

Biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

Rodrigo Josemar Seminoti Jacques¹, Fátima Menezes Bento²,
Flávio Anastácio de Oliveira Camargo³

¹*Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria /Universidade Federal do Pampa, São Gabriel/RS*

²*Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS*

³*Departamento de Solos, Faculdade de Agronomia, UFRGS
Av. Bento Gonçalves, 7712, Caixa Postal 15.100, CEP 91540.000. Porto Alegre/RS
e-mail: fcamargo@ufrgs.br*

Resumo

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) não são degradados pela maioria dos microrganismos, devido a complexidade de sua estrutura química e baixa solubilidade em água. Apesar disso, estes compostos são gerados em grandes quantidades principalmente pelas atividades petroquímicas, levando a contaminação dos ecossistemas naturais. Os HAPs e seus derivados são compostos reconhecidamente mutagênicos e carcinogênicos, estando associados ao aumento de incidência de câncer no pulmão, intestino, fígado, pâncreas e pele dos seres humanos e animais. A utilização de microrganismos degradadores é uma alternativa para eliminação dos HAPs do ambiente. Para isso, além da seleção dos microrganismos com comprovada capacidade de degradação destes compostos, faz-se necessário fornecer condições adequadas de disponibilidade de água, de nutrientes inorgânicos, de pH e de temperatura, assim como buscar o aumento da biodisponibilidade dos HAPs, devido a sua forte tendência de sorção às partículas minerais e orgânicas dos solos e sedimentos. O objetivo desta revisão de literatura foi discutir o comportamento dos HAPs no ambiente, os metabolismos bacteriano e fúngico destes compostos e os fatores ambientais que influenciam a sobrevivência e a atividade dos microrganismos degradadores dos HAPs no ambiente.

Palavras-chave: contaminação ambiental, metabolismo microbiano, nutrientes, biodisponibilidade, biossurfactantes, biorremediação.

Summary

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are not degraded by most of the microorganisms, due to the complexity of its chemical structure and low solubility in water. In spite of that, these compounds are generated in petrochemical activities, with high potential for contamination of the natural ecosystems. PAHs and its derivatives are know mutagenic and carcinogenic compounds, being associated to the increase of cancer incidence in the lung, intestine, liver, and pancreas and in the humans' skin and animals. The use of microbial degraders is an alternative for PAHs elimination to the atmosphere. Besides the selection of the microorganisms with proven capacity of degradation of these compounds, it is necessary appropriate conditions for biodegradation as available water, inorganic nutrition, adequate pH and temperature, as well to increase PAHs bioavailability in soil due to strong tendency of sorption to minerals and organics particules of soils and sediments. The objective of this revision was to discuss PAHs environmental behavior, microbial metabolism of these compounds and the environmental factors that influence the survival and the activity of the PAHs microbial degrader community.

Key words: biodegradation, environmental pollution, microbial metabolism, nutrients, bioavailability, biosurfactants, bioremediation.

Introdução

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) são compostos orgânicos naturais, gerados continuamente pela combustão incompleta da matéria orgânica. No entanto, a geração antropogênica destes compostos, através das atividades relacionadas ao petróleo, tem introduzido anualmente no ambiente grandes quantidades de HAPs, resultando na contaminação dos ecossistemas, uma vez que estes compostos não são degradados pela maioria dos microrganismos, devido a complexa estrutura química e baixa solubilidade em água (JONHSEN et al., 2005).

A grande preocupação com a presença dos HAPs no ambiente se deve as suas propriedades mutagênicas e carcinogênicas. Estes compostos são lipossolúveis e prontamente absorvidos no organismo dos seres humanos e animais, onde reagem com o DNA e podem provocar câncer no pulmão, intestino, fígado, pâncreas e pele (CHAKRADEO et al., 1993; NETTO et al., 2000).

