



You are free: to copy, distribute and transmit the work; to adapt the work.  
You must attribute the work in the manner specified by the author or licensor

## UTILIZAÇÃO DA BIORREMEDIAÇÃO COMO FERRAMENTA PARA O CONTROLE DA DEGRADAÇÃO AMBIENTAL CAUSADA PELO PETRÓLEO E SEUS DERIVADOS

Bruna Daniela Weber<sup>1</sup>; Antenor Aguiar Santos<sup>2</sup>

---

### RESUMO

O petróleo é considerado um dos grandes vilões do meio ambiente, pois é responsável pela contaminação tanto de ambientes terrestres quanto de ambientes aquáticos. Neste contexto, surge a biorremediação, que através do emprego de microrganismos, reduz e até mesmo elimina o petróleo do ambiente. Bioestimulação, bioventilação, bioaugmentação, biopilhas, air sparging, landfarming, compostagem e técnicas moleculares, são métodos utilizados na biodegradação de derivados de petróleo, que este estudo procura descrever. A partir da caracterização de cada uma das técnicas empregadas na biorremediação do petróleo, percebe-se que a seleção e aplicação de cada uma devem ocorrer somente, após a realização de estudos criteriosos dos fatores físicos, químicos e biológicos presentes na região impactada. Isto torna-se fundamental para que resultados satisfatórios sejam obtidos no processo de biorremediação do petróleo e de seus derivados.

**Palavras Chave:** Biorremediação; petróleo; microrganismos; técnicas.

### USE OF BIOREMEDIATION AS A TOOL FOR THE CONTROL OF ENVIRONMENTAL DEGRADATION CAUSED BY OIL AND DERIVATIVES

#### ABSTRACT

The oil is considered one of the great environment villains, because it is responsible for the contamination of both terrestrial as aquatic environments. In this context, appears to bioremediation, which through the use of microorganisms reduces or even eliminates the oil environment. Biostimulation, bioventilation, bioaugmentation, biobatteries, air sparging, landfarming, composting and molecular techniques are methods used in the biodegradation of petroleum, this study seeks to describe. From the characterization of each techniques used in the bioremediation of oil, it is clear that the selection and application of each should occur only after careful studies of the physical, chemical and biological processes in the region impacted. It's essential to obtained satisfactory results are obtained in the process of bioremediation of oil and its derivatives.

**Keywords:** Biorremediation; oil; microorganism; techniques.

---

Trabalho recebido em 22/11/2012 e aceito para publicação em 01/02/2013.

---

<sup>1</sup> Discente do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Adventista de São Paulo, Campus São Paulo. e-mail: brunadaniweber@hotmail.com.

<sup>2</sup> Biólogo, Professor do Curso de Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas Do Centro Universitário Adventista de São Paulo. Unasp. Campus São Paulo. Estrada de Itapecerica 5859, Capão Redondo – SP, CEP 5858-001, e-mail: antenor.santos@unasp.br.

## 1. INTRODUÇÃO

A industrialização mundial que se iniciou a partir de meados do século XVIII, na Inglaterra, trouxe inúmeros benefícios para os seres humanos, porém, aliado a este progresso, observam-se inúmeros prejuízos, verificados principalmente pelo aumento da poluição e da produção de resíduos. Na realidade, muitos dos problemas ambientais atuais são resultados de mais de 200 anos de má gestão do lixo industrial, sendo os locais contaminados uma consequência frequente do manuseamento e eliminação inadequados de materiais perigosos (ROCHA *et al.*, 2010).

Atualmente, existem diversas formas de emissões de resíduos tóxicos no meio ambiente, como por exemplo, a ocorrência de lixões e esgotos que poluem o solo e a água, desastres como derrame de petróleo em mares e rios, vazamentos de combustíveis ou outros produtos tóxicos que atingem os lençóis freáticos, dentre outras várias atividades que estão diretamente associadas à produtividade e ao desenvolvimento humano (CARNEIRO; CARIGLIO, 2010).

Considera-se o petróleo como um dos principais vilões do meio ambiente, no entanto ele é utilizado como a principal fonte de energia do país, servindo como base para a fabricação dos mais variados

produtos, dos quais se destacam benzinhas, óleo diesel, gasolina, lubrificantes, parafinas, querosene, asfaltos e até mesmo cosméticos e medicamentos.

O petróleo é constituído por uma mistura de diversos tipos de compostos orgânicos, em que a maior parte é formada por hidrocarbonetos. Cerca de 10% é formada por enxofre, 5% por oxigênio e 1% por nitrogênio. O petróleo apresenta outros elementos metálicos, porém em níveis traço (SPIRO ;STIGLIANI, 2009).

Este óleo rico em hidrocarbonetos forma-se a partir da matéria orgânica que sofre transformações em condições anaeróbicas e quando submetidas a elevadas pressões. Grandes quantidades de microrganismos que viviam nos oceanos na pré-história deram origem a este composto. Os ácidos graxos presentes nesses organismos possuem composição baixa em oxigênio e durante o processo de formação, o petróleo perdeu o pouco oxigênio apresentado, originando assim o óleo rico em hidrocarbonetos (PELCZAR JR. *et al.*, 1997; ROCHA *et al.*, 2010).

Observa-se que comumente são relatados problemas ambientais provocados durante seu transporte, principalmente quando ocorrem acidentes e o material é derramado (REIS *et al.*, 2005 e ROCHA *et al.*, 2010, p.148). Exemplos disto são os acidentes que ocorreram nas plataformas de petróleo da

Baía de Guanabara em diversos períodos, 1975, 1997 e 2000, este último é considerado um dos piores, pois atingiu os manguezais e ainda dezessete dos vinte rios que desembocam na baía. E mais recentemente o acidente ocorrido na bacia de Campos em novembro de 2011 (JORNAL O ESTADÃO, 2011).

Outro problema é a forma com que é realizado o descarte dos produtos derivados do petróleo, se estes não forem devidamente descartados, comprometerão tanto as fontes de água, quanto o próprio solo (VAITSMAN, 2006). Por outro lado, existem algumas tecnologias que permitem, a recuperação ou remediação de ambientes contaminados. Dentre elas uma que se destaca é a biorremediação, caracterizada por utilizar microrganismos com o objetivo de degradar resíduos prejudiciais ao ambiente (PELCZAR JR. 1997; TORTORA, 2005; MARIANO, 2006; LEMOS *et al.*, 2009; PEREIRA *et al.*, 2012).

