

BIORREMEDIAÇÃO DE RESÍDUOS OLEOSOS EM SOLOS

BIOREMEDIATION OF OILY WASTES IN SOIL

Cleomar Reginatto¹; Luciane Maria Colla²; Antonio Thomé³

¹Engenheiro Ambiental. Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Engenharia/Faculdade de Engenharia e Arquitetura, Universidade de Passo Fundo, E-mail: cleomarreginato@hotmail.com

^{2*}Engenheira de Alimentos. Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos, Professora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia, Universidade de Passo Fundo, E-mail: lmcolla@upf.br

³Engenheiro Civil. Doutor em Geotecnia. Professor do Programa de Pós-Graduação em Engenharia, Universidade de Passo Fundo, E-mail: thome@upf.br

RESUMO

Os inúmeros acidentes e vazamentos envolvendo produtos oleosos, principalmente os contendo derivados de petróleo acabam afetando vários meios naturais, sendo o solo um dos grandes receptores dessa contaminação. Para remediação destas áreas, vários são os processos que podem ser utilizados, mas os processos biológicos se destacam entre os tratamentos mais utilizados, principalmente em relação ao custo e a eficiência quando comparados a processos físico químicos. Destes a atenuação natural a bioaugmentação e a bioestimulação são as técnicas de biorremediação mais utilizadas. O solo naturalmente possui microrganismos com capacidade de degradar os diferentes contaminantes oleosos. Fatores ambientais como pH, temperatura, potencial redox, umidade e nutrientes são de fundamental importância para que ocorra o processo de biorremediação. Os hidrocarbonetos são compostos de baixa densidade e a maioria dos seus componentes consiste em uma fase não solúvel em água, ou pelo menos possuem dificuldade em solubilizar seus componentes no aquífero ou solo, quando em seu estado original, sendo uma dificuldade para a sua biorremediação. A biodegradação de hidrocarbonetos é essencialmente uma reação de oxi-redução onde o hidrocarboneto é oxidado (doador de elétrons) e um aceptor de elétrons é reduzido. Objetiva-se assim abordar os principais aspectos envolvidos na biorremediação de compostos oleosos, descrevendo as principais técnicas utilizadas, fatores importantes para degradação e microrganismos degradadores.

Palavras chave: biorremediação, contaminantes oleosos, hidrocarbonetos

ABSTRACT

The large number of accidents and spills involving oily products, especially those containing petroleum products, affecting many natural resources, being the soil the major receiver of such contamination. For remediation of these areas, many processes can be used, but the biological processes are prominent among the most used treatments, particularly in relation to cost and efficiency when compared to chemical and physical processes. Natural attenuation, bioestimulation and bioaugmentation are the bioremediation techniques more utilized. The soil naturally already has microorganisms able to degrade different contaminants oily. Environmental factors such as pH, temperature, redox potential, moisture and nutrients are vital to that the bioremediation process occurs. Hydrocarbons are compounds of low density and most of its components consists of a phase non soluble in water, or at least have difficulty solubilizing components in the aquifer or soil while in its original state, being a difficulty for their bioremediation. The biodegradation of hydrocarbons is essentially a redution-oxidation reaction where the hydrocarbon is oxidized (electron donor) and an electron acceptor is reduced. The objective this work is to review the main issues involved in the bioremediation of oily compounds, describing the main techniques used are important factors for degradation and degrading microorganisms.

Keywords: bioremediation, oily contaminants, hydrocarbons

1. INTRODUÇÃO

As preocupações com o meio ambiente estão cada vez maiores em virtude da certeza que as atividades humanas são responsáveis pelas alterações ambientais. A crescente contaminação de solos e água subterrânea por hidrocarbonetos derivados de petróleo (óleo diesel, gasolina e demais derivados) tem sido destaque nas últimas décadas, principalmente em função da frequência com que os episódios de contaminação são verificados e da gravidade com que o meio ambiente é afetado (Spinelli, 2005). Embora os grandes vazamentos acidentais de petróleo sejam preocupantes e ocupem grande espaço na mídia, estima-se que a principal fonte de contaminação por derivados de petróleo seja devida a pequenos vazamentos de combustível ocorridos em reservatórios, falhas mecânicas ou humanas ocorridas nas operações de descarga e por acidentes ocorridos no transporte deste produto químico (CETESB, 2009).

A existência de uma área contaminada pode gerar problemas como danos à saúde humana, comprometimento da qualidade dos recursos hídricos, restrições ao uso do solo e danos ao patrimônio público e privado, com a desvalorização das propriedades, além de inúmeros danos ao meio ambiente (Menegheti, 2007).

Não há uma regra geral que determine o melhor tratamento de uma área contaminada por resíduos oleosos. Cada caso deve ser analisado individualmente, avaliando suas particularidades. Os processos biológicos são uma tecnologia já conhecida internacionalmente e muito desenvolvida, para remover contaminantes oleosos, principalmente devido à eficiência e o custo quando comparados a outras alternativas (Mariano et al., 2007; Omale e Abdusalam, 2009; Karamalidis et al., 2010). Ainda, segundo Bento et al. (2004), constituem processos simples e aplicáveis à grandes áreas.

A atividade biológica representa a maioria dos processos de transformação de contaminantes orgânicos no solo, embora mecanismos físicos e químicos podem proporcionar significativos caminhos para alguns compostos (Marin et al., 2005)

Objetivou-se revisar os principais aspectos envolvidos na biorremediação de compostos oleosos, descrevendo as principais técnicas utilizadas, fatores que influenciam e principais microrganismos degradadores.

