



Eclética Química

ISSN: 0100-4670

atadorno@iq.unesp.br

Universidade Estadual Paulista Júlio de

Mesquita Filho

Brasil

Almeida Andrade, Juliano de; Augusto, Fabio; Jardim, Isabel Cristina Sales Fontes  
BIORREMEDIÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR PETRÓLEO E SEUS DERIVADOS

Eclética Química, vol. 35, núm. 3, 2010, pp. 17-43

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Araraquara, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42915812002>

- ▶ Como citar este artigo
- ▶ Número completo
- ▶ Mais artigos
- ▶ Home da revista no Redalyc

 redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal  
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

## Conclusions

Two useful methods for the determination of BUP have been developed and validated. The assay results demonstrate that it is possible to use mercury(II) nitrate, which is stable enough and need no special precautions during storage or use, as a reagent for determination of BUP in authentic samples. The only titrimetric method currently available [20] uses non aqueous medium. The proposed titrimetric method is simple, rapid, free from critical experimental variables, uses aqueous medium and applicable over a wide range (2-20 mg). The spectrophotometric method is the first visible spectrophotometric method for determination of BUP and it is free from the usual analytical complications like heating and extraction. Moreover, the methods are accurate, reproducible, adequately sensitive and free from interference by common additives and excipients. The wide applicability of the new procedures for routine quality control is well established by the assay of BUP in pure form and in pharmaceutical preparations.

## Acknowledgements

One of the authors (MASA) wishes to express his thanks to Thamar University, Republic of Yemen for awarding research fellowship and two of the authors (MASA and KBV) thank the authorities of the University of Mysore for permission and facilities to carryout the research work.

## References

- [1] The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, New Jersey, USA, 14<sup>th</sup> edn., 2006, p. 246.
- [2] D.H. Schroeder, *J. Clin. Psychiatry* 44 (1983) 79.
- [3] S.G. Bryant, B.G. Guernsey, N.B. Ingrim, *Clin. Pharm.* 2 (1983) 525.
- [4] R.M. Lane, G.B. Baker, *Cell. Mol. Neurobiol.* 19 (1999) 355.
- [5] H.G. Kinnell, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 322 (2001) 431.
- [6] A.J. Johnston, J. Ascher, R. Leadbetter, V.D. Schmith, D.K. Patel, M. Durcan, B. Bentley, *Drugs* 62 (2002) 11.
- [7] K. K. Lobo , A. S. Gross , J. Ray, A. J. McLachlan, *J. Chromatogr. B*, 823 (2005) 115.
- [8] K. I. Al-khamis, J. Liq. Chrom. Relat. Tech. 12 (1989) 645.
- [9] D.H. Schroeder, M.L. Hinton, P.G. Smith, C.A. Nichol, R.M. Welch, *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 37 (1978) 691.
- [10] T.A. Jennison, P. Brown, J. Crossett, F.M. Urry, *J. Anal. Toxicol.* 19 (1995) 69.
- [11] D. Zhang, B. Yuan, M. Qiao, F. Li, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 33 (2003) 287.
- [12] R.F. Butz, D.H. Schroeder, R.M. Welch, N.B. Mehta, A.P. Phillips, J.W.A. Findlay, *J. Pharm. Exp. Ther.* 217 (1981) 602.
- [13] T.P. Rohrig, N.G. Ray, *J. Anal. Toxicol.* 16 (1992) 343.
- [14] T.B. Cooper, R.F. Suckow, A. Glassman, *J. Pharm. Sci.* 73 (1984) 1104.
- [15] R.F. Suckow, M.F. Zhang, T.B. Cooper, *Biomed. Chromatogr.* 11 (1997) 174.
- [16] M. M. Schultz, E. T. Furlong, *Anal. Chem.* 80 (2008) 1756.
- [17] C. Arellano, C. Philibert, C. Vachoux, J. Woodley, G. Houin, *J. Chromatogr. B*, 829 (2005) 50.
- [18] R. Coles, E. D. Kharasch, *J. Chromatogr. B*, 857 (2007) 67.
- [19] V. Borges , E. Yang , J. Dunn, J. Henion, *J. Chromatogr. B*, 804 (2004) 277.
- [20] L. Delazzeri, *Caderno de Farmácia*, 21 (2005) 37.
- [21] Q. Meiling1 , W. Peng , G. Yingshu , G. Junling1 and F. Ruonong1, *J. Chin. Pharmaceut. Sci.*, 11(2002)16.
- [22] L. Delazzeri, S.B. Borba, A.M. Bergold, *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, 26 (2005) 211.
- [23] R. T. Sane, M. Francis, S. Khedkar, A. Menezrs, A. Moghe, P. Patil, *Indian drugs*, 40 (2003) 231.
- [24] A.I. Vogel, *A Text-Book of Quantitative Inorganic Analysis*, Longman Group Limited, London, 3<sup>rd</sup> edn., 1961, p. 274.
- [25] W. Kemula, A. Hulanicki, A. Janowski, *Talanta* 7 (1960) 65.
- [26] C.H. Wilkinson, R. Cole, *J. Hosp. Pharm.* 26 (1969) 45.
- [27] D. Zhou, W. He, *Yaoxue Jangbao* 20 (1985) 662.
- [28] K. Basavaiah and V. S. Charan, *IL Farmaco* 57 (2002) 9.
- [29] Z. Malkova, J. Novak, *Chem. Listy*. 86 (1992) 464.
- [30] R.A. Day Jr., A.L. Underwood, *Quantitative Analysis*, Prentice-Hall of India Private Ltd, New Delhi, 6<sup>th</sup> edn., 2005, pp. 221.
- [31] F.E. Clarke, *Anal. Chem.* 22 (1950) 553.
- [32] International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH Harmonised Tripartite Guideline, Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R 1), Complementary Guideline on Methodology dated 06 November 1996, incorporated in November 2005, London.
- [33] G. A. Shabir, *J. Chromatogr. A*, 987 (2003) 57.