Para a degradação de componentes tóxicos, existe uma outra tecnologia denominada fitorremediação, esta ao contrário da biorremediação que utiliza microrganismos, faz uso de plantas dotadas de potencial biodegradador de substâncias nocivas ao meio ambiente (SOUZA, 2003; GAYLARDE, 2005; DIREITO 2005; COUTINHO; BARBOSA, 2007 e ROCHA *et al.*, 2010).

Atualmente, não existe no Brasil uma legislação federal que regulamente a remediação de solos e águas contaminadas, existem apenas leis municipais (JACQUES *et al.*, 2009). A CETESB (Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental) é o órgão fiscalizador que levanta e cadastra sítios contaminados e avalia o estágio de contaminação em que se encontram (CUNHA *et al.*, 2008).

Percebe-se que a importância deste estudo deve-se ao grau de relevância que o emprego da biorremediação pode trazer para o meio ambiente e para o ser humano. Poucos são os organismos vivos que conseguem se adaptar e sobreviver em ambientes contaminados pelo petróleo e seus derivados. Neste contexto, surge a biorremediação como ferramenta capaz de reverter os danos causados pelo petróleo e/ou por seus derivados.

Assim, pretende-se neste estudo, descrever as técnicas utilizadas no processo de biorremediação do petróleo e/ou de seus derivados, bem como, apontar os principais microrganismos envolvidos no processo de biorremediação de petróleo, e ainda, discutir as vantagens e desvantagens do emprego desta tecnologia.

## 2. METODOLOGIA

Para a realização deste trabalho foram analisados, livros, artigos científicos, revistas impressas e/ou

eletrônicas, teses e dissertações de mestrado e doutorado, bancos de dados tais como: Scielo, Pubmed, etc.

### 3. DESENVOLVIMENTO

#### 3.1. Biorremediação

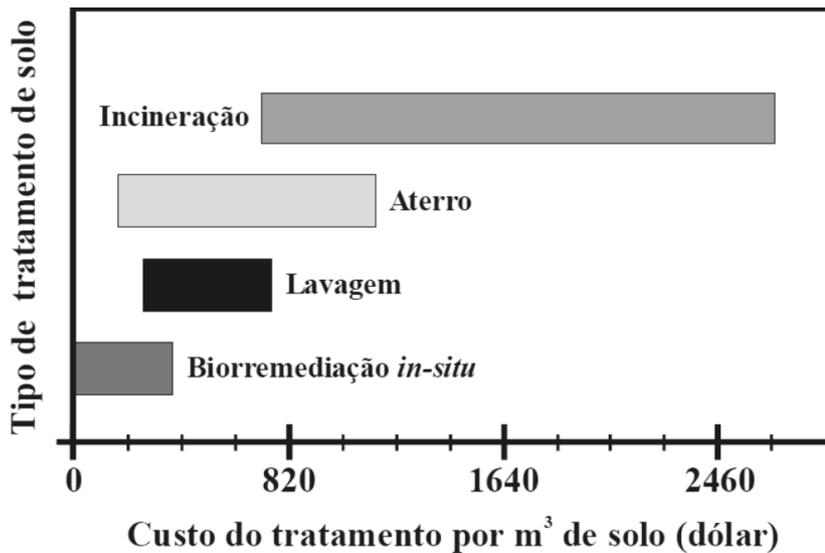
O emprego da biorremediação na recuperação de ambientes contaminados iniciou-se em 1988, quando cientistas utilizaram microrganismos para tratar o solo contra poluentes e lixos tóxicos (TORTORA, 2005, p. 17). O princípio básico desta tecnologia baseia-se no potencial apresentado pelos microrganismos, para degradar, modificar ou remediar substâncias tóxicas. Hidrocarbonetos aromáticos derivados do petróleo, presentes na natureza ou incorporados como compostos xenobióticos, podem ser degradados pelos microrganismos através de rotas catabólicas específicas (CUNHA *et al.*, 2008).

O mercado mundial da biorremediação tem se apresentado crescente. O maior mercado é o norte-americano, que no ano de 2005 correspondia a 35-40% do mercado mundial, onde mais de 95% dos processos de biorremediação eram empregados na

descontaminação de solos e lagoas contaminadas (BORÉM, 2005). Jacques *et al.*, 2009, afirmaram que norte-americanos, continuaram a dominar o mercado da biorremediação, juntamente com europeus ocidentais, japoneses e australianos.

Nos Estados Unidos, a biorremediação ocupa pouco mais de 20% do total de técnicas empregadas para o tratamento dos sítios contaminados, já, a cidade de São Paulo, apresenta, apenas 6% do total de técnicas associadas a biorremediação, sendo que, o percentual maior de remediação de ambientes contaminados, é empregado através de processos físicos ou químicos. Isto ocorre devido em grande parte ao conservadorismo comercial e tecnológico e ao pouco crédito nos preceitos da biotecnologia (JACQUES *et al.*, 2009).

A biorremediação é considerada o tratamento tecnológico despoluidor de solos mais eficiente, e com custos mais reduzidos quando comparada com outros processos como incineração, lavagem e aterro, conforme a figura 1, exposta na página seguinte (BORÉM, 2005 e ANDRADE, 2010).



**Figura 1:** Comparação entre Tratamentos Diversos de Solo e Custo.

Fonte: ANDRADE et al. (2010).

### 3.2 Organismos Biorredutores de Petróleo

No ambiente, os hidrocarbonetos são biodegradados principalmente, por bactérias e fungos, sendo que as bactérias são mais amplamente utilizadas nos processos de biorremediação (LEAHY; COLWELL, 1990 e MARIANO, 2006). Os microrganismos, somente irão desempenhar a função de degradar o petróleo, se o mesmo estiver distribuído de forma equilibrada no meio em que os microrganismos se encontram.

Além disso, muitos fatores ambientais de natureza física, química e biológica influenciam na capacidade de um sistema microbiano em biodegradar o petróleo. Os principais parâmetros físicos que possibilitam a remediação deste composto são: temperatura, pH, umidade,

luz, salinidade, teor de oxigênio e natureza física da matriz (solo, água, sedimento), concentração de substratos e presença de inibidores que influenciam na atividade enzimática dos microrganismos (ROCHA *et al.*, 2005, p.190; TORTORA *et al.*, 2005; CUNHA *et al.*, 2008 e ANDRADE, 2010).

