SANER, M., BOLLIER, D., SCHNEIDER, K. e BACHOFEN, R. Mass transfer improvement of contaminants and nutrients in soil new type of closed bioreactor. *Journal of Biotechnology*, 48:25-35 (1996a).
- SEMPLE, K. T., REID, B. J. e FERMOR, T. R. Impact of Strategies on the Treatment of Soils contaminated With Organic Pollutants. *ENVIRONMENTAL POLLUTION*, 112:269-283 (2001).
- SMITH, M.J., LETHBRIDGE, G. e BURNS, R.G. Bioavailability and Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils. *FEMS Microbiology Letters*, 152:141-147 (1997).
- SORIANO, A. U. Tratamento de Solos Argilosos Contaminados por Hidrocarbonetos de Petróleo. Relatório de Atividades Apresentado ao CNPq, Processo no 300479/99-9, Área – Engenharia Química (cadastrado na biblioteca do CETEM/MCT como Relatório Técnico – RT 08/2001 (2001).
- STRAUBE, W. L., NESTLER, C. C., HANSEN, L. D., RINGLEBERG, D., PRITCHARD, P. H. e JONES-MEEHAN, J. Remediation of polyaromatic hydrocarbons (PAHs) through landfarming with biostimulations and bioaugmentation. *Acta Biotechnologica*, 23 (2-3): 179-196 (2003).
- STROO, H. F., SMITH, J. R., TORPY, M. F., COOVER, M. V. e KABRICK, R. M. Bioremediation of Hydrocarbon-Contaminated Solids Using Liquid/Solids Contact Reactors. *Bioremediation*, 332-337 (1997)
- TRINDADE, P. V. O., RIZZO, A. C. L., SORIANO, A. U., SOBRAL, L. G. S. e LEITE, S. G. F. Bioremediation of a weathered and a recently oil-contaminated soils from Brazil: a comparison study. *Chemosphere*, 58: 515-522 (2005).
- TRINDADE, P. V. O. Avaliação das Técnicas de bioaugmentação e bioestimulação no processo de biorremediação de solo contaminado por hidrocarboneto de petróleo. Tese M. Sc., Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, Brasil, 127p (2002).
- TRUAX, D., BRITTO, R. e SHERRARD, J. H. Bench-Scale Studies of Reactor-Based Treatment of Fuel-Contaminated Soils. *Waste Management*, 15(5/6):351-357 (1995).
- URURAHY, A. F. P. Biodegradação de Resíduo Oleoso Proveniente de Refinaria de Petróleo. Tese DSc., Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, Brasil, 344p (1998).

- VASUDEVAN, N. e RAJARAM, P. Bioremediation of Oil Sludge Contaminated Soil. *Environmental International*, 26:409-411 (2001).
- VENOSA, A.D, SUIDAN, M.T, KING, D. e WRENN, B.A. Use of hopane as conservative biomarker for monitoring the bioremediation effectiveness of crude oil contaminating a sandy beach. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 18:131-139 (1997).
- VOGEL, T. M. Bioaugmentation as a soil bioremediation approach. *Current Opinion in Biotechnology*, 7:311-316 (1996).
- WALWORTH, J. L., WOOLARD, C. R., BRADDOCK, J. F. e REYNOLDS, C. M. The Role of Soil Nitrogen Concentration in Bioremediation. In: Fourth International In Situ and On Site Remediation Symposium, New Orleans, April 28–May 1, Battelle – Bioremediation, 4(4): 283-288 (1997).
- WARD, O., SINGH, A. e VAN HAMME, J. Accelerated Biodegradation of Petroleum Hydrocarbon Waste. *J. Ind. Microbiol Biotechnol*, 30:260 – 270 (2003).
- WATANABE, K. Microorganisms relevant to bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology*, 12:237-241 (2001).
- WOO, S. H. e PARK, J. M. Evaluation of Drum Bioreactor Performance Used for Decontamination of Soil Polluted with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 74:937-944 (1999).
- www.ambientebrasil.com.br. Site consultado em 24/02/05
- <http://www.icp.ecp.com/home/oferta/icp/pros-semi-biodegradacion.htm>

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 2005, 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 www.cetem.gov.br/series.

ÚLTIMOS NÚMEROS DA SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

- STA-36 - Remoção de Mercúrio de Efluentes Líquidos da Indústria Soda-Cloro usando *Sargassum* sp.
Luis Gonzaga Santos Sobral, André Luiz Ventura Fernandes, Renata de Barros Lima, Débora Monteiro de Oliveira e Priscila Gonçalves Xavier, 2006.
- STA-35 - Seleção de microrganismo para produção de xilanases em bagaço de cana-de-açúcar
Judith Liliana Solórzano Lemos, 2006.
- STA-34 - Estudo da Vermiculita como Adsorvente de Óleo e Metal Pesado
José Fernandes de Oliveira Ugarte e Marisa Bezerra de Mello Monte, 2005.
- STA-33 - O Transporte de Metais Pesados no Solo no Contexto da Disposição de Resíduos Sólidos
Paulo Sergio Moreira Soares, Lidia Yokoyama e Denize Dias de Carvalho Freire, 2005.
- STA-32 - Produção de Sulfeto em Reator do Tipo UASB e sua Potencial Aplicação na Remoção de Metais Pesados de Efluentes
Andréa Camardella de Lima Rizzo e Selma Gomes Ferreira Leite, 2004.

INFORMAÇÕES GERAIS

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

Tel.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>

NOSSAS 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.