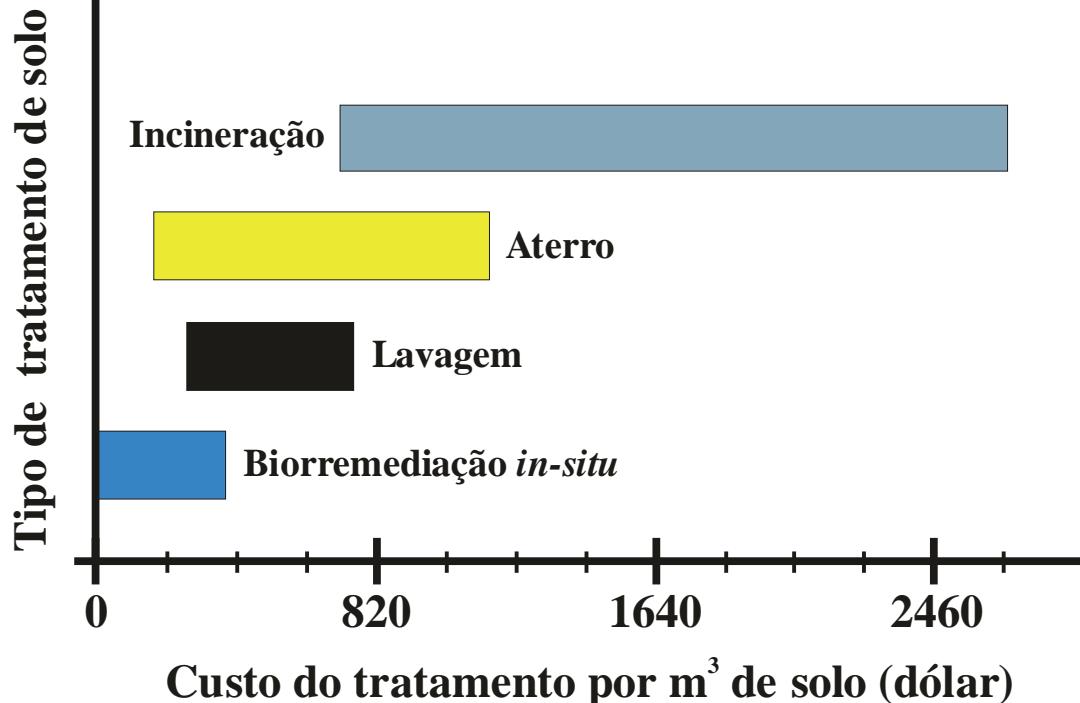
seus derivados tem sido um dos principais problemas ao meio ambiente. Quando ocorre o derramamento de gasolina em solos, por exemplo, uma das principais preocupações é a contaminação das águas subterrâneas, que também podem contaminar, especialmente, os aquíferos que são usados como fontes de abastecimento de água para o consumo humano (Custance et al., 1992). Os frequentes derramamentos de petróleo e seus derivados registrados em solos brasileiros vêm motivando o desenvolvimento de novas técnicas que visam, principalmente, a descontaminação dessas matrizes. Diante disso, diversas técnicas, físicas, químicas e biológicas, vêm sendo desenvolvidas para a remoção ou a degradação *in-situ* ou *ex-situ* de petróleo derramado e para a redução de seus efeitos sobre o ecossistema, especialmente os tóxicos. Dentre as técnicas desenvolvidas, a “biorremediação” vem se destacando como uma alternativa viável e promissora para o tratamento de solos contaminados por petróleo e seus derivados (Bento et al., 2003; Dua et al., 2002; Rahman et al., 2002).

De modo geral, a biorremediação baseia-se na degradação bioquímica dos contaminantes por meio da atividade de microorganismos presentes ou adicionados no local de contaminação (Bernoth et al., 2000). Neste caso, os tratamentos são basicamente de dois tipos: 1) *ex-situ* (ou *off-site*), realizado fora do local onde ocorreu a contaminação e, por isso, é um tratamento que requer a escavação e a remoção do solo contaminado para outro local. A adoção deste procedimento pode resultar em um aumento considerável do custo do processo, porém, não obstante a essa desvantagem, é possível controlar, com maior facilidade, as condicionantes do meio (vide o item “Fatores que influenciam a biodegradabilidade dos contaminantes”), que são consideradas os fatores-chave utilizados no tratamento dos solos; 2) *in-situ* (ou *on-site*), tratamento feito no próprio local da contaminação. Normalmente, essa opção de biorremediação torna o processo mais atrativo e economicamente viável, quando comparado ao tratamento citado anteriormente. Além disso, o tratamento *in-situ*, normalmente, acarreta em menores impactos ambientais advindos da remediação da área contaminada (Nano et al., 2003).

### Principais contaminantes de petróleo e seus derivados em solos

O petróleo é uma mistura complexa que contém vários compostos, sendo que os hidrocarbonetos representam a fração majoritária. De acordo com a sua origem, as suas composições químicas e as suas propriedades físicas variam de um campo petrolífero para outro. Devido, principalmente, à complexidade dessa mistura, normalmente o tratamento de áreas contaminadas por essas substâncias é bastante difícil e problemático. Em solos contaminados por petróleo e seus derivados, alguns contaminantes se destacam frente aos demais. Neste caso, de forma geral, os compostos de interesse que exigem maior preocupação ambiental e que, normalmente, são os principais a serem identificados e quantificados antes e durante um processo de remediação, são: benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (isômeros: *ortho*-, *meta*- e *para*-xileno). Esses compostos, conhecidos também como BTEX, são definidos como hidrocarbonetos monoaromáticos, cujas estruturas moleculares possuem como característica principal a presença do anel benzênico. São usados, principalmente, em solventes e em combustíveis e são os constituintes mais solúveis na fração da gasolina.

Compostos como os BTEX, constituem em um grande problema, não somente no Brasil, mas em todo o mundo. Esses compostos aromáticos são tóxicos tanto ao meio ambiente como ao ser humano, nos quais atuam como depressores do sistema nervoso central e apresentam toxicidade crônica mais significativa que os hidrocarbonetos alifáticos (também presentes no petróleo e derivados), mesmo em concentrações da ordem de  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Watts et al., 2000). O benzeno é reconhecidamente o composto mais tóxico dentre os BTEX e, por isso, pode ser apontado como o agente mais preocupante no tocante à saúde pública. Segundo a Agência Internacional de Pesquisa de Câncer (*International Agency for Research on Cancer* – IARC), órgão da Organização Mundial da Saúde, o benzeno se classifica no Grupo I, ou seja, é uma substância comprovadamente cancerígena e que também pode causar leucemia em seres humanos. Assim como a IARC, nos Estados



**Figura 1.** Comparação entre os custos do tratamento de solos empregando diferentes técnicas de remediação (modificado de EPA)

A análise da Figura 1 permite observar que a biorremediação é a técnica que apresenta o custo de tratamento mais baixo quando comparado às demais. A incineração caracteriza-se por apresentar custos maiores relacionados ao tratamento de solos e, consequentemente, à inviabilidade do processo, dependendo do volume de solo a ser tratado. Utilizando a incineração como opção de tratamento, dependendo do tipo de composto a ser destruído, o custo total do processo pode chegar, aproximadamente, em 2.665 dólares para cada m<sup>3</sup> de solo tratado. Salienta-se, porém, que aqui o objetivo não é desprezar e nem desmerecer uma técnica ou outra e, sim, elucidar algumas vantagens apresentadas na utilização da biorremediação. Sendo que esta, assim como qualquer outra técnica, traz diversas vantagens e limitações. Por isso, sugere-se que cada caso seja analisado criteriosa e individualmente, principalmente, quando tratar da tomada de decisão para a escolha da técnica de remediação a ser empregada.

#### Oxidação química *in-situ*

A oxidação química *in-situ*, consiste na injecção de produtos químicos reativos diretamente no local contaminado, com o objetivo de degradar rapidamente os contaminantes por meio de reações químicas que promovem a oxidação ou a redução das espécies de interesse presentes em uma determinada área. Também conhecido como ISCO (*In-Situ Chemical Oxidation*), segundo Brown (2003), esse processo é mais frequentemente empregado em locais contendo concentrações elevadas do contaminante, geralmente, presentes na fonte e na “pluma” de contaminação. A pluma é definida como o local onde estão distribuídos os contaminantes, normalmente lançados a partir de uma fonte pontual. A extensão e a expansão da pluma, normalmente, é prevista com o auxílio de modelos teóricos e cálculos matemáticos, cujos dados são obtidos após a caracterização do solo (como a permeabilidade), da água subterrâ-

eficiente e contínua. Isso ocorre devido, principalmente, ao processo de adaptação natural da microbiota nativa existente no solo impactado. Neste caso, esses microorganismos passam a utilizar em seus metabolismos os compostos orgânicos poluentes como fontes de carbono, provocando, então, a redução das concentrações dessas substâncias ao longo do tempo (Robb & Moyer, 2001). Além disso, o solo contaminado está sujeito aos processos intempéricos de origem natural, nos quais, não somente os processos biológicos (como o processo descrito anteriormente), mas também os físicos e químicos, como a “lixiviação” (processo através do qual ocorre o arraste vertical, pela infiltração da água, de partículas, dissolvidas ou em suspensão, da superfície do solo para as camadas mais profundas) e a volatilização, podem estar envolvidos na redução da concentração do poluente no solo.