2. MICRORGANISMOS NO SOLO

Tanto o solo como as águas subterrâneas contêm elevado número de microrganismos que, gradualmente, vão se adaptando às fontes de energia e carbono disponíveis, quer sejam açúcares facilmente metabolizáveis quer sejam compostos orgânicos complexos como os BTEX (formado pelos hidrocarbonetos: benzeno, tolueno, etil-benzeno e xilenos) (Mariano, 2006).

A superfície do solo contém grande número de microrganismos que incluem bactérias aeróbicas ou anaeróbicas, fungos, actinomicetos e protozoários. Segundo Moreira e Siqueira (2002), a maior concentração microbiológica do solo situa-se, de modo geral, na camada de 0 cm a 20 cm de profundidade, como observado na Tabela 1, pois nesta camada ocorre maior acúmulo de matéria orgânica do solo por deposição do material vegetal da parte superficial (superior). Os solos sem cobertura vegetal tendem a ter menos matéria orgânica, pois esta não é repostada pelo material vegetal. Portanto, estes solos têm uma comunidade biológica menor e menos diversificada.

Desta forma quanto mais profunda a contaminação de um solo, menor a quantidade de microbiota indígena para realizar a descontaminação do local. Sendo assim diferentes técnicas de biorremediação devem ser estudadas e aplicadas para cada local específico (Spinelli, 2005; Mariano, 2006).

O entendimento de como a biodiversidade é desenvolvida e mantida nas comunidades microbianas naturais auxilia nos processos de biorremediação, de maneira que se possa manipular e

controlar essa diversidade, com intuito de melhorar e estimular as taxas de degradação de compostos, como hidrocarbonetos, em ambientes contaminados (Prescott, 1999).

Vários são os microrganismos que podem remediar um solo contaminado com compostos oleosos, sendo alguns destes estudados e citados por vários autores, como apresentado no Quadro 1.

As tecnologias de biorremediação aumentam o crescimento da população microbiana e criam condições ótimas para o máximo de degradação possível. (Moreira e Siqueira 2002; Bento et al., 2004).

Tabela 1 Distribuição de microrganismos em vários horizontes do perfil de solo (organismos/g de solo x10³)

Profundidade (cm)	Bactérias aeróbicas	Bactérias Anaeróbicas	Actinomicetos	Fungos	Algas
3-8	7800	1950	2080	119	25
20-25	1800	379	245	50	5
35-40	472	98	49	14	0,5
65-75	10	1	5	6	0,1
135-145	1	0,4	0	3	0

Fonte: Adaptado de Moreira e Siqueira (2002)

Quadro 1 Microrganismos degradadores de solos contaminados por resíduos oleosos, conforme estudado por vários autores

Contaminante	Microrganismo utilizado	Fonte
Hidrocarbonetos	<i>Bacillus cereus, Bacillus sphaericus, Bacillus fusiformis, Bacillus pumillus, Acinetobacter junni e Pseudomonas sp</i>	Bento et al. (2003)
Hidrocarbonetos	<i>Azospirillum, Pseudomonas, Alcaligenes, Enterobacter, Proteus, Klebsiella, Serratia, Bacillus, Arthrobacter, Nocardia, Streptomyces, Mucor, Fusarium, Chaetomium, Phanerochaete e Tramete</i>	Moreira e Siqueira (2002)
Hidrocarbonetos	<i>Pseudomonas, Aeromonas, Beijerinckia, Flavobacterium, Nocardia, Corynebacterium, Sphingomonas, Mycobacterium, Stenotrophomonas, Paracoccus, Burkholderia, Microbacterium</i>	Mutnuri et al. (2005); Jacques et al. (2005a); Jacques et al. (2005b); Jacques et al. (2007)
Hidrocarbonetos	<i>Cunninghamella, Phanerochaete, Fusarium, Candida, Penicillium, Pleorotus, Trametes, Aspergillus, Bjerkandera, Chrysosporium</i>	Cerniglia (1997), Jacques et al. (2005a)
Gasolina	<i>Pseudomonas putida, Burkholderia cepacia, Pseudomonas alcaligenes</i>	Cunha e Leite (2000)
Hidrocarbonetos	<i>Aspergillus versicolor,</i>	Lemos et al. (2003)
Gasolina, óleo diesel, óleo cru	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Karamalidis et al. (2010)

3. BIORREMEDIAÇÃO DE RESÍDUOS OLEOSOS

A biorremediação pode ser definida como um processo no qual organismos vivos, plantas ou microrganismos são utilizados tecnologicamente para remediar ou reduzir poluentes ambientais, ou ainda o processo de tratamento que utiliza a ocorrência natural de microrganismos para degradar

substâncias toxicamente perigosas, transformando-as em substâncias menos ou não tóxicas (Martins et al., 2003; Gaylarde et al., 2005).

Uma das maiores vantagens da biorremediação para o tratamento de compostos oleosos é a sua relação custo-eficácia, comparada a algumas técnicas físicas, que são caras e necessitarão de um acompanhamento contínuo para atingir resultados bem sucedidos (Baptista et al., 2005). Além do custo, a biorremediação tem vantagens distintas sobre métodos de correção físico-químicos, pois pode atingir a completa degradação dos poluentes orgânicos, sem muita interferência na flora e fauna do local, utilizando quantidades muito menores de substâncias químicas (Ang et al., 2005; Mrozik e Seget, 2010).

A biorremediação emergiu como uma boa técnica para o tratamento ambiental de compostos orgânicos, tais como hidrocarbonetos de petróleo, devido à sua flexibilidade e adaptabilidade em locais diferentes (Baptista et al., 2005).