Uma alternativa para a remoção destes compostos do ambiente é através dos microrganismos degradadores que utilizam vias bioquímicas complexas para transformar os HAPs em intermediários comuns do seu catabolismo e, a partir daí, em fonte de carbono e energia para o seu cresci-

mento. Além disso, para que a biodegradação dos HAPs ocorra em taxas adequadas faz-se necessário otimizar condições químicas e físicas que influenciam a sobrevivência e atividade dos microrganismos degradadores (BAMFORTH & SINGLETON, 2005). Esta revisão visa discutir o comportamento dos HAPs no ambiente, os metabolismos bacteriano e fúngico destes compostos e os fatores ambientais que influenciam a sobrevivência e a atividade dos microrganismos degradadores dos HAPs no ambiente.

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos no ambiente

Os HAPs são compostos constituídos unicamente de átomos de carbono e de hidrogênio, arrançados na forma de dois ou mais anéis aromáticos. Devido a possibilidade da fusão de um número variável de anéis e das várias posições em que estes anéis podem se ligar entre si, há atualmente mais de 100 HAPs reconhecidos pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (VERSCHUEREN, 2001). Dentre estes, somente 16 são considerados relevantes em função das informações químico-físicas, toxicológicas, industriais e ambientais existentes. São eles: acenaftaleno, acenaftileno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(g,h,i)pireleno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fenantreno, fluoranteno, fluoreno, indeno(1,2,3-c,d)pireno, naftaleno e pireno (FIGURA 1A) (POTIN et al., 2004).

A geração dos HAPs ocorre naturalmente e de forma contínua, pela combustão incompleta da matéria orgânica, da biomassa vegetal, da madeira e de outros materiais orgânicos. Porém a contaminação ambiental está associada a geração antropogênica destes compostos, que ocorre através das indústrias petroquímicas, que produzem HAPs para serem utilizados na fabricação de corantes, de fibras sintéticas, de preservantes de madeira e outros. Além disso, as atividades de produção de carvão vegetal, de extração e gaseificação do carvão mineral e a cadeia de extração, transporte, refino, transformação e utilização do petróleo e seus derivados são também responsáveis pela introdução de grandes quantidades de HAPs no ambiente (BANFORTH & SINGLETON, 2005). De modo geral, os centros urbanos são os locais com maior potencial de contaminação dos HAPs devido a geração de resíduos a partir dos motores veiculares, oficinas mecânicas, garagens de automóveis e postos de combustíveis, sendo estes últimos considerados os principais responsáveis pela contaminação do ar, do solo, do subsolo e das águas subterrâneas com hidrocarbonetos. A maioria dos tanques subterrâneos de armazenamento de combustíveis é susceptível a corrosão nos primeiros 20 anos após sua instalação. De modo geral, cerca de 50% dos vazamentos ocorrem até 15 anos da instalação e grande parte das tubulações apresentam vazamentos até 10 anos da instalação (LIMA et al., 1998).