A utilização desse processo, como opção principal de remediação, requer algumas ressalvas, haja vista que as condições do meio, inclusive o tipo e a concentração dos contaminantes, podem não contribuir para a redução de substâncias tóxicas e recalcitrantes e, consequentemente, aumentam os riscos de contaminação de pessoas e animais. Por esses motivos, o emprego da atenuação natural é permitido e até recomendado, desde que sejam respeitados os resultados obtidos em estudos preliminares sobre a avaliação de risco da exposição da população, elaborada dentro de um cenário real para o uso futuro da área. Normalmente, processos de atenuação natural costumam durar de meses a anos. Por isso, o tempo e a porcentagem de degradação dos contaminantes podem ser muito lentos e até imprevisíveis. É justamente por essa consideração, que, na maioria dos casos, é necessário que esse processo de tratamento seja monitorado rigorosa e periodicamente. Este processo, denominado de “atenuação natural monitorada” (ANM), é um dos mais utilizados nos EUA para a redução do impacto ambiental causado por contaminações de solos com compostos orgânicos.

Devido aos custos elevados envolvidos na remediação de áreas contaminadas, a atenuação natural com monitoramento tem sido adotada como uma possibilidade de intervenção em locais contaminados por substâncias orgânicas biode-

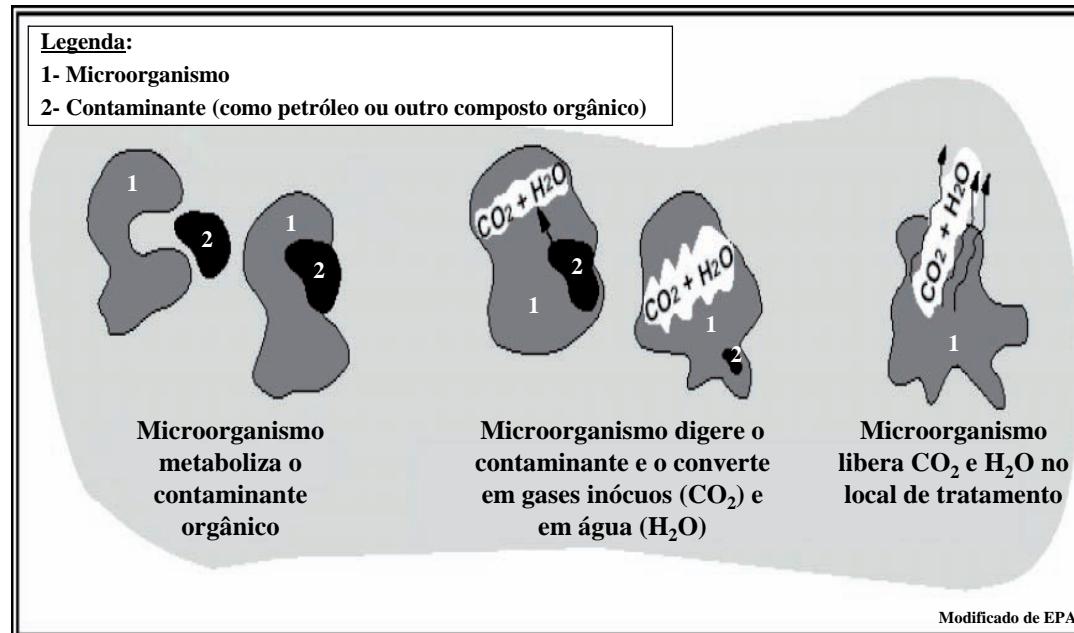
gradáveis, nas condições naturais do meio. Esta alternativa baseia-se na capacidade de atenuação natural de contaminantes, no solo e nas águas subterrâneas, a qual, em geral, ocorre durante um longo período de tempo, no qual não devem ocorrer riscos à saúde pública, ao meio ambiente e aos demais bens a proteger. A adoção da técnica deve ser precedida de um estudo criterioso que inclua a previsão da evolução das plumas de contaminação, a metodologia de avaliação de risco e o monitoramento durante o período necessário para que se atinjam as metas de remediação desejáveis. Apesar disso, considerando principalmente o tempo necessário para a reabilitação da área, a ANM pode ser onerosa, gerando custos significativos, caso a atenuação se estenda por um longo período de tempo. Casos como este, comumente, exigem o tratamento *in-situ* ou *ex-situ* do solo impactado (EPA, 2004b).

### **Extração de vapores no solo (SVE)**

A extração de vapores no solo, também conhecida como SVE (*Soil Vapor Extraction*), é uma técnica de remediação comumente empregada no tratamento de solos contaminados, porém, deve-se ressaltar que essa técnica é aplicada somente à “zona não-saturada” (zona que se situa imediatamente abaixo da superfície topográfica e acima do nível freático, onde os espaços entre as partículas estão parcialmente preenchidos por gases, essencialmente ar atmosférico e vapor de água, e por água. A água contida nessa zona encontra-se à pressão atmosférica, podendo ser utilizada pelas raízes das plantas ou contribuir para o aumento das reservas de água subterrânea). De modo geral, a SVE baseia-se na aplicação de vácuo em pontos estratégicos do solo, a fim de induzir o fluxo controlado de ar e, então, remover os contaminantes presentes no solo, sobretudo, nas regiões da subsuperfície. Nessa técnica, os gases extraídos devem, obrigatoriamente, passar por etapas de tratamento de vapores, antes de serem lançados para a atmosfera.

Há duas condições-chave requeridas para o emprego de SVE. A primeira, é que o solo deve conter uma fase gasosa, através da qual o ar conta-

No que diz respeito aos tipos de utilização da técnica, quanto ao local de tratamento, a biorremediação *in-situ* é a mais empregada no mundo. Porém, independente do local de aplicação, a biorremediação, assim como as demais técnicas químicas de degradação, tem como objetivo principal a mineralização completa dos contaminantes, ou seja, transformá-los em produtos com pouca ou nenhuma toxicidade (inócuos), como  $\text{CO}_2$  e água. Em suma, os microorganismos metabolizam as substâncias orgânicas, das quais se obtêm nutrientes e energia. Sendo que, para que isso ocorra, os microorganismos devem estar ativos para desempenharem a sua tarefa de biodegradação. Um esquema geral e simplificado da ação de microorganismos em processos de biorremediação é mostrado na Figura 2 (EPA, 2001b).