Os microrganismos são considerados biodegradadores eficientes devido a sua abundância, a diversidade de espécies, e sua versatilidade catabólica e anabólica, bem como a sua capacidade de adaptação a condições ambientais adversas (Moraes e Tornisielo, 2009).

Dentre as várias técnicas de biorremediação que podem ser realizadas as mais utilizadas são a atenuação natural, a bioaumentação e a bioestimulação (Menegheti, 2007; Martins, 2003; Bento et al., 2004; LIN et al., 2010).

Os microrganismos desenvolvem naturalmente a atenuação natural, ou podem ser estimulados para uma biodegradação controlada do contaminante. Em situações onde se detecta a presença de poluentes persistentes, faz-se necessário a utilização de microrganismos específicos, capazes de reduzir a toxicidade do poluente no meio, ou ainda estimular a microbiota já existente no local para que ocorra a degradação (Mariano, 2006; Jacques et al., 2007; Mrozik e Seget, 2010).

A atenuação natural é a reposta de sistemas hidrogeológicos à contaminação envolvendo processos químicos, físicos e biológicos que, sob condições favoráveis, agem sem intervenção humana, reduzindo massa, toxicidade, mobilidade, volume ou concentração de contaminantes no solo com o tempo (Bosco e Gimenez, 2008). Segundo Jacques et al. (2007) a atenuação natural é a técnica que utiliza processos naturais para degradação e redução das concentrações de contaminantes para níveis aceitáveis. Esses processos, que são de natureza física, química e biológica, constituem: diluição, volatilização, biodegradação, adsorção e reações químicas.

A bioestimulação consiste na adição de nutrientes como o nitrogênio, fósforo e potássio (N, P, K) para os microrganismos, junto à área contaminada. A aeração ou a adição de compostos ricos em nutrientes, como por exemplo, a adição de esterco, também são consideradas técnicas de bioestimulação (LIN et al., 2010). Os microrganismos se nutrem dos múltiplos compostos orgânicos para o desenvolvimento de seu metabolismo de manutenção e reprodução culminado na remoção do contaminante (Alvarez e Illman, 2006; Mariano et al., 2008).

A bioaumentação é definida como uma implementação de microrganismos ao sistema natural, com capacidade para degradar um poluente em específico (Macêdo, 2000), ou ainda a adição de consórcio de microrganismos enriquecidos no local contaminado (Bento et al., 2003). Neste caso inoculam-se microrganismos com elevado potencial de degradação do contaminante, ficando este método também auxiliado por processos típicos naturais (Jacques et al., 2007). A bioaumentação é mais apropriada para tratamentos de contaminantes muito recalcitrantes, em contaminações recentes e onde se pretende aplicar a degradação acelerada (Moreira e Siqueira, 2002).

De acordo com Siqueira et al. (1994), a bioaumentação pode ocorrer de três maneiras: a) estimulação da população existente através de alterações no ambiente ou aplicação de nutrientes; b) isolamento e seleção de microrganismos competentes e posterior aplicação ao solo; c) uso de microrganismos clonados pela engenharia genética denominados MEG (microrganismos da engenharia genética). No processo de bioaumentação, os microrganismos nativos ou introduzidos degradam contaminantes presentes no solo. Porém, o uso da bioaumentação é ainda muito restrito a situações mais específicas.

Os hidrocarbonetos, principais constituintes dos combustíveis, são compostos de baixa densidade e a maioria dos seus componentes consiste em uma fase não solúvel em água, ou pelo menos possuem dificuldade em solubilizar seus componentes no aquífero ou solo, quando em seu estado original (Van Hamme et al., 2003). Os hidrocarbonetos de petróleo constituem uma mistura complexa de compostos que pode ser simplificada em: saturados, aromáticos, resinas (N, S, O) e asfaltenos (Balba, 1998).

Segundo Mariano (2006), quando um combustível atinge o solo, seus componentes separam-se em três fases: dissolvida, líquida e gasosa. Uma pequena fração dos componentes da mistura se dissolve na água do lençol freático, uma segunda porção é retida nos espaços porosos do solo na sua forma líquida pura como saturação residual e outra parte dos contaminantes passíveis de evaporação dão origem à contaminação atmosférica (Nadim et al., 1999). Portanto, uma vez estabelecida a contaminação, esta poderá atuar em três níveis diferentes: solo, água subterrânea e atmosfera. Assim, a tarefa de avaliação da extensão, dinâmica, concentração das contaminações, análise de riscos e possíveis estratégias de remediação torna-se complexa.

A forma como interagem com o fluxo freático, com os argilo-minerais e com a matéria orgânica (MO) presente no solo é complexa do ponto de vista físico e químico, no entanto, sendo considerados produtos orgânicos, as ações biológicas são consideradas significativas e alteram o comportamento do contaminante ao longo do tempo (Moreira e Siqueira, 2002).

A biodegradação de resíduos oleosos exige uma via metabólica complexa que nem sempre é encontrado em uma única espécie de microorganismos. Em uma cultura em comum, os produtos metabólicos de uma espécie pode ser degradado por um outro presente na cultura, e assim sucessivamente, levando à completa degradação do substrato, apesar da falta de um tipo específico de microorganismo na comunidade capazes de degradar sozinho (Moraes e Tornisielo, 2009).

As condições químicas e a matéria orgânica do solo são importantes para atividade dos microorganismos no solo, assim como para a população microbiana co-metabolizante, que também atua na biodegradação de certos componentes do petróleo e de outros resíduos (Moreira e Siqueira, 2002).