A metabolização dos contaminantes é mais eficiente, quando a faixa de temperatura do ambiente encontra-se entre 25 e 30°C (ANDRADE *et al.*, 2010). Ecossistemas expostos a temperaturas extremamente baixas apresentam os hidrocarbonetos degradados de maneira muito lenta (LEAHY; COLWELL, 1990; BORÉM, 2005; ANDRADE *et al.*, 2010). Vidali 2001, *apud* Andrade *et al* (2010), afirma que os fungos mostram-se mais eficientes na biodegradação de

componentes de petróleo que as bactérias para agirem em condições ambientais adversas, como em valores extremos de pH (menor que 5 e maior que 10), e em concentrações limitadas de nutrientes e em solos com teores reduzidos de umidade. Andrade *et al.* (2010) afirmam, que em solos ácidos, o desenvolvimento de microrganismos é muito reduzido.

Existem compostos que aumentam a solubilidade dos contaminantes tornando-os mais acessíveis aos microrganismos, estes são chamados de surfactantes, quando adicionados ao meio favorecem que a biorremediação de hidrocarbonetos derivados de petróleo aconteça de forma mais satisfatória (ANDRADE *et al.*, 2010).

As populações microbianas podem ser provenientes do próprio ambiente, autóctones, ou provenientes de outros ambientes, alóctones, assim como também de culturas geneticamente modificadas, adaptadas para funções específicas, dependendo do substrato com o qual entrarão em contato (PELCZAR, JR. *et al.*, 1997; BENTO, 2003 e CUNHA, 2008). Resultados mais eficientes podem ser obtidos na biorremediação do diesel, por exemplo, quando esta, ocorre a partir da pré-seleção de microrganismos autóctones (BENTO, 2003). Por outro lado, organismos capazes de degradar toxinas em culturas, nem sempre conseguem realizar a mesma função quando

inoculados em ambientes naturais, pois eles podem se tornar suscetíveis a toxinas e predadores do ambiente (MARIANO *et al.*, 2007). Aquelas espécies adaptadas, ou seja, que já foram expostas a ambientes contaminados por petróleo, apresentam taxas maiores de biodegradação do que aquelas nunca expostas (LEAHY; COLWELL, 1990; ANDRADE *et al.*, 2010).

As substâncias orgânicas são metabolizadas através da respiração, fermentação ou por co-metabolismo. Esta última é aquela em que, a metabolização de compostos tóxicos por alguns microrganismos gera subprodutos que serão utilizados por outras espécies como substrato de crescimento. Isto se torna fundamental para a biodegradação de xenobióticos no ambiente, pois nenhum microrganismo isolado possui todas as enzimas necessárias para realizar a metabolização completa destas substâncias (BORÉM, 2005; ANDRADE *et al.*, 2010 e WETLER-TONINI *et al.*, 2011).

Determinadas espécies de fungos e bactérias que apresentam potencial para metabolizar hidrocarbonetos a partir da presença de oxigênio foram descobertas no início do século XX. Porém, o fato de existir muitos ambientes desprovidos de oxigênio e com grandes concentrações de hidrocarbonetos, permitiu, a partir de 1980, descobertas relacionadas a existência de

microrganismos que degradam hidrocarbonetos em condições anóxicas (WIDDEL; RABUS, 2001).

Borém, (2005) afirma que no ambiente, podem haver trocas de material genético entre os microrganismos, fato que contribui para o potencial biodegradador da comunidade microbiana. As mutações genéticas favorecem a disseminação de genes e conseqüentemente a disseminação do potencial de enzimas relacionadas ao metabolismo catabólico de moléculas recalcitrantes. Por outro lado, Coutinho e Gomes (2007), afirmam que existem problemas ambientais quando os microrganismos sofrem modificação genéticas no ambiente, pois os mesmos podem produzir substâncias indesejáveis ao ambiente.

### 3.2.1. Fungos

Entre os fungos, os gêneros *Aureobasidium*, *Candida*, *Rhodotorula*, e *Sporobolomyces ssp.* são os mais comuns encontrados em ambientes marinhos, já os fungos do gênero *Trichoderma* e *Mortierella spp.*, são proeminentes de solos (LEAHY; COLWELL, 1990).

As ordens Mucorales e Moniliales, são as principais ordens relacionadas à habilidade de metabolização hidrocarbonetos e os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* possuem muitas espécies que assimilam hidrocarbonetos (MARIANO,

2006). De acordo com Riserroberts (1992) *apud* Mariano (2006) ao contrário das bactérias e leveduras, os fungos filamentosos parecem ser mais hábeis em degradar ou transformar hidrocarbonetos de estrutura complexa e de cadeia longa.

O metabolismo dos fungos geralmente resulta numa degradação incompleta que necessita da associação de bactérias para alcançar a completa oxidação do petróleo.

### 3.2.2. Bactérias

Dentre as bactérias mais utilizadas atualmente como biorremediadores, estão as espécies do gênero *Pseudomonas* e *Bacillus*. As *Pseudomonas*, são capazes de degradar petróleo para suas necessidades de carbono e energia, na presença de oxigênio, metabolizam dois carbonos de cada vez de uma molécula grande de petróleo (TORTORA *et al.*, 2005). A cepa bacteriana da espécie *Pseudomonas putida*, foi a primeira a ser geneticamente construída e patenteada para esta finalidade. A *P. putida* apresenta a capacidade de metabolizar quatro hidrocarbonetos de petróleo bruto: cânfora, octano, xileno e naftaleno (PELCZAR JR., 1997). Por outro lado, Mariano *et al.* (2007) identificaram as bactéria gram-positivas *Staphylococcus hominis* e *Kocuria palustres*, em solos contaminados por hidrocarbonetos.

Já em relação aos gêneros bacterianos mais importantes envolvidos na degradação de hidrocarbonetos de petróleo tanto em ambientes terrestres como em ambientes marinhos, de acordo com Laehy; Colwell (1990), são: *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Nocardia* e *Pseudomonas spp.*, já o gênero *Vibrio spp.*, degrada hidrocarbonetos, exclusivamente, em ambientes marinhos.

A cultura de *Pseudomonas aeruginosa* LBI, demonstra capacidade para produzir biossurfactantes, porém pode não apresentar bom desempenho quando matérias primas alternativas são utilizadas, por exemplo, óleo diesel intemperizado, fato que compromete a produção *in-situ* de biossurfactantes que aceleram a biodegradação de hidrocarbonetos provenientes de vazamento (MARIANO, 2006).

Algumas espécies do gênero *Burkholderia* possuem potencial biotecnológico significativo na biorremediação de compostos derivados de petróleo (O'SULLIVAN; MAHENTHIRALINGAM, 2005).