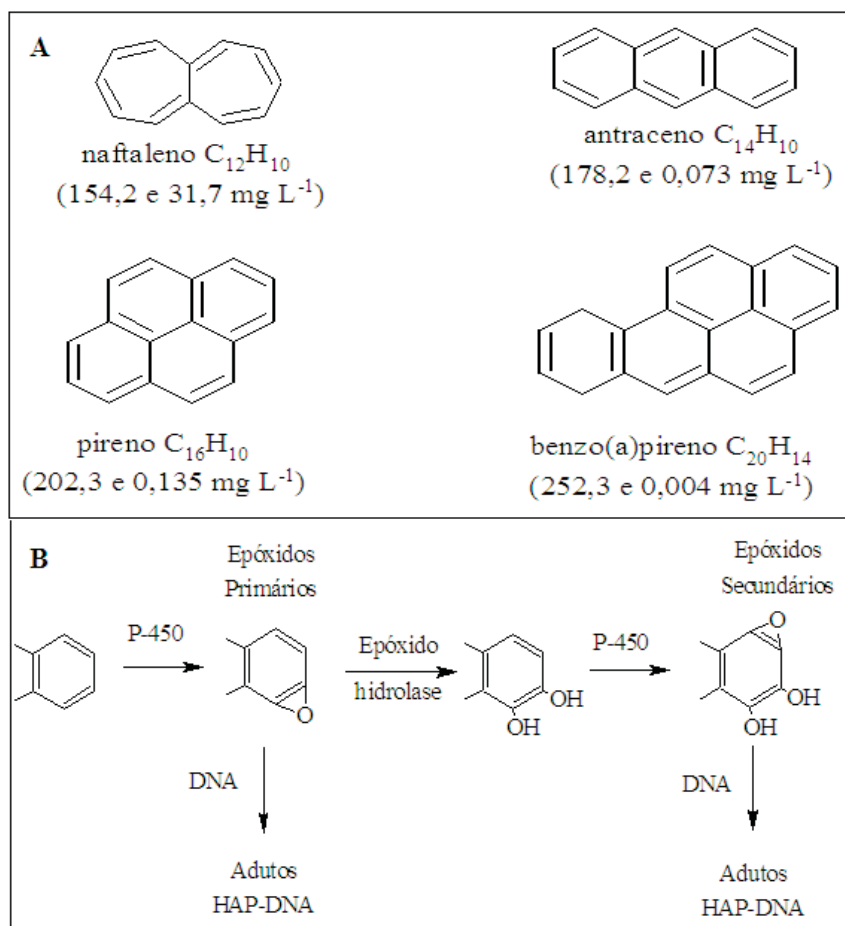


Figura 1: Fórmula estrutural, fórmula química, massa molar e solubilidade em água de alguns hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) (A). Mecanismo de ativação metabólica dos HAPs e reação com o DNA (NETTO et al., 2000) (B).

Em vista da complexidade e da estabilidade da estrutura química dos HAPs, devido a ressonância dos anéis aromáticos, a maioria dos microrganismos não possui enzimas capazes de reconhecê-los e degradá-los (JOHNSON et al., 2005). Além disso, por constituírem-se unicamente de átomos de carbono e hidrogênio, estes compostos apresentam baixíssima solubilidade em água (FIGURA 1A) e forte tendência de sorção as partículas orgânicas e minerais do solo e dos sedimentos, o que reduz sua biodisponibilidade aos microrganismos degradadores e resulta na contaminação ambiental.

A preocupação com a presença de HAPs no ambiente deve-se a possibilidade destes compostos reagirem diretamente ou após transformações metabólicas (ativações) com o DNA, tornando-se mutagênicos e carcinogênicos aos seres humanos e animais. A exposição ocorre por inalação, exposição oral ou dérmica. A quantidade absorvida por inalação depende do grau de contaminação atmosférica, que está diretamente relacionado a urbanização, tráfego de veículos e industrialização do local. A absorção dérmica é importante em pessoas que trabalham em atividades geradoras de HAPs. Os alimentos são considerados outra importante fonte de exposição, devido a formação de HAPs durante o cozimento e a deposição atmosférica (NETTO et al., 2000).

Em vista da característica fortemente apolar, os HAPs são lipossolúveis e prontamente absorvidos no organismo dos mamíferos, com posterior acúmulo no tecido adiposo. O metabolismo dos HAPs ocorre em diferentes órgãos e por várias vias; em quase todas há formação de compostos epóxidos, que podem reagir covalentemente com as bases nucleofílicas do DNA, notadamente a guanina, formando os denominados adutos HAP-DNA que, eventualmente, podem dar início a um processo mutagênico (FIGURA 1B). Um esquema proposto para carcinogênese por exposição considera as seguintes etapas: exposição ambiental, ativação metabólica, formação de adutos entre o HAP e o DNA, mutação de genes críticos, como, por exemplo, o p53 (gene repressor de tumor) e sucessão de mutações em outros genes (WHITE, 1986).