4. FATORES AMBIENTAIS QUE INTERFEREM NO PROCESSO DE BIORREMEDIAÇÃO

Alguns dos principais fatores ambientais para que ocorra um melhor processo de biorremediação em solos estão apresentados na Tabela 2. Rizzo et.al (2008) indica que o problema principal de biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo pode estar associado à baixa biodisponibilidade destes no solo e não apenas a recalcitrância intrínseca do poluente residual, além dos fatores ótimos para a degradação.

Tabela 2 Condições ótimas para degradação de hidrocarbonetos em solos

Fator ambiental	Nível ótimo
Nutrientes	C:N:P = 100:10:1*
Temperatura	25-35°C (mesófila)
Umidade	50-85% da capacidade de campo do solo
Potencial redox	Maior que + 50mV
pH	5.5-8.5

Fonte: Modificado de Alvarez e Ilman, 2006. (*Pereira e Lemos, 2006, Rizzo et al. 2002)

4.1 Nutrientes

Os nutrientes necessários aos microrganismos são subdivididos em macro e micronutrientes, conforme sejam necessários às células em grande e pequena quantidade, respectivamente. Siqueira et al. (1994) destaca, entre os macronutrientes o carbono como a principal fonte de nutrientes da célula microbiana, participando com 47% da sua matéria seca, sendo suas fontes as mais diversas, como aminoácidos, ácidos graxos, ácidos orgânicos, açúcares e compostos aromáticos. Em ambientes naturais o carbono é o nutriente que normalmente limita o crescimento microbiano sendo que os nutrientes inorgânicos estão presentes em quantidades que normalmente excedem as demandas das comunidades microbianas (Alexander, 1999).

Além do carbono os outros nutrientes básicos (macronutrientes) exigidos para o desenvolvimento microbiano são o nitrogênio, hidrogênio, oxigênio, fósforo, enxofre e, em baixo nível, diversos metais (Fe, Mn, etc.), podendo variar de acordo com o poluente (Mariano, 2006).

Segundo Frankenberger (1992) e Spinelli (2005) o nitrogênio é a chave da produção de proteínas e ácidos nucleicos. O nitrogênio (12 a 15% da massa celular) é absorvido principalmente como amônia e nitratos pelos microrganismos decompositores, e como nitrogênio molecular atmosférico, N_2 , pelos fixadores desse elemento (Siqueira et al., 1994, Cardoso, 1992).

O fósforo ocorre na natureza na forma de fosfatos inorgânicos e orgânicos, sendo os primeiros (PO_4^{2-}) muito utilizados no crescimento microbiano, e os últimos utilizados sob a ação das enzimas fosfatases (Siqueira et al., 1994). O fósforo é necessário na produção de ATP para funções metabólicas, além de constituir ácidos nucleicos, fosfolípidos e ácidos tecóicos. (Frankenberger, 1992; Spinelli, 2005).

Outros nutrientes que podem influenciar a degradação dos hidrocarbonetos no solo são o ferro e o enxofre, porque desempenham funções celulares que estão intimamente relacionadas ao metabolismo dos hidrocarbonetos, como a participação na estrutura das enzimas que realizam a degradação destes compostos nas células microbianas (Jacques et al., 2007).

Para que um microrganismo utilize os compostos oleosos como fonte de carbono e energia para o seu crescimento é necessário que possua as várias enzimas que transformam as complexas moléculas em intermediários comuns das suas rotas catabólicas (Moraes e Tornisielo, 2009).

Os fertilizantes mais comuns utilizados em solos contaminados incluem nitrato de amônia e uréia, sendo que a uréia não é muito utilizada porque os óleos refinados inibem a hidrólise da mesma para amônia e CO_2 , (Spinelli, 2005).

Horel e Schiewer (2009) em um estudo sobre a degradação de diesel e um combustível sintético afirmam que adicionando nutrientes ($N-P_2O_5-K_2O$) ao solo contaminado em uma relação de 300mg/kg, a remoção dos contaminantes foi 50% maior do que uma amostra sem a adição de nutrientes.

Komilis et al. (2010) estudaram o efeito da adição de nitrogênio na biorremediação aeróbia de um solo contaminado com diesel. O solo foi contaminado artificialmente em uma concentração inicial de 2% de diesel (em uma base de solo seco). O nitrogênio foi adicionado como NH_4Cl em uma única carga no início do experimento, em concentrações de 0, 100, 250, 500, 1.000 e 2.000 mg N/kg de solo seco, sendo a degradação do contaminante analisada através do método respirométrico. Os resultados mostraram que as condições ideais para a degradação do diesel em função do teor de N adicionado foi de 250 mgN/kg, o qual resultou no maior consumo de oxigênio e consequentemente maior degradação do contaminante, assim a concentração de N ideal ficaria na faixa de aproximadamente 0,15 g N/g de diesel degradadas ou 1400 mgN/kg de solo seco, com base na concentração inicial de diesel utilizado no estudo.

4.2 Potencial redox

O potencial redox pode ser definido através de uma medida quantitativa de oxidação ou redução que um meio se encontra e o potencial redox pode ser determinado pelo símbolo E_h . Quando o E_h encontra-se acima de zero é comumente interpretado como um meio em oxidação, e quando E_h é menor do que zero, o meio está em redução. A escala de E_h em um meio natural é de +800 mV (alto O_2 , com nenhum processo de esgotamento de O_2) para cerca de -400 mV (alto H_2), (Suthersan, 2000).