**Figura 2.** Esquema simplificado da ação de microorganismos em processos de biorremediação (EPA, 2001b)

Genericamente, os microorganismos nativos da subsuperfície podem desenvolver a capacidade de degradar contaminantes após longo período de exposição. Normalmente, estes seres microscópicos se adaptam em baixas concentrações de contaminantes e se localizam nas regiões externas à pluma de contaminação e, muito dificilmente, estarão presentes na fase livre (fase orgânica concentrada). Os compostos orgânicos são metabolizados por fermentação, respiração ou co-metabolismo (CETESB, 2004). Portanto, o processo de biorremediação pode ser aeróbico ou anaeróbico, requerendo oxigênio ou hidrogênio, respectivamente. Na maioria dos locais, a subsuperfície é carente dessas espécies (oxigênio ou hidrogênio), o que impede os microorganismos de se reproduzirem e degradarem completamente

o contaminante alvo. Além desse dois processos, a biorremediação também pode ocorrer de forma co-metabólica (Vidali, 2001).

Na “biorremediação aeróbica”, que requer um meio oxidante, o oxigênio atua como receptor de elétrons e os contaminantes são utilizados pelos microorganismos como fontes de carbono (doador de elétrons), necessárias para manter as suas funções metabólicas, incluindo o crescimento e a reprodução. Por exemplo, os compostos BTEX cumprem essa função como doadores de elétrons, caso haja receptores suficientes (oxigênio dissolvido) para que a reação ocorra. Quando o oxigênio é totalmente consumido, os microorganismos passam a utilizar outros receptores naturais de elétrons disponíveis no solo, sendo que esse consumo ocorre na seguinte ordem de preferência: nitrato

quisas sugerem que devido à elevada diversidade de compostos em solos contaminados por petróleo e derivados, estudos preliminares à biorremediação são de suma importância para o tratamento dessas matrizes ambientais (Embar et al., 2006). Salienta-se que, a princípio, o fator crítico para definir se a biorremediação é a técnica mais apropriada para o tratamento do local contaminado é a biodegradabilidade do contaminante. Por isso, o estudo detalhado de cada parâmetro que afeta a biodegradação deve ser feito cautelosamente pelos responsáveis do projeto de remediação. O item a seguir descreve a influência desses fatores na biorremediação.

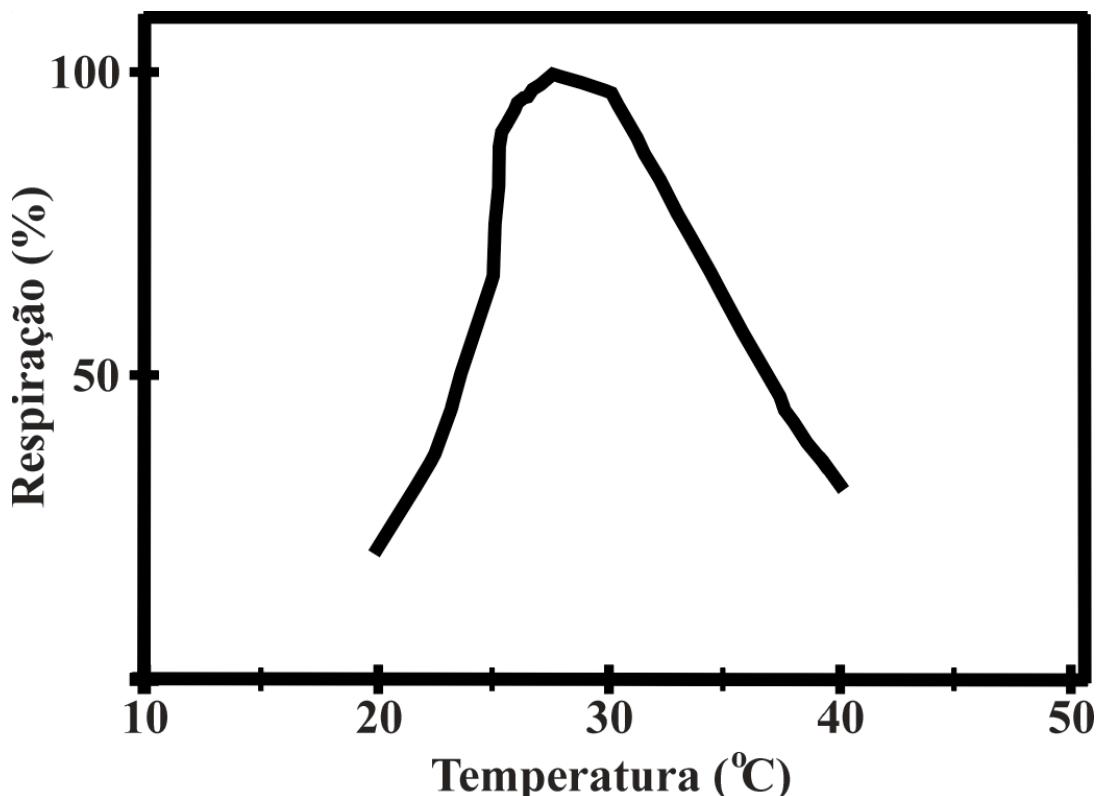
#### **Fatores que influenciam a biodegradabilidade dos contaminantes e a problemática da contaminação de solos por petróleo**

Embora vários contaminantes podem ser metabolizados por microorganismos, alguns são mais facilmente biodegradados do que outros. No caso dos hidrocarbonetos de petróleo, por exemplo, muitas áreas contaminadas possuem uma mistura complexa de compostos orgânicos, sendo que a maioria destas substâncias, certamente, não é metabolizada na mesma velocidade. Em vez disso, as taxas de degradação dos diversos compostos que são metabolizados são diferentes e dependentes de vários fatores. Em especial, a velocidade de degradação é comumente depende da concentração do contaminante e da quantidade de espécies catalisadoras, como as enzimas geradas *on-site* pelos microorganismos. Nesse contexto, a quantidade de catalisador presente, de certa forma, representa o número de microorganismos hábeis em metabolizar o contaminante, bem como a quantidade de enzimas produzidas por cada célula. Então, qualquer fator que afeta a concentração do contaminante, o número de microorganismos presentes ou a quantidade de enzimas específicas, pode aumentar ou diminuir a velocidade da biodegradação do contaminante.

Em suma, as medidas corretivas a serem adotadas em quaisquer projetos que envolvam a biorremediação dependem de vários fatores, dentre eles, pode-se citar: A) os tipos e as quantidades

dos microorganismos e B) as condições físicas e químicas do sítio contaminado (como pH, umidade, temperatura, salinidade, teor de oxigênio e quantidade de nutrientes). Os nutrientes, que geralmente são representados por nitrogênio, fósforo e potássio (NPK), durante a biorremediação, normalmente são utilizados na forma de nitrato de amônio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), di-hidrogeno fosfato de potássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) e nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ ), respectivamente (Betancur-Galvis et al., 2006). Além das condições citadas, é de extrema importância o conhecimento prévio do teor de matéria orgânica, o qual pode ser expresso pela quantidade de carbono orgânico total no meio.

Adicionalmente, Hutchinson et al. (2003) constataram que o fator principal que influencia na biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo é a atividade microbiológica. Neste caso, Alexander (1977) discutiu, em detalhes, os efeitos desses fatores sobre os microorganismos. Para estes pesquisadores, a atividade e a população microbial estão fortemente associadas com os conteúdos de água e de nutriente nos solos, com as espécies de plantas e com os tipos de contaminantes. Além disso, a atividade microbiológica é afetada, sobretudo, pelo valor do pH (Figura 3) e pela temperatura (Figura 4) dos solos (Tate, 1995).