### 3.3. Tipos de Biorremediação

Existem diversos processos de biorremediação, sendo que cada um apresenta particularidades e requer

adequações e otimizações específicas para aplicação em diferentes ambientes afetados. A biorremediação pode ser realizada no próprio local contaminado (*in situ* ou *on-site*) ou fora do ambiente (*ex-situ* ou *off-site*). O tratamento *ex-situ* é realizado fora do local onde a contaminação ocorreu, ou seja o solo contaminado é removido e tratado em outro local. Apesar do elevado custo, esta técnica permite controlar de forma mais eficiente as condicionantes do meio. Já o tratamento *in-situ* é realizado no próprio local da contaminação. Este método é mais econômico do que aquele do *ex-situ* (LEMOS *et al.*, 2009; ANDRADE, 2010; CARNEIRO; CARIGLIO, 2010).

#### 3.3.1 Biorremediação Bioestimuladora ou Atenuação Natural Acelerada

Os cientistas descobriram uma maneira de acelerar o processo de biodegradação de contaminantes, sem a utilização da engenharia genética. Perceberam que a adição de fertilizantes e/ou surfactantes tais como, nitrogênio e fósforo (biofortificantes) em locais contaminados, estimula e aperfeiçoa o processo de degradação das substâncias tóxicas existentes em diferentes ambientes pelos microrganismos (ATLAS, 1991; TORTORA *et al.*, 2005, FRANCISCO; FRANÇA, 2007; SPIRO; STIGLIANI, 2009 e ANDRADE *et al.*, 2010). Um

exemplo do poder de degradação apresentado por esta técnica foi comprovada em 1989, no tratamento do óleo liberado pelo desastre do Exxon Valdes em março de 1989, em Prince William Sound, no Alasca. Cerca de 35.000 toneladas métricas de petróleo bruto foram derramadas no local. No ano de 1992, todo o óleo flutuante original havia desaparecido (ATLAS, 1991; SPIRO TORTORA *et al.*, 2005, e STIGLIANI, 2009).

Este método de tratamento pode ser tanto *ex situ*, como *in situ*. No tratamento de ambientes contaminados através do método bioestimulador *ex situ*, com o emprego de bactérias aeróbicas, foram utilizados tratamentos com alterações de nutrientes como, nitrogênio, fósforo e o surfactante Tween 80 (este último, aumenta a biodisponibilidade de hidrocarbonetos), percebeu-se que houve melhora significativa na eficiência da biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo, pois os microrganismos biodegradavam os hidrocarbonetos do óleo diesel, transformando-os em gás carbônico (CO<sub>2</sub>), processo que pode ser chamado tanto de decomposição como de mineralização (MARIANO, 2007; COUTINHO; GOMES, 2007 e CUNHA *et al.*, 2008). Gaylard *et al.*, (2005), apontam, que as técnicas de bioestimulação demonstraram um aumento de 5 a 10 vezes

nas taxas de degradação do contaminante. Porém, existem dúvidas sobre os efeitos à longo prazo, pois as taxas de degradação tendem a se igualar com o tempo. Resultados semelhantes foram obtidos por Bento (2003), que observou altas taxas de biodegradação de óleo diesel, a partir do tratamento de bioestimulação e do tratamento de bioaugmentação nas semanas iniciais de tratamento em que foi realizada a incubação dos microrganismos no solo contaminado.

Na maioria dos trabalhos já realizados com esta técnica, pôde-se notar, portanto, que a disponibilidade de nutrientes é um importante fator fundamental para o sucesso da biorremediação natural do solo contaminado.

### 3.3.2. Bioventilação

A bioventilação é uma tecnologia *in situ*, caracteriza-se pela adição de oxigênio ao solo contaminado o que favorece o crescimento, desenvolvimento e metabolização de microrganismos autóctones e alóctones. Esta técnica é efetiva na remediação de produtos de petróleo, incluindo gasolina, produtos de aviação, querosene e diesel (PEDROZO *et al.* 2002 e LEMOS, 2009). É utilizada em locais contaminados por produtos de peso molecular intermediário, porque os produtos leves tendem a volatilizar-se

rapidamente. Uma das vantagens desta técnica é que o tempo de tratamento é relativamente curto, entre 6 meses e 2 anos (PEDROZO *et al.*, 2002).

### 3.3.3. Bioaugmentação

De acordo com Andrade *et al.* (2010), esta é uma técnica recente. Microrganismos são inoculados em ambientes contaminados, estes são selecionados, para se desenvolverem e metabolizarem meios contendo substâncias tóxicas, ou ainda bactérias são geneticamente modificadas para adaptarem-se a decompor produtos derivados de petróleo (TORTORA, 2005, p.772).

A bioaugmentação utiliza microrganismos alóctones, bactérias e em alguns poucos casos fungos. Esta pode apresentar bons resultados e custos reduzidos. A Petrobrás, utilizou este método na remediação do vazamento de 4 milhões de litros de petróleo da Refinaria Presidente Getúlio Vargas, em Araucária (PR), fato ocorrido no dia 16 de julho de 2000 (BORÉM, 2005). Percebe-se que técnica de bioaugmentação, a partir do emprego de consórcio microbiano pode ser utilizada juntamente com a técnica de bioestimulação. O consórcio bacteriano (complexa população de microrganismos que atua na biodegradação de forma sinérgica) melhora significativamente a

eficiência da biodegração de produtos derivados de petróleo (MARIANO *et al.*, 2007; BENTO *et al.*, 2003). Outro fator que permite o melhor desempenho do bioaumento trata-se da utilização de organismos já presentes no solo contaminado, pois estes já se encontram adaptados ao ambiente contaminado (BENTO *et al.*, 2003).

Somente no ano de 2007 que a CETESB autorizou a prática da bioaugmentação para a remediação de solos e águas contaminadas. Até então a bioestimulação era proibida no Brasil. É preciso salientar, que os agentes microbianos utilizados em processos de biorremediação não podem ser microrganismos patogênicos e nem produzir compostos tóxicos (LEAHY; COLWELL, 1990).

Atualmente, muitos produtos tem sido lançados no mercado mundial, com o objetivo de auxiliar no tratamento de solos contaminados por produtos derivados do petróleo. Há alguns, que apresentam microrganismos exógenos, que favorecem a indução da bioaugmentação dos solos contaminados. Outros ainda apresentam em sua composição, nutrientes e surfactantes para aumentar o potencial biorredutor dos microrganismos (ANDRADE *et al.*, 2010; MARIANO, 2006). Por outro lado, o lançamento indiscriminado de microrganismos

exógenos, pode trazer riscos irreparáveis ao meio ambiente. Os mesmos podem transferir informações genéticas para organismos naturais de determinado ambiente, provocando desequilíbrios no ecossistema. Técnicas que empregam OGMs (Organismos geneticamente modificados) para esta finalidade devem ser submetidas a avaliações muito mais criteriosas para serem realizadas.