O potencial redox do solo é afetado pela profundidade abaixo da superfície e a taxa de difusão de oxigênio, que é determinada pelo tamanho e número de poros preenchidos por ar, que é função da textura, pH, teor de água no solo, presença de carbono orgânico e microrganismos (Casarini e Spilborghs, 1992). Os microrganismos aeróbios do solo e aquífero requerem um potencial redox em torno de 800 mV para as suas reações, enquanto que os anaeróbios requerem E_h de -240 mV (a 25°C e pH 7) (Bitton e Gerba, 1984).

A biodegradação de hidrocarbonetos é essencialmente uma reação de oxi-redução onde o hidrocarboneto é oxidado (doador de elétrons) e um aceptor de elétrons é reduzido (MARIANO, 2006).

Quase todos os hidrocarbonetos do petróleo são biodegradados sob condições aeróbias. O Oxigênio é um cosubstrato para a enzima que pode inicializar o metabolismo do hidrocarboneto e por fim é utilizado como aceptor final de elétrons para a geração de energia (Young, 1984)

O oxigênio é o principal aceptor de elétrons na degradação da matéria orgânica e contaminantes (Mesquieta, 2002). Na sua ausência, o potencial redox se torna um fator limitante na degradação de contaminantes oleosos. Isto decorre uma vez que a transformação aeróbica dos hidrocarbonetos no solo, leva frequentemente a um rápido esgotamento do oxigênio dissolvido, e esse eventualmente descreve o potencial redox (Karthikeyan e Bhandari, 2001).

Há vários compostos que podem agir como aceptores de elétrons, tais como o oxigênio (O_2), nitrato (NO_3^-), óxidos de ferro (p.e. $Fe(OH)_3$), sulfato (SO_4^{2-}), água (H_2O) e dióxido de carbono (CO_2). A seguinte seqüência de preferência de utilização desses aceptores foi observada: oxigênio > nitrato > óxidos de ferro > sulfato > água. Esta seqüência reflete a diminuição do potencial de oxidação dos aceptores. Em geral, a cinética de oxidação dos hidrocarbonetos é mais rápida para aceptores de elétrons com potenciais de oxidação mais altos (Corseuil e Alvarez, 1996).

4.3 pH

Enzimas são polímeros de aminoácidos e suas atividades requerem um grau de protonação adequado dos aminoácidos. Este processo é controlado pelo pH. O pH ótimo para a ação dos microrganismos é usualmente próximo da neutralidade, mas muitos microrganismos presentes nos solos podem agir sem prejuízos de suas funções para valores de pH entre 5 e 9 (Corseuil e Alvarez, 1996). A maioria dos solos tem pH entre 4, 0 e 8,5. Conforme Cardoso (1992), a ação do pH sobre os microrganismos do solo depende de sua tolerância a esse fator.

Distinguem-se quatro categorias de microrganismos: a) Indiferentes: crescem numa faixa ampla de valores de pH. É o caso de numerosas bactérias que apresentam crescimento satisfatório entre valores de pH 6,0 a 9,0. para os fungos os valores variam entre pH 2,0 e 8,0; b) Neutrófilos: preferem pH próximo a neutralidade até ligeiramente alcalino. Numerosos actinomicetos não apresentam crescimento de valores de pH inferiores a 5,5; c) Acidófilos: são os que preferem ambientes ácidos e; d) Basófilos: não suportam valores de pH inferiores a 8,0.

Wei et al. (2005) estudaram a degradação de lamas oleosas de petróleo, monitorando alguns fatores importantes para a degradação. Os valores ideais para degradação deste contaminantes foram de 7 a 8.

4.4 Temperatura

A temperatura do solo é função da relação entre a quantidade de energia calorífica absorvida e perdida, sendo que o primeiro fato depende da cobertura vegetal, tipo de solo, umidade entre outros. A temperatura do solo sofre variações diárias e sazonais, com marcada influência nos horizontes superficiais, portanto, na região de maior atividade microbiana (Cardoso et al., 1992).

A temperatura é um dos fatores ambientais mais importantes que influenciam a atividade e a sobrevivência dos microrganismos (Corseuil e Alvarez, 1996). Baixas temperaturas diminuem a fluidez e a permeabilidade da membrana celular, que controla o transporte de nutrientes (e contaminantes) entre o meio exterior e o interior da célula microbiana. Altas temperaturas são associadas com atividades enzimáticas mais altas e taxas de biodegradação mais rápidas, até um valor que é específico de cada espécie. Nesta faixa, por exemplo, a taxa de biodegradação dos BTEX pode triplicar em função de um aumento de temperatura em 10°C (Corseuil e Weber, 1994).

De acordo com Brady (1994), as reações químicas e biológicas em solos frios são lentas. As decomposições biológicas são praticamente inexistentes, limitando assim o ritmo com que certos nutrientes, como nitrogênio, fósforo, enxofre e cálcio, tornam-se assimiláveis (Moreira e Siqueira, 2002).

Se a temperatura aumenta muito acima do valor ótimo, proteínas, enzimas e ácidos nucléicos tornam-se desnaturados e inativos. A temperatura dos primeiros 10 m de subsuperfície pode variar sazonalmente; contudo, entre 10 e 100 m de profundidade, a temperatura se aproxima da média anual da região (Lee et al., 1988).

Coulen et al. (2004) estudaram a influencia da temperatura junto com adição de nutrientes na degradação de hidrocarbonetos de petróleo, para um solo da antártica. Os autores afirmam que o aumento da temperatura do solo de 4°C para 20°C favoreceu muito a degradação destes contaminates.