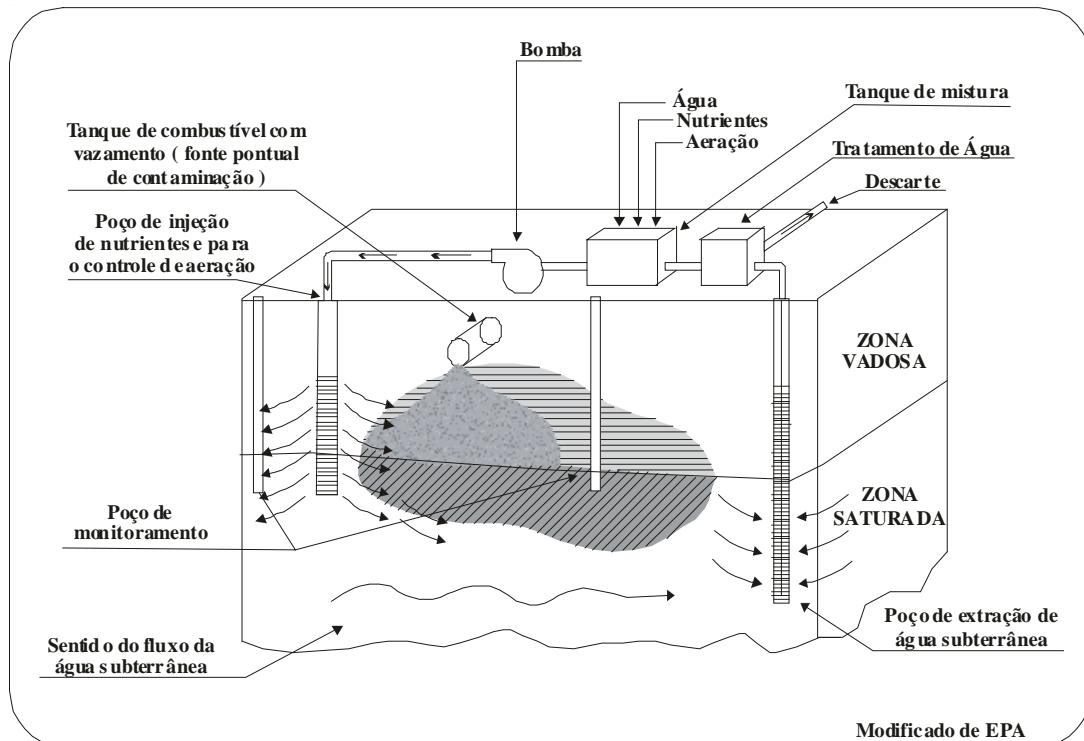


**Figura 4.** Resposta típica de uma população de bactérias mesofílicas em função da variação da temperatura dos solos (modificado de Tate, 1995)

A análise da Figura 4 mostra que a faixa de temperatura ideal para os microorganismos metabolizarem os contaminantes com eficiência ótima está entre 25 e 30 °C, na qual se encontra a temperatura média da maior parte dos solos do Brasil contendo áreas degradadas por contaminação de hidrocarbonetos do petróleo (Tate, 1995). Analogamente, estudos realizados pela EPA (1995) constatam que a atividade microbiana é bastante comprometida em temperaturas abaixo de 10 °C e acima de 45 °C. Esta é uma excelente característica para a utilização de biorremediação em solos tipicamente brasileiros e, portanto, reforça a probabilidade da implantação dessa técnica em números maiores de locais contaminados. Além disso, verifica-se que a temperatura do solo varia diariamente nas proximidades da superfície, em solos com baixa densidade de cobertura vegetal.

Abaixo de 50 cm, a variação da temperatura dos solos é pouco significativa.

Por outro lado, a presença da vegetação sobre a área contaminada também afeta muitos atributos físicos dos solos, incluindo estrutura, porosidade, condutividade hidráulica e taxa de infiltração. Esses atributos, em geral, influenciam positivamente a atividade microbólica por regular o transporte requerido de água e de nutrientes através do perfil dos solos e por controlar a aeração da zona vadosa. Além do mais, a biorremediação de hidrocarbonetos de petróleo é assistida por microorganismos, que, em geral, dependem fortemente das quantidades de umidade e de oxigênio adequadas. As propriedades físicas dos solos influenciam o transporte de ambas espécies, oxigênio e água. Nesse caso, para a biorremediação de solos, os conteúdos de água entre 50 e 80 % da capacidade e o teor de O<sub>2</sub> dissolvido maior que



**Figura 5.** Esquema típico do tratamento de solos e de águas subterrâneas por biorremediação (EPA, 2003b)

#### Técnicas de utilização da biorremediação

ção)

Desde os meados dos anos 80 do século XX, as estratégias de biorremediação têm sido adotadas como uma maneira eficaz e de custo baixo para o tratamento de solos contaminados com petróleo (Delfino & Miles, 1985; Tsao et al., 1998; van der Hoek et al., 1989). As diferentes estratégias de biorremediação, em geral, visam aumentar a população microbiana criando condições ambientais favoráveis ao seu desenvolvimento (Silva et al., 2004). A seguir, serão apresentadas duas das técnicas principais de biorremediação *in-situ*, a primeira é a “atenuação natural acelerada”, também conhecida por “bioestimulação” e, a segunda, trata-se da “bioaumentação”. Em seguida, será descrita uma das técnicas mais utilizadas para o tratamento *ex-situ* de solos contaminados, que é a biorremediação por “biopilhas”.

#### Atenuação natural acelerada (bioestimula-

A técnica denominada de atenuação natural acelerada (ANA), diferente da ANM (técnica descrita anteriormente), é uma opção de biorremediação *in-situ* na qual se busca, especialmente, instigar o crescimento da população microbiana nativa. Isto ocorre, fundamentalmente, pelo condicionamento do habitat natural desses microorganismos. Portanto, na ANA, a idéia fundamental é condicionar o local contaminado, de modo a acelerar o processo de atenuação natural, estimulando, sobretudo, o desenvolvimento dos microorganismos autóctones (indígenos). Ressalta-se aqui, que esses microorganismos, para serem definidos com tal, devem ser nativos da região biogeográfica, em que se pretende a sua aplicação, participando de funções reprodutivas, de ciclo de nutrientes e de fluxos de energia (EPA, 2004d).

Para que esta técnica de biorremediação seja utilizada de forma eficiente, o primeiro requisito a ser atendido é a necessidade dos microor-

eliminação por predatismo de microorganismos introduzidos, a concentração de poluente orgânico muito baixa para suportar o desenvolvimento e, até mesmo, aos fatores ambientais desfavoráveis ao crescimento desses microorganismos (Alexander, 1999; Sims et al., 1992). Além disso, o lançamento de microorganismos alóctones pode acarretar em riscos consideráveis ao meio ambiente. Desta maneira, em função dos riscos ambientais associados, por exemplo, ao emprego de produtos biotecnológicos, é de suma importância que tais produtos sejam devidamente avaliados antes de sua aplicação para, então, promover a degradação de poluentes em sistemas de tratamento de resíduos ou em locais contaminados. Este procedimento deve ser realizado cuidadosamente, visando a sua utilização como prática segura e eficaz dos pontos de vista ambiental e sanitário.