Nos Estados Unidos a legislação ambiental existente sobre HAPs está vinculada à Agência Americana de Proteção Ambiental (USEPA) e na União Européia, à Comissão das Comunidades Européias e à Lista Holandesa de Valores de Qualidade do Solo e da Água Subterrânea, proposta em 1994 pelo governo holandês e que é utilizada por alguns órgãos ambientais brasileiros. Ao nosso conhecimento, somente o Estado de São Paulo possui legislação própria que trata da contaminação do solo e das águas subterrâneas pelos HAPs. Na legislação paulista, o naftaleno apresenta um valor de referência de $0,12 \text{ mg kg}^{-1}$, o que significa que, em concentrações iguais ou menores a esta, o solo pode ser considerado "limpo" e possível de ser utilizado para qualquer finalidade. O valor de intervenção indica que há riscos para a saúde humana e para o ambiente, sendo que a ultrapassagem desse valor em um volume de solo de 25 m^3 ou em 100 m^3 de água subterrânea indica a necessidade de implementação na área avaliada de ações voltadas para a sua remediação. Para o naftaleno o valor de intervenção é de 30 mg kg^{-1} em solos agrícolas, de 60 mg kg^{-1} em solos residenciais e de 90 mg kg^{-1} em solos industriais. Na água subterrânea o valor de intervenção para este HAP é de $140 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (CETESB, 2005). Em vista da recalcitrância destes compostos no ambiente e da toxicidade aos seres humanos e animais, a

USEPA (2005) considera o benzo(a)pireno como um contaminante prioritário para a biorremediação.

Biodegradação dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

A degradação dos HAPs no ambiente pode ocorrer através de processos químicos e físicos. A interação entre moléculas e íons ou a excitação de átomos por efeito da luz e da temperatura conduzem a desestabilização da estrutura das moléculas e ao rompimento das ligações. No entanto, estes processos são lentos e incompletos, sendo que a biodegradação é a principal via de eliminação dos HAPs no solo (PRINCE & DRAKE, 1999).

Normalmente os microrganismos degradadores destes compostos encontram-se em pequeno número no solo, com populações maiores e mais ativas nos locais que se apresentam contaminados. Amostras coletadas nestes locais possibilitaram o isolamento em laboratório de microrganismos que, com o auxílio de técnicas analíticas (como cromatografia gasosa ou cromatografia líquida de alto desempenho, etc), tem sua capacidade de degradação dos HAPs comprovada. Desde a década de 1950 vêm sendo isoladas bactérias degradadoras destes compostos pertencentes principalmente aos gêneros *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Beijerinckia*, *Flavobacterium*, *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Sphingomonas*, *Mycobacterium*, *Stenotrophomonas*, *Paracoccus*, *Burkholderia*, *Microbacterium*, *Gordonia*, entre outros (MUTNURI et al., 2005; JACQUES et al., 2005a; JACQUES et al., 2005b) e vários fungos dos gêneros *Cunnighamella*, *Phanerochaete*, *Fusarium*, *Candida*, *Penicillium*, *Pleurotus*, *Trametes*, *Aspergillus*, *Bjerkandera*, *Chrysosporium* e outros (CERNIGLIA, 1997, CLEMENTE et al. 2001, JACQUES et al., 2005a).

Várias vias metabólicas de degradação dos HAPs já foram identificadas em diferentes microrganismos, porém as mais estudadas são do metabolismo aeróbico realizado pelas bactérias, pelos fungos lignolíticos e pelos fungos não-lignolíticos. No metabolismo bacteriano dos HAPs, exemplificado na FIGURA 2 pelo naftaleno, a oxigenação inicial é realizada por uma enzima intracelular dioxigenase que tem a função de reconhecer o HAP e adicionar dois átomos de oxigênio, quebrando a estabilidade devido a ressonância do anel aromático. Esta importante enzima do ciclo biogeoquímico do carbono no planeta é constituída de três componentes, uma oxigenase terminal, uma ferredoxina e uma ferredoxina redutase dependente de NADPH, que, conjuntamente, formam uma cadeia curta de transporte de elétrons (MISHRA et al., 2001). Um cis-diidrodiol é o produto da dioxigenase, que por ação de uma desidrogenase será transformado em um composto diidroxilado. Subseqüentes oxidações permitem a aber-