4.5 Umidade

O teor de umidade do solo afeta diretamente a biodisponibilidade de contaminantes, a transferência de gases, o nível de toxicidade dos contaminantes, a movimentação e o estado de crescimento dos microrganismos e a distribuição das espécies (Cookson, 1994).

Segundo Spinelli (2005), a água, ou umidade do solo é o veículo de transporte de nutrientes e do oxigênio para fora e dentro das células dos microrganismos. Pode estar presente em três formas, que são: livre, capilar (presente nos poros do solo e é aquela disponível para os microrganismos e higroscópica (interage com a matriz do solo e não está geralmente disponível). A escassez assim como o excesso de água no solo é um fator limitante uma vez que as reações metabólicas dependem desta para ocorrer e o seu excesso pode inibir a passagem de oxigênio através do solo.

O volume total de poros de determinado solo varia de 50% a 60%, sendo 15% a 45% ocupados pela água e o restante por gases. Os gases presentes no solo são os mesmos encontrados na atmosfera (N₂, O₂, CO₂) além aqueles decorrentes da atividade biológica como, por exemplo, o CH₄ e o H₂S (Siqueira et al., 1994). Tanto os gases como a água competem pelo espaço poroso do solo. Dessa forma, pode-se estabelecer a seguinte relação: quando o solo está parcial ou totalmente preenchido por água, a disponibilidade de gases para os microrganismos é menor, ou seja, tem menos disponibilidade de oxigênio para as atividades metabólicas dos microrganismos e conseqüentemente menor degradação (Moreira e Siqueira, 2002).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os solos contaminados por hidrocarbonetos são evidentemente uma importante área a ser estudada em virtude dos grandes acidentes com esses produtos e vazamentos ocorridos. Dentre as varias técnicas que podem ser utilizadas, a biorremediação é uma das mais aceitas em função do menor gasto econômico e dos muitos estudos e tecnologias já desenvolvidas nesta área. (BENTO et.al 2004; ALVAREZ E ILMAN, 2006; MENEGHETI, 2007).

Os microrganismos realizam a decomposição dos compostos oleosos, utilizando estes como fonte de carbono e geração de energia para seu desenvolvimento. (GUSMÃO, 2009; BANAT 1994).

Todos os solos possuem naturalmente alguma quantidade de microrganismos, sendo esta quantidade variável em função da quantidade de matéria orgânica e da profundidade do perfil do solo. Nesse sentido é que as técnicas de biorremediação entram com a vantagem de já ter no próprio solo seres degradadores. (SPINELLI, 2005; MARIANO, 2006).

Para que os microrganismos possam realizar a degradação dos compostos oleosos, alguns fatores ambientais são essenciais e devem ser observados sendo estes a quantidade de nutrientes, o pH, a umidade, potencial redox, temperatura e nível de oxigenação (microrganismos aeróbios), (BAPTISTA et.al. 2005; ALVAREZ et.al, 2006; RIZZO et.al., 2008).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, M. *Biodegradation and bioremediation*. 2.ed. New York: Academic. 1999. 453p.

ALVAREZ, PEDRO J.J.; ILLMAN, WALTER A. *Bioremediation and natural attenuation: process fundamentals and mathematical models*. New Jersey: Wiley-Interscience, 2006. 609 p.

ANG, EE LUI; HUIMIN ZHAO, JEFFREY P. OBBARD. Recent advances in the bioremediation of persistent organic pollutants via biomolecular engineering. *Enzyme and Microbial Technology*. v. 37, p. 487-496, 2005.

BALBA, M.T.; N. AWADHAL-I; AL-DAHER, R. Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. *Journal of Microbiological Methods*. v. 32, p. 155 –164, 1998.

BAMFORTH, S.; SINGLETON, I. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. v. 80, n. 7, p.723-736, 2005.

BANAT, I. M. Biosurfactants production and possible uses in Microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation: a review. *Bioresource Technology*. v. 51, p. 1-12, 1994.

BAPTISTA, SANDRO JOSÉ; CAMMAROTA M., CHRISTE; FREIRE D., DIAS DE CARVALHO. Production of CO₂ in crude oil bioremediation in clay soil. *Brazilian archives of biology and technology*. v.49, p. 249-255, 1995.

BAPTISTA, P. M., RIZZO, A. C. de. L. *Acompanhamento do processo de Atenuação Natural de solo contaminado por petróleo*. In: XII Jornada de Iniciação Científica do CETEM/MCT, 2004.

BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O.; OKEKE, B. Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.34 (Suppl.1), p. 65-68, 2003.

BENINCASA, M. Rhamnolipid Produced from Agroindustrial Wastes enhances hydrocarbon Biodegradation in Contaminated Soil. *Current Microbiology*. v. 20, p. 1-6, 2007.

BITTON, G.; GERBA, C. P. *Ground water. Pollution Microbiology*. John Wiley & Sons. N.Y., 1984. 377p.

BOSCOV GIMENEZ, M. A. *Geotecnia Ambiental*. São Paulo, 2008. p.248.

CAROLINA A. B. DE GUSMÃO, RAQUEL D. RUFINO, LEONIE A. SARUBBO. *Economics of Application of a Biosurfactant in Soil Contaminated With Petroleum Derivate*. In: XVII Simpósio nacional de bioprocessos. Anais... Natal RN, 2009.

CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M; NEVES,M.C.P. *Microbiologia do Solo*. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do solo. 1992. 360p.