Segundo a CETESB, os produtos biotecnológicos podem ser constituídos de microorganismos viáveis, metabólitos (como as enzimas) ou, ainda, misturas de microorganismos e metabólitos contendo produtos orgânicos e inorgânicos, atuando como conservantes, estabilizantes, nutrientes, ativadores e outros. A grande preocupação, portanto, é que os microorganismos viáveis presentes no produto acabado podem reproduzir-se, disseminar-se por novos locais e até transferir material genético para os microorganismos naturalmente presentes no ambiente. Do mesmo modo, as enzimas podem catalisar reações que interferem no metabolismo normal de organismos originalmente existentes e, além disso, a introdução de nutrientes e de outros compostos podem provocar o desequilíbrio do ecossistema (CETESB, 2007b).

Apesar de toda essa discussão, a respeito da inserção de microorganismos não-indígenos no solo, Top & Springael (2003) defendem que o uso de microorganismos não modificados normalmente não constitui problema, contrariamente ao que se verifica com os microorganismos geneticamente modificados, cuja utilização requer uma avaliação mais criteriosa. Assim sendo, as técnicas biológicas que envolvem o uso da bio-aumentação, isto é, que empregam a adição de microorganismos exógenos, devem ser analisadas criteriosamente devido, principalmente, aos riscos ambientais que a inserção de um microorganismo não nativo ao solo pode gerar. Por esse motivo,

as técnicas de biorremediação que aplicam apenas o uso da microbiota nativa podem vir a produzir resultados eficazes e de menor impacto ao meio ambiente (Silva et al., 2004).

### *Biopilhas*

O tratamento por biopilhas é controlado por processos biológicos *ex-situ* sob condições aeróbicas. Essa técnica de biorremediação envolve basicamente a disposição do material contaminado em montes denominados de biopilhas. Para o emprego desta técnica, inicialmente o solo é escavado e, em seguida, preparado e colocado em biopilhas, onde é feita a estimulação da atividade microbiana através de aeração, da adição de nutrientes e do aumento da umidade do solo, com o propósito de promover a biodegradação dos contaminantes de interesse. O esquema característico do sistema de um tratamento por biopilhas é mostrado na Figura 6 (EPA, 2004e).

podem se tornar a alternativa mais onerosa dentre as técnicas de remediação, pois, além dos custos relacionados com a remoção propriamente, devem ser considerados os custos do transporte, do tratamento e da disposição final do solo tratado, além de outras exigências, como o treinamento de pessoal. Essa prática também apresenta a desvantagem de que a remoção do solo deve ser realizada com todos os cuidados para que não ocorra a propagação da contaminação para outros meios, inicialmente os não afetados, como o ar e as águas, ao exemplo do que ocorreria durante a remoção de solos contaminados com substâncias voláteis (EPA, 2004e).

Assim sendo, o transporte e o tratamento *off-site* dos solos por biopilhas possibilitam a transferência do problema para outros locais que

também poderão se tornar contaminados. Por essas razões a adoção da técnica de remoção de solos se justifica somente nos casos os quais há a presença de resíduos perigosos, de solos altamente contaminados ou em que uma análise mais criteriosa demonstre a impossibilidade de aplicação de outras técnicas, de maneira a se atingir as metas de remediação requeridas, no intervalo de tempo desejado (EPA, 2004e).

Entretanto, não obstante às limitações apresentadas, de modo geral, a aplicação da biorremediação vem sendo muito estudada em diversos países e destaca-se como uma alternativa promissora para o tratamento de sítios contaminados por petróleo e seus derivados. A Tabela 1 apresenta as principais vantagens e limitações inerentes à biorremediação de solos.

**Tabela 1.** Vantagens e limitações da biorremediação de solos

VANTAGENS	LIMITAÇÕES
A aplicação envolve o uso de equipamentos de fácil obtenção, instalação e operação.	Podem ser requeridos monitoramento contínuo por tempos longos e/ou manutenção do sítio submetido à biorremediação.
Em atividades in-situ, a biorremediação gera distúrbios mínimos ao meio ambiente.	A técnica é ineficiente para compostos orgânicos que ficam adsorvidos no solo, tornando-os indisponíveis à biodegradação.
Em condições ótimas de operação, apresenta custos menores em comparação às técnicas alternativas de remediação.	É menos eficiente em períodos menores de tempo em comparação às outras técnicas de remediação, como os POA.
Pode ser combinada com outras técnicas, como a SVE, para acelerar o processo de descontaminação.	Contaminantes de baixa solubilidade em concentrações elevadas, como os HTP, podem ser tóxicos aos microorganismos e/ou não biodegradáveis, inviabilizando a utilização da técnica.
Na maioria dos casos, essa técnica não produz compostos tóxicos, que devem ser dispostos e tratados em outro local.	As propriedades físicas, químicas e microbiológicas do solo e as condições climáticas, podem alterar a taxa de biodegradação.
É muito eficiente na biodegradação de petróleo e seus derivados em solos permeáveis.	Dificuldade de utilização em solos argilosos ou com baixa permeabilidade.

Ressalta-se que no Brasil, até o momento, apenas alguns estudos foram realizados abordando a temática de biorremediação de solos. Ao contrário, em outros países, como nos Estados Unidos, essa questão é estudada com frequência, tanto no meio acadêmico como no industrial. Por isso, nos últimos

**Tabela 3.** Valores orientadores para solos no Brasil (CETESB, 2005)

COMPOSTO	CONCENTRAÇÃO EM PESO SECO (mg kg <sup>-1</sup> )			
	Valores de prevenção	agrícola	residencial	industrial
Benzeno	0,03	0,06	0,08	0,15
Tolueno	0,14	30	30	75
Etilbenzeno	6,2	35	40	95
Xilenos	0,13	25	30	70
HPA*	12,7	56,6	147,1	384,8
HTP	---	---	---	---

\* Soma das concentrações de dez compostos selecionados pela CETESB: antraceno, benzo(*a*)antraceno, benzo(*k*)fluoranteno, benzo(*g,h,i*)perileno, benzo(*a*)pireno, criseno, dibenzo(*a,h*)antraceno, fenantreno, indeno(1,2,3-*c,d*)pireno e naftaleno.

### APLICAÇÕES E INOVAÇÕES DA BIORREMEDIAMENTO DE SOLOS

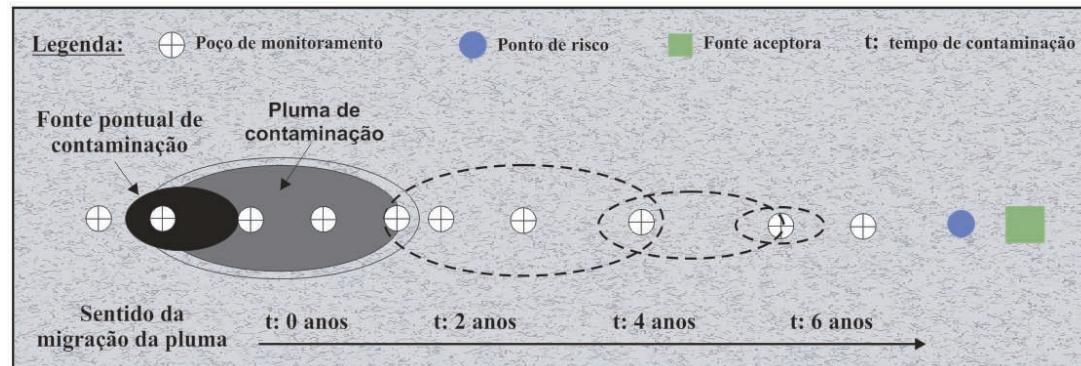
Baseados na descoberta de que os micro-organismos endógenos, presentes em areias de praias ou em solos, podem degradar hidrocarbonetos de petróleo nesses locais, desde então, muitas pesquisas vêm sendo realizadas envolvendo a biorremediação. Os baixos custos envolvidos nas transformações bioquímicas *in-situ*, além da possibilidade de redução ou até mesmo de eliminação total dos contaminantes, são condições que favorecem a atratividade das técnicas de biorremediação. Esses fatores atualmente têm sido considerados como os principais responsáveis pelas vastas aplicações e inovações surgidas na área de remediação de solos mediada por microorganismos.