Na Tabela 1 observa-se o percentual acumulado de degradação e taxa semanal de degradação das frações leves e pesadas de petróleo global hidrocarbonetos de petróleo (HP) presentes nos dois solos contaminados, através dos métodos de biorremediação bioestimuladora.

Tabela 1. Degradação de Frações Leves e Pesadas de Petróleo

<b>Frações de HTP</b>	<b>Frações pesadas</b>		<b>Frações Leves</b>	
	<b>Long Beach</b>	<b>Hong Kong</b>	<b>Long Beach</b>	<b>Hong Kong</b>
<b>Tratamentos</b>	<b>% de Degradação</b>			
Atenuação natural	48,7	23,3	45,7	7,5
Bioestimulação	45,8	16	45,2	6,2
Bioaumentação	75,2	17,8	72,7	7,3

Fonte: BENTO *et al.* (2003, p. 66).

De acordo com a tabela acima, o solo de Long Beach mostrou maior degradação de TPH (totais de hidrocarbonetos de petróleo) degradados, do que o solo de Hong Kong. Em Long Beach, a bioaumentação apresentou maior taxa de degradação da fração leve (72,7%) e da fração pesada (75,2%) de HP. Já em Hong Kong, percebe-se que a atenuação natural (biorremediação passiva) foi mais efetiva do que a bioestimulação (BENTO, 2003).

A atenuação natural é uma estratégia de gerenciamento que se baseia nos processos naturais para remover ou conter

os contaminantes dissolvidos na água e utilizada quando os contaminantes não geram riscos a saúde pública e do meio ambiente (MARIANO, 2006).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, percebe-se que o sucesso de biorremediação é dependente do nível de metabolismo e adaptação genética de populações microbianas no ambiente em que se encontram inseridas.

### 3.3.4. Biopilhas

O tratamento utilizado nesta técnica é *ex situ*. O material contaminado é

disposto em montantes, denominados biopilhas. Primeiramente o solo é escavado, então é preparado e colocado em biopilhas, onde os microrganismos são estimulados a metabolizarem constituintes do petróleo, através de aeração, adição de nutrientes e aumento da umidade do solo (PEDROZO *et al.*, 2002; ANDRADE *et al.*, 2010; SEABRA, 2005).

Seabra (2005), confirma que o tratamento em biopilha, contribui para recuperar a qualidade dos solos em termos de ecotoxicidade, porém para Andrade *et al.*, (2010), o transporte e o tratamento *ex-situ* dos solos por biopilhas favorecem a transferência do problema para outros locais que também poderão se tornar contaminados, ou seja o solo para este autor não é completamente tratado. Por outro lado, Seabra (2005) relata que a aplicação da biopilha no tratamento de solos argilosos contaminados com petróleo é viável, pois elimina os riscos que o óleo residual causa ao meio ambiente a curto e médio prazo, por meio de sua biodegradação, contudo Andrade *et al.* (2010), justifica que o emprego desta técnica é recomendado somente nos casos em que exista a presença de resíduos altamente perigosos, ou em que seja demonstrado a impossibilidade de utilização de outra técnica. Vale ressaltar que, quando o contaminante for o petróleo, o produto final do processo, pode ou não

ser utilizado pela agricultura, isto vai depender da ausência da toxidez do resíduo (LEMOS, 2009).

O bom desempenho de um sistema de biopilha está relacionado à boa transferência de massa (ar, água e nutrientes) no seu interior, sendo mais indicada para solos arenosos. A biopilha pode ser utilizada em ambientes contaminados por petróleo, e no Brasil existem inúmeros ambientes contaminados por este composto, contudo, o emprego desta técnica apresenta um desafio tecnológico devido aos elevados teores de argila e silte encontrados em muitos dos solos brasileiros (estes diminuem a permeabilidade do solo). Deste modo, é necessário avaliar a aplicabilidade da biopilha para essas condições (SEABRA, 2005).

### 3.3.5. Air Sparging

É uma tecnologia caracterizada por introduzir ar no aquífero contaminado para produzir borbulhamento na água. As bolhas de ar são atravessadas horizontalmente e verticalmente pela coluna de solo, criando uma aeração que remove os contaminantes por volatilização. O sistema de aeração *in situ* pode, também, favorecer a biodegradação aeróbica de determinados compostos orgânicos por incrementar a quantidade de oxigênio dissolvido nas águas do aquífero

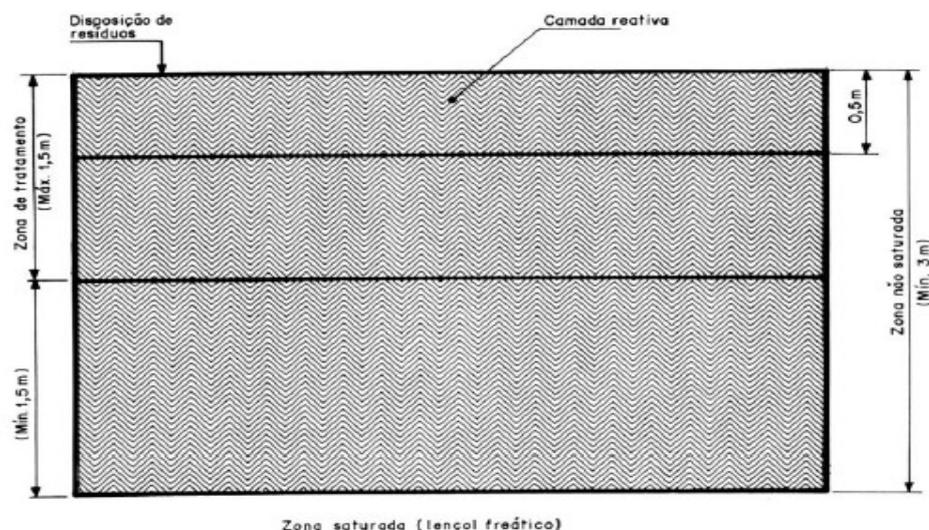
(*biosparging*). A profundidade da contaminação e do nível d'água local, as rochas ou sedimentos pouco permeáveis que impossibilitam a subida dos gases, são fatores que limitam a aplicabilidade e eficiência deste processo (MARIANO, 2006; COUTINHO; GOMES, 2007). O air sparging, é mais eficiente para os constituintes leves de petróleo, como os BETEXs (compostos formados pelos hidrocarbonetos: benzeno, etil-benzeno, toluenos e os xilenos) presente nas gasolinas. O tempo necessário para que o ambiente contaminado seja restaurado é curto, geralmente de 1 a 3 anos (PEDROZO, 2002).