CASARINI, C. P.; SPILBORGHS, M. C. F. *Biorrecuperação de locais contaminados com hidrocarbonetos*. In: first labs. Latim american biodeterioration symposium. Anais ..., 1992.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo. *Meio Ambiente*. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br> . Acesso em: Jun. 2010.

CORSEUIL, H. X.; WEBER, W. J. Jr. Potential biomass limitations on rates of degradation on monoaromatic hydrocarbons by indigenous microbes in subsurface soils. *Water Research*, v. 28, p. 1415-1423, 1994.

CORSEUIL, H. X.; ALVAREZ, P. J. J. Natural bioremediation perspective for BTXcontaminated groundwater in Brazil: effect of ethanol. *Wat. Sci. Tech.*, v. 34, p.311-318, 1996.

CORSEUIL, H. X.; MARINS, M. D. M. Contaminação de água subterrânea por derramamento de gasolina: O problema é grave? *Engenharia Sanitária*, v. 2, p. 50-54, 1997.

COOKSON, J. T. *Bioremediation Engineering: Desing and Application*. McGraw-Hill. New York, 1994.

COULON FRÉDÉRIC; EMILIEN PELLETIER; LÉNAICK GOURHANT; DANIEL DELILLE. Effects of nutrient and temperature on degradation of petroleum hydrocarbons in contaminated sub-Antarctic soil. *Chemosphere*, v. 58, p. 1439-1448, 2005.

CUNHA, D. C.; LEITE, S. G. F. Gasoline Biodegradation in Different Soil Microcosms. *Brazilian Journal of Microbiology*. v. 31, n. 1., p. 45-49, 2000.

HOREL A.; SCHIEWER S. Investigation of the physical and chemical parameters affecting biodegradation of diesel and synthetic diesel fuel contaminating Alaskan soils. *Cold Regions Science and Technology*. v. 58, p. 113–119, 2009.

FATIMA M. BENTO; CAMARGO FLÁVIO A.O.; OKEKE BENEDICT C.; FRANKENBERGER WILLIAN T. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource Technology*, v. 96, p. 1049-1055, 2004.

FRANKENBERGER, JR.; W.T. The need for a laboratory feasibility study in bioremediation of petroleum hydrocarbons. In CALABRESE, E.J.; KOSTECKI, P.T. *Hydrocarbon contaminated soils and groundwater*, v. 2, p. 237-293, 1992.

GAYLARDE, C. C.; BELINASSO, M. L.; MANFIO, G. P. Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. *Biotecnologia ciencia e desenvolvimento*. v. 34, p. 36-43, 2005.

JACQUES, RODRIGO J. S.; BENTO, FÁTIMA M.; ANTONIOLLI, ZAIDA INÊS C.; FLÁVIO ANASTÁCIO DE O. 2007. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. *Cienc. Rural [online]*, v. 37, n. 4, p. 1192-1201.

JACQUES, R. J. S. *Biorremediação de antraceno, fenantreno e pireno em um argissolo*. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005a.

JACQUES, R. J.S. , EDER C. S., FÁTIMA M. BENTO; MARIA C.R. PERALBA; PEDRO A. SELBACH, ENILSON L.S. SÁ; FLÁVIO A.O. CAMARGO. Anthracene biodegradation by *Pseudomonas* sp isolated from a petrochemical sludge landfarming. *International Biodeterioration and Biodegradation*, v.56, n.3, p.150-156, 2005b.

JACQUES, R. J. S.; OKEKE, B.C.; BENTO, F.M.; PERALBA, M. C. R.; CAMARGO, F. A. O. Characterization of a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading microbial consortium from a petrochemical sludge landfarming site. *Bioremediation Journal*, v.11, n.1, p.1-11, 2007.

KARAMALIDIS, A.K. A.C. EVANGELOU; E. KARABIKA; A.I. KOUKKOU; C. DRAINAS; E.A. VOUDRIAS. Laboratory scale bioremediation of petroleum-contaminated soil by indigenous microorganisms and added *Pseudomonas aeruginosa* strain Spet.. *Bioresource Technology*. v. 101, p. 6545-6552, 2010.

KARTHIKEYAN, K.; BHANDARI, A. Anaerobic biotransformation of aromatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in soil microcosms: a review. *Journal of Hazardous Substance Research*. v.3, p. 1-19, 2001.

KOMILIS, DIMITRIOS P. ; VROHIDOU, AGGELIKI-ELENI K. ; VOUDRIAS, EVANGELOS A. Kinetics of aerobic bioremediation of a diesel contaminated Sandy soil effect of nitrogen addition. *Water, air and Soil pollution*. v. 208, p. 193-208, 2010.

LEE, M. D.; THOMAS, J. M.; BORDEN, R. C.; BEDIANT, P. B.; WARD, C. H.; WILSON, J. T. Bioremediation of aquifers contaminated with organic compounds. *CRC Critical Reviews in Environmental Control*., v. 1, p. 29-89, 1998.

LEMOS, J. L. S.; MILLIOLI, V. S.; SANTOS, L. C.; RIZZO, A .C. L.; CUNHA, C. D.; SORIANO, A. V.; LEITE, S.; SANTOS, R. Bioremediation: assessing the addition of biosurfactants in the presence of fungi on biodegradation of clay soil impacted by petroleum. *Boletim Técnico PETROBRAS*, v.34, p. 56-67, 2003.

TA-CHEN, L.; PAN, T. P.; CHENG, S. S. Ex situ bioremediation of oil-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, v.176, p. 27-34, 2010.

MACÊDO, J. A. B. Programa de bioaugmentação (bioaugmentation), uma tecnologia avançada para tratamento de efluentes de laticínios. *Revista do instituto de laticínios Cândido Tostes*, v. 55, n. 315, p. 47-52, 2010.