tura de um anel aromático e a formação de ácido pirúvico, que será utilizado para a produção de carbono e energia pela célula. A molécula com o anel fechado será transformada em um dos intermediários centrais da via de degradação dos HAPs, que pode ser o catecol, o protocatecol ou o gentisato. Até aqui atuaram as enzimas denominadas de periféricas, que tem a função de reconhecer as moléculas dos HAPs e convertê-las nestes intermediários centrais. A partir de então, atuam as denominadas enzimas de fissão, que converterão os intermediários centrais em compostos que possam ser utilizados nas vias comuns de geração de carbono e energia da bactéria. As enzimas de fissão podem ser divididas em dois grupos, conforme o local da clivagem no intermediário central: as enzimas intradiol abrem o anel aromático por via orto, originando o cis-muconato, que por passos sucessivos será convertido em succinato e acetil-coenzima; e as enzimas extradiol fazem a abertura do anel aromático por via meta, originando o semialdeído 2-hidroximucônico que por passos sucessivos será transformado em ácido pirúvico e acetaldeído (BAMFORTH & SINGLETON, 2005).

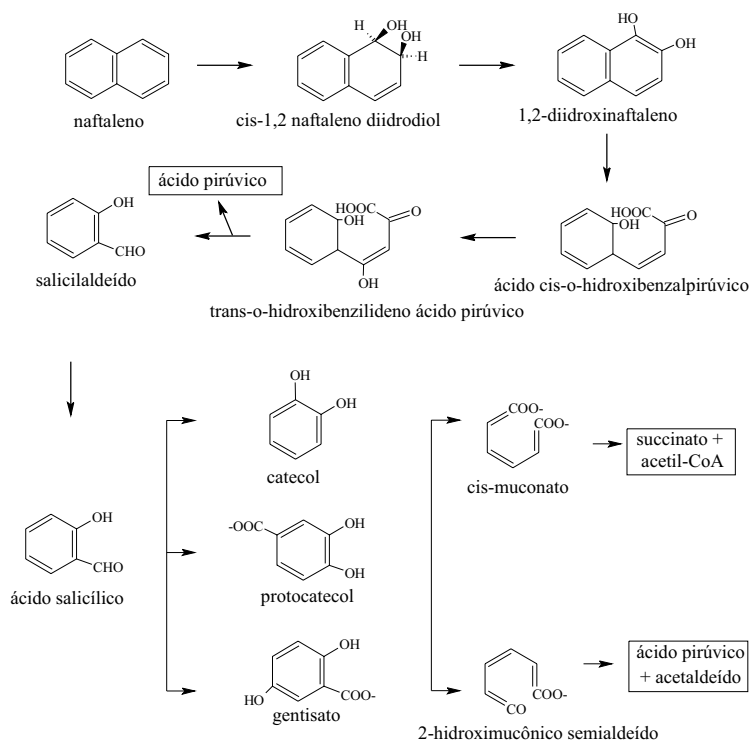


Figura 2: Degradação do naftaleno por bactérias aeróbicas (BAMFORTH & SINGLETON, 2005).

A possibilidade de utilização integral dessas vias bioquímicas permite a algumas bactérias crescerem utilizando os HAPs como única fonte de carbono e energia para o seu crescimento, resultando na degradação destes compostos e na sua eliminação do ambiente. JACQUES et al. (2005b) isolaram três bactérias do gênero *Pseudomonas* que degradaram em média 51% do antraceno presente no meio de cultura mineral. A utilização de HAPs marcados com ^{14}C permitiu a comprovação da capacidade das bactérias em utilizar integralmente estas vias bioquímicas, conduzindo a mineralização destes compostos. JOHNSEN & KARLSON (2004) obtiveram mineralizações próximas a 100% quando o fenantreno foi utilizado como única fonte de carbono e energia por uma bactéria do gênero *Sphingobium*.