### 3.3.6 Landfarming

Landfarming é uma tecnologia de superfície de remediação do solo, que reduz as concentrações dos constituintes do petróleo através de biodegradação

(PEDROZO *Et al.*, 2002). De acordo com a NBR da ABNT 13984, (1997), a camada reativa, medida a partir da superfície do solo, não deve ser superior à 0,50 m. Francisco; França (2007), afirmam que componente tóxico é degradado na camada superior do solo entre 15-20 cm, sendo necessário o fornecimento adequado de oxigênio e nutrientes para os microrganismos aeróbios. O método, portanto baseia-se nas propriedades físicas e químicas do solo contaminado, assim como da atividade microbiana associada ao mesmo.

A profundidade máxima da zona de tratamento, medida a partir da superfície do solo, não deve ser maior que 1,50 m, conforme demonstrado na figura abaixo. Esta medida pode ser alterada a critério do Órgão Estadual de Controle Ambiental (NBR, 13894).



**Figura 2:** Seção Transversal Esquemática do Tratamento no Solo (landfarming)

**Fonte:** ABNT - NBR 13894 (1997).

Quando os resíduos são adicionados ao solo, acontecem os seguintes processos: degradação biológica, incorporação na matriz do solo, volatilização, percolação e lixiviação superficial. Os resíduos são misturados ao solo e submetidos a uma biorremediação *in situ* - bioestimulação (FRANSCISCO; FRANÇA, 2007). Neste processo tem-se como principais preocupações a aeração do solo e a manutenção de determinado teor de nutrientes no mesmo para que as bactérias possam degradar os contaminantes.

O resíduo é aplicado à superfície de uma área e misturado com o solo por meio de equipamentos convencionais, como tratores equipados com arados e/ou grades. O resíduo oleoso é incorporado ao solo, sob condições controladas, para promover a degradação e imobilização dos contaminantes perigosos presentes. (FRANSCISCO; FRANÇA, 2007).

Alguns fatores devem ser analisados para a implantação desta técnica como análise do terreno, para determinar as camadas de permeabilidade do terreno (zona saturada, insaturada), o nível de lençol subterrâneo, pH, umidade, concentração de microrganismos, teor de nutrientes e capacidade de troca iônica. O custo deste processo é baixo, porém o processo é lento e incompleto, além disso, ocorre acúmulo gradual de metais pesados

no solo de landfarming impedindo seu uso posterior como fertilizante (FRANSCISCO; FRANÇA, 2007 e LEMOS *et al.*, 2009).

Para a implantação desta técnica, deve haver um estudo detalhado do solo, de forma que os microrganismos e os contaminantes não atinjam a zona insaturada, onde encontram-se os lençóis freáticos. A infiltração destes, nesta zona de tratamento, tem capacidade de gerar danos ainda piores para o meio ambiente, que aqueles causados pelos derivados de petróleo.

Esta tecnologia tem se mostrado útil na degradação de quase todos os derivados de petróleo (PEDROZO *et al.*, 2002).

### 3.3.7 Compostagem

De acordo com Fernandes e Silva (1999), “Compostagem pode ser definida como uma biooxidação aeróbia exotérmica de um substrato orgânico heterogêneo, no estado sólido, caracterizado pela produção de CO<sub>2</sub>, água, liberação de substâncias minerais e formação de matéria orgânica estável”. De acordo com Francisco e França, (2007), compostagem é o processo utilizado para a disposição e degradação de resíduos oleosos (borra) resultantes de operações de refino de petróleo. Os resíduos são misturados ao solo e submetidos a bioestimulação.

Para a indústria petrolífera, este sistema de tratamento passou a se tornar interessante, principalmente quando suas unidades de instalação situam-se distantes do local em que o centro de tratamento encontra-se. Além das empresas evitarem o custo de transporte com este tipo de tratamento, esta tecnologia elimina os hidrocarbonetos contidos nos resíduos, requer menor área de tratamento que o de *landfarming*, oferece um material estabilizado que pode ser usado no melhoramento do solo, evitando desta forma a acumulação do material tratado. Esta tecnologia é mais adequada para pequenas unidades de produção (FRANSCISCO; FRANÇA, 2007).

A estratégia desta técnica é o emprego de material que favoreça a porosidade do solo, a transferência de oxigênio, e concentração ideal de nutrientes para que os microrganismos se desenvolvam. Os materiais utilizados na compostagem são: palha, grama, folhas, bagaço de cana, serragem e esterco (LEMOS, 2009).

Muitos autores referem-se às técnicas de biopilha e de compostagem como sinônimos. Porém existe uma diferença significativa entre estas técnicas, por conta disto são tratadas como processos distintos neste estudo. Na técnica de compostagem ocorre o revolvimento periódico das pilhas de contaminantes e do solo, já no método

de biopilhas o contaminante é misturado somente no início do processo, sendo por isso considerado um processo estático.

#### **3.4. Microbiologia Molecular e Biorremediação**

A partir da aplicação recente das técnicas de biologia molecular, associada ao avanço da bioinformática, pode-se notar uma maior diversidade de microrganismos presentes em áreas impactadas (CUNHA *et al.*, 2008 e LEMOS *et al.*, 2009).

Para a aplicação de microrganismos em qualquer tipo de técnica de biorremediação, é importante que os mesmos sejam identificados e sua metabolização e comportamento no ambiente conhecidos (GAYLARDE, 2005 e CUNHA *et al.*, 2007). A realização da detecção dos microrganismos pode se dar através de técnicas de isolamento de cultivo e de isolamento independente de cultivo (GAYLARDE, 2005). No primeiro método, utilizam-se protocolos convencionais de microbiologia, porém, de acordo com Cunha e colaboradores (2008), apenas pequena parte de organismos degradadores de poluentes podem ser identificados, entre (0,1 e 10%), esta técnica também se mostra desvantajosa, pelo fato de os microrganismos após várias gerações, apresentarem alterações fisiológicas, estruturais e até genéticas significativas (CUNHA *et al.*, 2007 e LEMOS *et al.*, 2009).