A maioria das inovações envolvendo a biorremediação de solos, ao contrário de diversas técnicas ligadas à degradação de compostos orgânicos, não está relacionada com o desenvolvimento de novas técnicas analíticas e de novos equipamentos empregados para o monitoramento ambiental e para a identificação desses compostos. O estado da arte está focado no desenvolvimento de novos reagentes, que têm sido produzidos com o objetivo de serem utilizados *in-situ* para acelerar e melhorar a eficiência da biorremediação. Além

disso, as inovações nessa área também estão direcionadas ao estudo biotecnológico envolvendo a geração de organismos geneticamente modificados, desenvolvidos com o intuito de degradarem contaminantes específicos em diferentes nichos ecológicos (Saul et al., 2005; Sánchez et al., 2006).

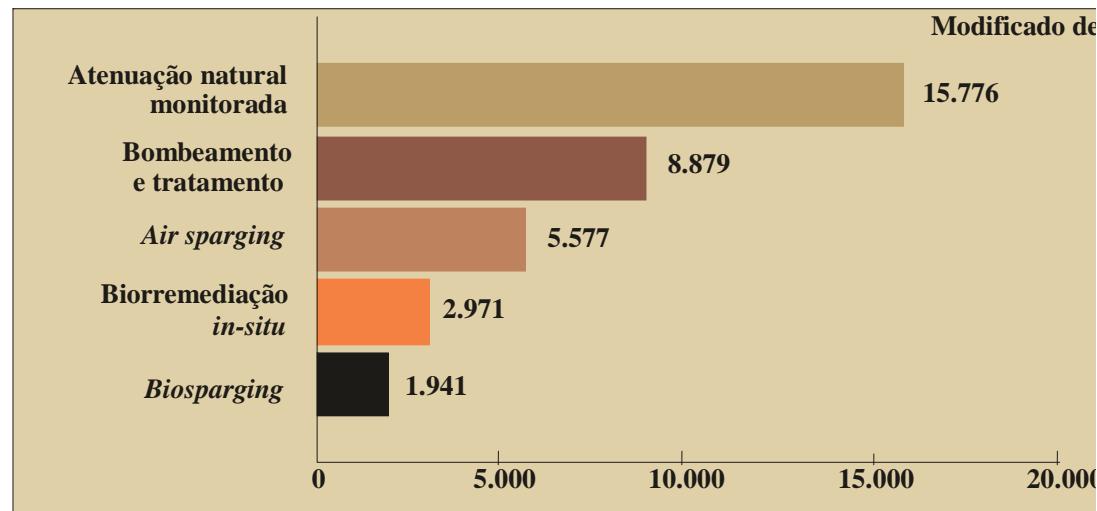
No tocante ao desenvolvimento de novos reagentes, cujas utilizações estão voltadas para a aceleração de processos bioquímicos de degradação *in-situ*, podem-se citar os trabalhos atuais de uma empresa localizada na Califórnia (EUA), denominada "Regenesis". Esta empresa realiza, entre outras atividades, serviços de consultoria e de remediação ambiental, além de desenvolver e comercializar produtos que aceleram a degradação natural de contaminantes. Um dos produtos desta empresa é o *Oxygen Release Compound* (ORC<sup>®</sup>), que vem sendo amplamente empregado em inúmeros casos reais, sendo que existe um histórico da aplicação deste produto em mais de 11.000 locais de contaminação. Neste caso, a degradação aeróbica de hidrocarbonetos de petróleo, utilizando-se o ORC<sup>®</sup>, consiste, basicamente, na adição de peróxido de magnésio e de fosfato. Pesquisas mostram que estes reagentes, dependendo das condições do local, quando hidratados, podem liberar oxigênio molecular de maneira lenta e em

não evitar o deslocamento da pluma até as regiões de risco, são necessários métodos que acelerem a degradação dos contaminantes (EPA, 2004b; USAEC, 2003b).



**Figura 7.** Exemplo da atenuação natural monitorada de uma pluma de hidrocarbonetos de petróleo

Portanto, trabalhos de diagnóstico correto e a implantação de um programa de ANM podem reduzir consideravelmente o custo da remediação e evitar uma nova intervenção humana no local contaminado. Com base nessa informação, não é por acaso que nos Estados Unidos, onde o mercado ambiental se encontra mais bem desenvolvido que no Brasil, a maior parte dos programas para a remediação de contaminações causadas por vazamento de tanques de combustíveis subterrâneos é feita por atenuação natural monitorada, como mostram os dados da Figura 8 (EPA, 2004b).



**Figura .** Número de locais contaminados por combustíveis procedentes do vazamento de tanques subterrâneos versus as diferentes técnicas de remediação empregadas para o tratamento desses tanques instalados nos EUA (EPA, 2004b)

talhadas são fundamentais para que se possa avaliar corretamente o risco de se utilizar essa área para qualquer que seja o fim.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão do auxílio financeiro.

**Summary:** In view of the proven efficiency of bioremediation in the degradation of compounds toxic to humans, such as benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes (BTEX), several companies, especially those related to remediation and environmental monitoring, have shown enormous interest in the deployment of bioremediation as an option for the rehabilitation of contaminated areas. In developed countries such as the United States, Canada and several European countries, these biochemical remediation techniques have been widely used in work that is based, for example, on the treatment of soil contaminated by petroleum hydrocarbons. However, contrary to what has been done in these countries, in Brazil, bioremediation projects are still mainly theoretical, with few practical cases, but there is a real likelihood of expansion. The more important aim of this review is to indicate the advantages that this technique can offer when it is used for the degradation of compounds such as BTEX in typical Brazilian soils, whose physico-chemical characteristics contribute to the degradation of contaminants. Research shows that environmental factors (such as moisture and oxygen levels) and the availability of soil nutrients, in addition to the climatic conditions in Brazil, are quite suitable for the employment of this technique. They may pose, as an advantage, a favorable cost/benefit ratio and the opportunity for greater efficiency in the degradation of toxic and recalcitrant compounds compared to the majority of conventional remediation techniques. In summary, this review focuses on the state of the art of bioremediation techniques of contaminants in soils, presenting the most current and recent applications and innovations, as reported in the national and international media.