Os fungos também podem metabolizar os HAPs. As principais vias descritas na literatura são duas: a primeira está relacionada aos fungos não-lignolíticos e a segunda aos fungos lignolíticos. Para exemplificá-las utilizar-se-á as vias de degradação do fenantreno. O metabolismo dos HAPs do *Cunninghamella elegans* é bastante estudado entre os fungos não-lignolíticos (FIGURA 3A). Assim como em seres humanos, o citocromo P450 realiza a monoxigenação inicial do fenantreno em óxidos arenos (epóxidos), que, através das enzimas epóxido hidrolases, são transformados em *trans*-diidrodióis, ou um dos anéis pode ser rearranjado não-enzimaticamente a fenol e ser conjugado, originando compostos como o-glicosídeos e o-glicoronídeos. Os *trans*-diidrodióis são transformados por desidratação em fenantróis, que podem então ser convertidos em 9-fenantril-beta-D-glicopiranosídeo, que se acredita ser um dos produtos finais da via de degradação dos fungos não-lignolíticos (THE UNIVERSITY OF MINNESOTA, 2005).

A lignina contém uma variedade de estruturas aromáticas, sendo que os fungos lignolíticos oxidam este polímero extracelularmente pela ação de lignina peroxidases, peroxidases dependentes de manganês e lacases. Estas são enzimas não específicas que podem oxidar HAPs (JOHNSEN et al., 2005). O *Pleurotus ostreatus* é um fungo lignolítico que tem o metabolismo dos HAPs bem estudado. Este fungo oxida o fenantreno transformando-o em 9,10-fenantreno-quinona e por clivagem deste anel, em 2,2'-difenato. A partir deste metabólito, pode ser formado 2,2'bifenildimetanol ou CO_2 , este último por uma via bioquímica ainda não elucidada (FIGURA 3 - THE UNIVERSITY OF MINNESOTA, 2005).

A capacidade dos fungos em degradar HAPs foi comprovada por vários pesquisadores, entre estes STEFFEN et al. (2002) que quantificaram em 85 e 95% a degradação em meio de cultura mineral do pireno e do antraceno respectivamente, pelo fungo *Stropharia rugosoannulata*. Ao contrário das bactérias, a mineralização fúngica dos HAPs é um processo limitado, havendo poucos relatos na literatura. BAZALEL et al. (1996) avalia-

ram a mineralização do fenantreno e do pireno pelo fungo *Pleorotus ostreatus*, sendo esta de somente 3,0 e 0,4%, respectivamente. O fungo *Phanerochaete chrysosporium* mineralizou 7,7% do fenantreno num experimento realizado por BUMPUS et al. (1985). Mesmo assim, há um certo consenso na literatura de que a clivagem inicial do anel aromático é o passo limitante da biodegradação dos HAPs (JONHSEN et al., 2005). Desta forma, mesmo os fungos apresentando reduzida capacidade de mineralização, podem produzir, a partir dos HAPs, intermediários hidroxilados com alta solubilidade em água, que poderão então ser utilizados como fonte de carbono e energia pelos demais microrganismos heterotróficos que não possuem a capacidade de reconhecer e clivar os HAPs.