MARIANO, A. P.; TOMASELLA, R. C.; MARCONDES DE OLIVEIRA, L.; CONTIERO, J.; DE ANGELIS, F. Biodegradability of diesel and biodiesel blends. *African Journal of Biotechnology*, v. 7, p. 1323-1328, 2008.

MARIANO, A. P.; ANGELIS, D. F.; BONOTTO, D. M.; PIRÔLLO, M. P. S.; CONTIERO, J. *Biodegradability of commercial and weathered diesel oils*. In: XXII interamerican congress of chemical engineering. Anais..., Buenos Aires, 2006a.

MARIANO, A. P.; ANGELIS, J. F.; BONOTTO, D. M. Monitoramento de indicadores geoquímicos e avaliação de biodegradação em área contaminada com óleo diesel. *Eng. Sanit. Ambient. [online]*, v. 12, n.3, p. 296-304, 2006b.

MARIN, J. A.; HERNANDEZ, T.; GARCIA, C. Bioremediation of oil refinery sludge by landfarming in semiarid conditions: Influence on soil microbial activity. *Environmental Research.*, v. 98, p.185-195, 2005.

MARTINS, A. P. R.; DINARDI, A. L.; FORMAGI, V. M.; LOPES, T. A.; BARROS, R.; CONEGLIAN, C. M R; BRITO, N. N.; DRAGONI, S. G.; TONSO, S. *Biorremediação*. In: III Fórum de Estudos Contábeis, 2003, Rio Claro. III Fórum de Estudos Contábeis, 2003.

MEIRA, J. A. *Produção de biosurfactantes por fermentação no estado sólido e desenvolvimento de aplicações para tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos*. Dissertação (mestrado em química)- Faculdade de química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

MENEGHETTI, L. *Biorremediação na descontaminação de um solo residual de basalto contaminado com óleo diesel e biodiesel*. Dissertação (Mestrado em Engenharia: área de concentração: Infraestrutura e Meio Ambiente). Faculdade de Engenharia e Arquitetura. Universidade de Passo Fundo, Passo fundo, 2005.112p.

MROZIKA, A.; SEGET, Z. P. Bioaugmentation as a strategy for cleaning up of soils contaminated with aromatic compounds. *Microbiological Research.*, v.165, p.363-375, 2010.

MORAES, B. E.; TORNISIELO, T. M. S. Biodegradation of Oil Refinery Residues Using Mixed-Culture of Microorganisms Isolated from a Landfarming. *Brazilian archives of Biology and technology.*, v.52, n. 6, p. 1571-1578, 2009.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. Lavras: Ed. UFLA, 2002.

NADIM, F.; HOAG, G. E.; LIU, S.; CARLEY, R. J.; ZACK, P. Detection and remediation of soil and aquifer systems contaminated with petroleum products: an overview. *J. of Petrol. Sci. and Eng.*, v.26, p. 169-178, 1999.

PEREIRA, L. T. C.; LEMOS, J. L. S. *Degradação de hidrocarbonetos de petróleo por Aspergillus niger e Penicillium corylophilum*. In: XII jornada de iniciação científica- CETEM/MCT, 2004.

- PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A. *Microbiology*. Boston McGraw-Hill, 1999.
- RAIMUNDO, R. S.; RIZZO, A. C. L. *Utilização de biorreatores no tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo*. In: X Jornada de Iniciação Científica do CETEM/MCT, 2002.
- RIZZO, A. C. L.; CUNHA, C. D.; SANTOS, R. L. C.; SANTOS, R. M.; MAGALHÃES, H. M.; SELMA, G. F. L.; SORIANO, A. U. Preliminary identification of the bioremediation limiting factors of a clay bearing soil contaminated with crude oil. *J. Braz. Chem. Soc. [online]*, vol.19, n.1, p. 169-174, 2008.
- RYAN, J. R.; LOEHR, R. C.; RUCKER, E. Bioremediation of organic contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials.*, v.28, p. 159-169, 1991.
- SIQUEIRA, J. O; MOREIRA, F. M. S.; GRISI, B. M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. *Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental*, 1994.
- SUTHERSAN, S. S. *Remediation Engineering*. CRC Press LLC, 2000.
- VAN HAMME, J.D.; SINGH, A.; WARD, O.P. Recent advances in petroleum microbiology. *Microbiology Molecular Biology Reviews*. v. 67 , p. 503-549, 2003.
- SPINELLI, L. F. *Biorremediação, Toxicidade e Lesão Celular em derrames de gasolina*. Tese (Doutorado em Engenharia/Civil) – Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005. 218p.
- WEI OUYANG; HONG LIU; V. MURYGINA; YONGYONG YU; ZENGDE XIU; KALYUZHNYI, S. 2005. Comparison of bio-augmentation and composting for remediation of oily sludge: A field-scale study in China. *Process Biochemistry*. V.40, p. 3763–3768.
- LIANG-MING, W.; PAO-WEN, L. G.; CHIH-CHUNG, M. A.; CHENG, S. S. Application of biosurfactants, rhamnolipid, and surfactin, for enhanced biodegradation of diesel-contaminated water and soil. *Journal of Hazardous Materials*. v.151, p.155-163, 2008.
- YOUNG, L. Y. Anaerobic degradation of aromatic compounds. *Microbial degradation of aromatic compounds*. GIBSON, D. T. (ed.). Marcel-Dekker-Inc., New York, 1984. pp. 487-523.