Já o método independente de cultivo tem por objetivo analisar as células e/ou ácidos nucléicos extraídos da amostra através de sondas moleculares para genes determinados ou de amplificação destes por meio de PCR - *polymerase chain reaction* (GAYLARDE, 2005; CUNHA *et al.*, 2007; NISHIO, 2010 e WETLER-TONINI *et al.*, 2011), o que possibilita, a detecção e o controle, tanto dos microrganismos específicos como dos genes de degradação relacionados ao emprego da biorremediação (GAYLARDE, 2005).

FISH (*fluorescent in situ hybridization*) é um método que permite a visualização dos microrganismos em seu habitat natural, através da utilização de sondas oligonucleotídicas. O método encontra-se descrito detalhadamente em diversos trabalhos realizados por NISHIO, (2010), WETLER-TONINI *et al.* (2011).

De acordo com WETLER-TONINI *et al.* (2011): “as técnicas de investigação da diversidade microbiana estrutural mudaram de cultivo para métodos que se baseiam na investigação de parte da sequência do DNA, com maior ênfase para o gene 16S rDNA, em bactérias, e 18S rDNA, para fungos”. A técnica do gene RNAr 16S é o método mais utilizado para o estudo da diversidade microbiana ambiental, pois este mesmo gene, está

presente em todas as células vivas (NISHIO, 2010).

Duas das principais técnicas baseadas em PCR (*polymerase chain reaction*), comumente usadas com a finalidade de estudar a diversidade e identificar microrganismos ambientais, refere-se a ARDRA e DGGE. ARDRA (*amplified ribosomal DNA restriction analysis*) é uma ferramenta comumente empregada para estudar a diversidade microbiana, que se baseia no polimorfismo do DNA (WETLER-T, 2011 e NISHIO, 2010). O DGGE (*denaturing gradient gel electrophoresis*) é um método que pode ser utilizado para amostras de solo, sedimento ou água. Consiste na amplificação de fragmentos do gene 16S rRNA e posterior corrida dos produtos da PCR em um gel com gradiente de desnaturação 30-60% ureia/formamida (GAYLARDE, 2005; CUNHA *et al.*, 2007; NISHIO, 2010 e WETLER-TONINI *et al.*, 2011). Existem ainda muitas outras técnicas descritas na literatura fundamentadas em PCR.

De acordo com Rosado *et al.*, (1997) *apud* Cunha (2007) e Lemos *et al.*, (2009), a revolução do conhecimento permitiu o desenvolvimento de uma nova área na Microbiologia Ambiental, denominada Ecologia Microbiana Molecular. A biologia molecular torna-se, portanto, uma ferramenta eficaz para o monitoramento de estudos de impactos ambientais. Pois é

possível analisar com maior precisão aquelas comunidades microbianas mais adaptadas para atuarem no processo de biorremediação de forma mais satisfatória.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos trabalhos analisados, percebe-se maior predominância, no emprego de bactérias do que de fungos. Dentre as bactérias, *pseudomonas* é o gênero mais citado, como agente metabolizador de petróleo e seus derivados.

A bioaugmentação é um importante método biorremediador de ambientes contaminados por produtos derivados de petróleo, que juntamente com a bioestimulação, podem ser empregadas em conjunto com outras técnicas como landfarming, bioventilação, entre outras.

A bioventilação torna-se efetiva na remediação de gasolina, produtos de aviação, querosene e diesel em ambientes terrestres, o tempo de tratamento desta técnica, assim como da técnica de air sparging é relativamente curto. O air sparging é utilizado para remediar ambientes aquáticos, mostra-se mais eficiente para degradar constituintes leves de petróleo, como os BETEXs presentes nas gasolinas. Já a técnica biorremediadora de landfarming, tem se apresentado útil na degradação de quase todos os derivados de petróleo e ainda, e ainda, requer tempo

inferior ao de outras tecnologias para o tratamento de ambientes contaminados.

A compostagem é capaz de eliminar os hidrocarbonetos de petróleo contidos nos resíduos e evita o acúmulo do material tratado, já que o mesmo pode ser utilizado no melhoramento do solo. Mostra-se viável também, a utilização da técnica de biopilha, não somente em solos arenosos, como também em solos argilosos contaminados por petróleo. Este fato é importante, pois os solos argilosos compõe grande parte do território Brasileiro. Tanto a técnica de biopilha como de compostagem, requerem pouca área para a realização do tratamento de resíduos derivados de petróleo.

O avanço da biologia molecular no monitoramento de estudos de impactos ambientais tornou-se uma eficaz ferramenta para a biorremediação, que tem melhorado significativamente este processo, pois possibilita a identificação mais precisa dos microrganismos existentes em sítios impactados, assim como realiza modificações genéticas nos mesmos, para melhorar seu potencial metabolizador de produtos derivados de petróleo.

#### 5. CONCLUSÃO

Embora sejam utilizadas outras tecnologias para a descontaminação de ambientes poluídos de petróleo e seus

derivados, a biorremediação é a alternativa biológica mais correta e eficaz para o tratamento de ambientes contaminados por estas substâncias de difícil degradação. Porém é necessário que haja o estudo detalhado da região a ser exposta a este método, dos tipos de organismos que serão expostos à contaminação, o potencial microbiano em degradar materiais tóxicos, assim como a técnica mais adequada a ser aplicada ao ambiente contaminado.