**Index terms:** bioremediation, degradation, contaminants, petroleum hydrocarbons – BTEX, soil.

## REFERÊNCIAS

- [1] ACTON, D.W. & BARKER, J.F. In situ biodegradation potential of aromatic hydrocarbons in anaerobic groundwaters. *J. Contam. Hydrol.*, 9:325-352, 1992.
- [2] AELION, C.M. & BRADLEY, P.M. Aerobic biodegradation potential of subsurface microorganisms from a jet fuel-contaminated aquifer. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57:57-63, 1991.
- [3] AISLABIE, J.; SAUL, D.J. & FOUGHT, J.M. Bioremediation of hydrocarbon-contaminated polar soils. *Extremophiles*, 10:171-179, 2006.
- [4] AISLABIE, J.M.; BALKS, M.R.; FOUGHT J.M. & WATERHOUSE, E.J. Hydrocarbon spills on Antarctic soils: effects and management. *Environ. Sci. Technol.*, 38:1265-1274, 2004.
- [5] ALEXANDER, M. Biodegradation and Bioremediation. 2<sup>nd</sup> ed. San Diego, California, Academic Press, 1999. 453p.
- [6] ALEXANDER, M. *Introduction to Soil Microbiology*. 2<sup>nd</sup> ed. New York, John Wiley, 1977. p.423-437.
- [7] ANDRADE, J.A. Otimização da reação de Fenton visando aplicações na remediação *in-situ* e *ex-situ* de águas subterrâneas. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 2005. 249p. (Dissertação de Mestrado).
- [8] BASTIAENS, L.; VOS, J.; MAESEN, M.; SIMONS, Q.; LOOKMAN, R.; HENDRICKX, B.; DIELS, L.; VAN BOVEN, F.; CAMERLYNCK, S.; VANHOUCKE, F.; LOETE, B. & VAN GESTEL, G. The influence of ORC® injection on *in-situ* BTEX biodegradation and on endogenous micro-organisms. P. Int. In-situ and On-site Bioremediation. Battelle Press, 2003.
- [9] BENTO, F.M.; CAMARGO, F.A.O.; OKEKE, B. & FRANKENBERGER-JÚNIOR, W.T. Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. *Braz. J. Microbiol.*, 34:65-68, 2003.

- Technologies for Underground Storage Tank Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers. Chapter XII – Enhanced Aerobic Bioremediation, EPA 510-B-94-003; EPA 510-B-95-007 and EPA 510-R-04-002, 2004d. 73p.
- [35] EPA: ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, UNITED STATES. How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers. Chapter IV – Biopiles, EPA 510-B-94-003; EPA 510-B-95-007 and EPA 510-R-04-002, 2004e. 30p.
- [36] EPA: ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, UNITED STATES. Integrated Risk Information System: benzene. CASRN 71-43-2, 2003a. Disponível em: <http://www.epa.gov/iris/subst/0276.htm>. Acesso em 22 mar. 2008.
- [37] EPA: ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, UNITED STATES. Method 8260C: Volatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS), 2006. Disponível em: <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/new-meth.htm>. Acesso em 24 mar. 2008.
- [38] EPA: ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. A Citizen's Guide to Bioremediation, Soil Waste and Emergency Response, EPA 542-F-01-001, 2001b. Disponível em: <http://www.epa.gov/>. Acesso em 15 mar. 2008.
- [39] EPA: ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Bioremediation in the field, 2003b. 39p. Disponível em: <http://www.epa.gov/>. Acesso em 10 mar. 2008.
- [40] FUKADA, S. & TAKAGI, K. Enhanced bioremediation of soil and groundwater at a petrol release site in Japan. P. Int. In-situ and On-site Bioremediation. Battelle Press, 2003.
- [41] GARNIER, P.M.; AURIA, R.; AUGUR, C. & REVAH, S. Metabolic degradation of methyl tert-butyl ether by a soil consortium: effect of components present in gasoline. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 46:79-84, 2000.
- [42] HAWROT, M. & NOWAK, A. Effects of different soil treatments on diesel fuel biodegradation. *Pol. J. Environ. Stud.*, 15:643-646, 2006.
- [43] HUTCHINSON, S.L.; SCHWAB, A.P. & BANKS, M.K. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in the rhizosphere. In: McCUTCHEON, S.C. & SCHNOOR, J.L., ed. *Phytoremediation – Transformation and control of contaminants*. Hoboken, New Jersey, John Wiley, 2003. p.355-386.
- [44] IARC: INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Carcinogenicity evaluation of BTEX, 71:829, 2006. Disponível em: <http://www.iarc.fr/>. Acesso em: 14 mar. 2008.
- [45] JARAMILLO, I.R. Fundamentos teóricos-práticos de temas selectos de la ciencia Del suelo. Parte 1, Universidad Autónoma Metropolitana, México. Apud: OLIVEIRA, F.R. & MILLIOLI, V.S. Utilização de técnica de bioestímulo, avaliando-se parâmetros como relação nutricional e umidade na biorremediação de solo contaminado com óleo cru. XIII J.I.C., CETEM, 1996.
- [46] KOENNIGSBERG, S.S. & WILLETT, A. Accelerated bioremediation with oxygen release compound advanced: evolution of time-release electron acceptors. P. Int. In-situ and On-site Bioremediation. Battelle Press, 2005.
- [47] MAILA, M.P. & CLOETE, T.E. The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants-perspective for monitoring hydrocarbon contamination: a review. *Int. Biodeter. Biodegr.*, 55:1-8, 2005.
- [48] MARGESIN, R. & SCHINNER, F. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. *Appl. Microbiol. Biot.*, 56:650-663, 2001.
- [49] MARÍN, J.A.; MORENO, J.L.; HERNÁNDEZ, T. & GARCÍA, C. Bioremediation by composting of heavy oil refinery sludge in semiarid conditions. *Biodegradation*, 17:251-261, 2006.
- [50] MORGAN, R. & WATKINSON, R.J. Hydrocarbon degradation in soils and methods for soil treatment. *CRC Crit. Rev. Biotechnol.*, 8:305-333, 1989.
- [51] NAKAGAWA, L.E. & ANDRÉA, M.M. Efeito de alterações nas características do solo sobre a degradação de hexaclorobenzeno. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, 30:575-582, 2006.
- [52] NANO, G.; BORRONI, A. & ROTA, R. Combined slurry and solid phase bioremediations of diesel contaminated soil. *J. Hazard. Mater.*, B100:79-94, 2003.
- [53] NIOSH: NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH. NIOSH Carcinogen List, 2006. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mill1.sjlibrary.org/niosh/homepage.html>. Acesso em 17 mar. 2008.
- [54] NRC: NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *In Situ Bioremediation: When Does It Work?* Washington, DC, National Academy Press, 1993.
- [55] OU, Z. Separate and combined environmental behaviour of surfactants and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Technische Universität München, Institut für Chemie, Lehrstuhl für Ökologische Chemie und Umweltanalytik, 2000. 272f. (Tese de Doutorado).
- [56] PERALTA-ZAMORA, P. & TIBURTIUS, E.R.L. Contaminação de águas por BTXs e processos utilizados na remediação de sítios contaminados. *Quím. Nova*, 27:441-446, 2004.
- [57] RAHMAN, K.S.M.; BANAT, I.M. & THAHIRA, J. Bioremediation of gasoline contaminated soil by a bacterial consortium amended with poultry litter, coir pith and rhamnolipid biosurfactant. *Bioresour. Technol.*, 81:25-32, 2002.
- [58] REED, T.A. Bioremediation of total petroleum hydrocarbons at a DOD site in Tracy, California. P. Int. In-situ and On-site Bioremediation. Battelle Press, 2004.
- [59] ROBB, J. & MOYER, E. Natural attenuation of benzene and MTBE at four midwestern retail gasoline marketing outlets. *Contam. Soil Sed. Water*, Spring:67-71, 2001.
- [60] SÁNCHEZ, O.; FERRERA, I.; VIGUÉS, N.; OTEYZA, T.G.; GRIMALT, J.O. & MAS, J. Presence of opportunistic