## 6. REFERÊNCIAS

- ANDRADE, J. A.; AUGUSTO F. e JARDIM, I. F. **Biorremediação de solos contaminados por Petróleo e seus derivados.** Eclética Química, Campinas, v.35, n. 3, p.17-43, 2010.
- ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13894:** Tratamento no solo (landfarming), Rio de Janeiro, 1997, 10 p.
- ATLAS, R. M. Microbial Hydrocarbon Degradation - **Bioremediation of Oil Spills.** *J. Chem. Tech. biotechnol. Depanment of Biology.* University of Louisville. Louisville, Kentucky, n. 52, p. 149-156, 1991.
- BENTO, F.M; CAMARGO, F.A.O.; OKEKE, B. e FRANKENBERGER, JR. W. L. **Bioremediation of soil contaminated by diesel oil.** In: CONGRESS OF MICROBIOLOGY, 2003, p. 17-20, Florianópolis, SC, Brazil. Anais... Departamento de Solos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. Department of Environmental Science, Geology Building, University of California, Riverside, USA, 2003, v.34, p. 65-68.
- BORÉM, A. **Biotecnologia e Meio ambiente.** Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 2005. Cap. 5, p. 96-117.
- CARNEIRO, D. A.; CARIGLIO, L. P. **A biorremediação como ferramenta para a descontaminação de ambientes terrestres e aquáticos.** Revista Tecer, Belo Horizonte, v. 3, n. 4, 2010.
- COMPANHIA ESTADUAL DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas – critérios para projeto e operação.** XVII Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos. Manual técnico. São Paulo, 1999. 19 p.
- COUTINHO, H. D. e BARBOSA, A. R. **Fitorremediação: Considerações Gerais e Características de Utilização.** Universidade Federal da Paraíba, 2007.
- CUNHA, C. D. et al. **Biorremediação de água subterrânea contaminada com gasolina e análise molecular da comunidade bacteriana presente.** CETEM/MCT - Série Tecnologia Ambiental. Rio de Janeiro: 45p. 2008.
- DIREITO, I. C. N. **Deteção de Genes Geradores de Compostos em solos de Compostos Aromáticos de Rizosfera sob Manejo Convencional e Orgânico.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.
- FERNANDES, F. e SILVA, S. M. C. P. **Manual prático para a compostagem de biossólidos. Programa de Pesquisa em saneamento Básico.** Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 1999, 91p.

- FRANSCISCO J. L. e FRANÇA, K. C. **Métodos de Tratamento de Resíduos de Petróleo.** Rio de Janeiro: Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro – REDETEC, 2007, 22p.
- GAYLARD, Christine Claire; BELLINASSO, Maria de Lourdes; MANFIO, Gilson Paulo. **Aspectos biológicos e técnicas da biorremediação de xenobióticos.** Revista digital: Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento. Disponível em: [http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio34/biorremediacao\\_34.pdf](http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio34/biorremediacao_34.pdf) Acesso em: 30/08/2012.
- JACQUES, R. S et al. **Processos biotecnológicos e oportunidades na biorremediação de ambientes contaminados.** Boletim Informativo da SBCS. janeiro – abril, 2009.
- Ltd. Bremen, Germany, n. 12, p. 259-276, 2001.
- JORNAL O ESTADÃO. **Retrospectiva 2011: Vazamento de óleo na Bacia de Campos, no Rio de Janeiro [online]**, São Paulo, 21 de dezembro de 2011. Disponível em: [www.estadao.com.br](http://www.estadao.com.br), acesso em 15/10/2012.
- LEAHY, J. G. e COLWELL, R. R. **Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment.** Microbiological reviews - Copyright C, American Society for Microbiology. Vol. 54, N.3, p. 305-315, 1990.
- LEMOS, J. L. S.; OLIVEIRA, S. D.; SCHLITTER, L. D. F. S. e PEREIRA JR. N. **Técnicas de Biorremediação de Solos Contaminados por Hidrocarbonetos de Petróleo.** Diálogo e Ciência – Revista da Rede de ensino FTC, Ano II, n. 11, dez. 2009.
- MARIANO, A. P.; KATAOKA, A. P. A. G.; ANGELIS, D. F. e BONOTTO, D. M. **Laboratory study on the bioremediation of diesel oil contaminated soil From a petrol station.** Brazilian Journal of Microbiology. Rio Claro, SP, n. 38, p. 346-353, 2007.
- MARIANO, A. P. **Avaliação do Potencial de Biorremediação de Solos e de Águas Subterrâneas Contaminados com Óleo Diesel.** Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2006.
- NISHIO, S. R. **Avaliação da comunidade microbiana procariante através de técnicas microbianas – FISH, PCR/DGGE e sequenciamento em sistemas artificiais de redução de cargas: ênfase ao estudo de lagoas de estabilização facultativa.** 2010. 38 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
- O’SULLIVAN, L. A; MAHENTHIRALINGAM, E. **Biotechnological potential within the genus Burkholderia.** The Society for Applied Microbiology. Letters in Applied Microbiology. País de Gales, Reino Unido. n. 41, p. 8–11, 2005.
- PEDROZO, M. F. M. et al. **Ecotoxicologia e avaliação do risco do petróleo.** Série Cadernos de referência ambiental. Salvador, v.12, 230 p. 2002. Disponível em: v. Acesso em 15/10/2012.
- PELCZAR, Jr., Joseph Michael; CHAN, E.C.S; KRIEG, Noel R. **Microbiologia: conceitos e aplicações.** Volume 2, 2ª.ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 1997, Cap.31, p.412 à 416.
- PEREIRA, Aline R.B. e FREITAS, Diego A.F. **Uso de microrganismos para a Biorremediação de ambientes impactados.** Rev. Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental. V(6), n. 6, p. 995 – 1006, 2012.
- REDETEC (2007). **Dossiê técnico Métodos de Tratamento de**

- Resíduos de Petróleo**, Rio de Janeiro. 22 p.
- REIS, L. B.; FADIGAS, E. A. A.; CARVALHO, C. E. **Energia, recursos Naturais e a Prática do Desenvolvimento Sustentável**. 1a ed. Barueri: Manoele, 2005, cap. 5, p. 187 e 188.
- ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. e CARDOSO, Arnaldo A. **Introdução à Química Ambiental**. 2ª.ed. Porto alegre: Brookman, 2010, p. 145 à 149 e 189 à 194.
- SEABRA, PAULO, N. C. **Aplicação de biopilha na biorremediação de solos argilosos Contaminados com petróleo**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2005. 169 f.
- SOUZA, F. R. **Fitorremediação de Solos Contaminados com Herbicidas**. Planta Daninha, Viçosa-MG, v.21, n.2, p.335-341, 2003.
- SPIRO, T. G. e STIGLIANI, W. M. **Química Ambiental**. 2ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2009. Cap. 2 p. 26.
- TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 8ª.ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005, Cap.1, p.17; Cap.2, p.34; Cap.5, p. 116 e 117; Cap. 27, p.772.
- VAITSMAN, E. P. e VAITSMAN, D. S. **Química e Meio Ambiente: Ensino Contextualizado**. 2. Rio de Janeiro: Interciência, 2006. Cap. 1, p. 23 à 25.
- WETLER-TONINI, R. M. C; REZENDE, C. E.; GRATIVOL, A. D. **Biodegradação Bacteriana de Petróleo e seus Derivados**. Revista Virtual de Química, Campos dos Goytacazes/RJ, V.3, n. 2, p. 78-87, 2011.
- WIDDEL, F.; RABUS, R. **Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons**. Elsevier Science Ltd. Bremen, Germany, n. 12, p. 259-276.