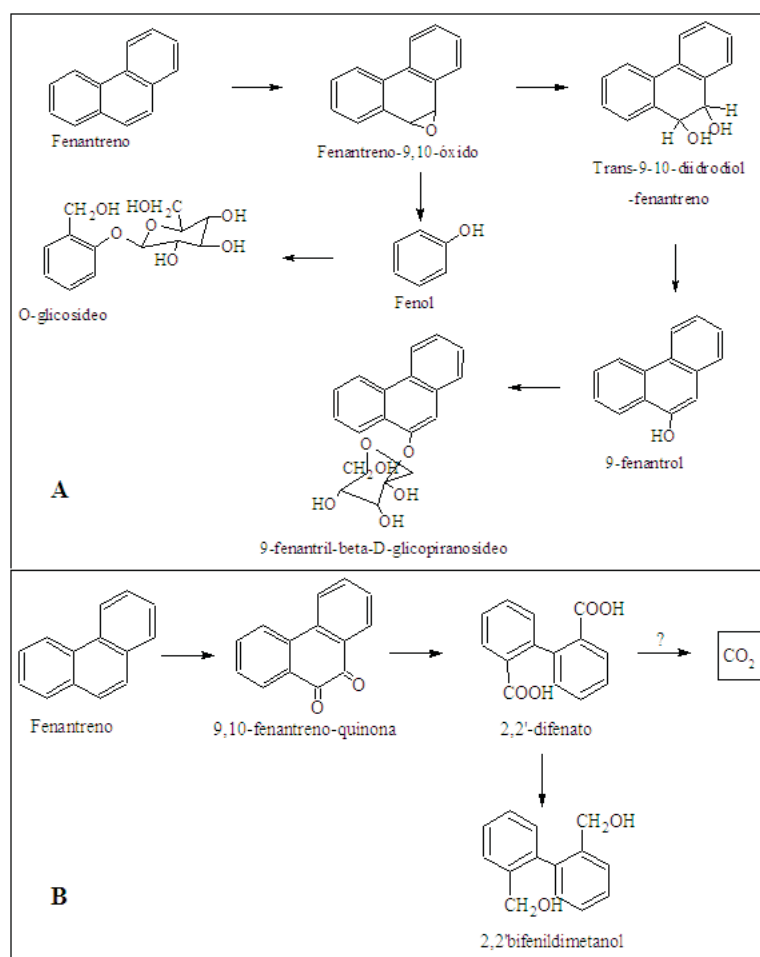


Figura 3: Degradação do fenantreno por fungos não-lignolíticos (A) e lignolíticos (B) (THE UNIVERSITY OF MINNESOTA, 2005).

Apesar do menor número de estudos, o metabolismo anaeróbico dos HAPs é pesquisado há bastante tempo (EVANS, 1977). Estes hidrocarbonetos também contaminam ambientes anaeróbicos, como os sedimentos e as águas subterrâneas, devido ao escoamento superficial de partículas de solos contaminadas, aos derrames de petróleo e a liberação indiscriminada de resíduos industriais no ambiente (BAMFORTH & SINGLETON, 2005). Na ausência do oxigênio, aceptores de elétrons alternativos são utilizados, havendo demonstrações da degradação dos HAPs em condições de desnitrificação e redução de sulfato (MECKENSTOCK et al., 2000; ROCKNE et al., 2000).

A baixa taxa de degradação de um poluente no ambiente pode ser resultado do reduzido ou do inexistente número de microrganismos com habilidade de degradação do composto. Isto é particularmente importante quando este ambiente recebe os HAPs pela primeira vez e não há populações microbianas capazes de degradar eficientemente este composto. Nestes casos, a inoculação do local contaminado com microrganismos de alto potencial de degradação dos contaminantes é uma prática recomendada (BENTO et al., 2005a). A inoculação de culturas puras das bactérias degradadoras de HAPs dos gêneros *Sphingomonas* e *Gordonia* resultaram em incrementos de seis e de dez vezes na degradação, respectivamente, do pireno e do antraceno no solo, o que possibilitou a remediação em um tempo sete vezes menor, quando comparado ao controle não inoculado (KÄSTNER et al., 1998).

Nos últimos anos atenção tem sido dada a utilização de consórcios microbianos que podem apresentar complementaridade metabólica e aumentar as taxas de mineralização dos HAPs, se comparado as culturas puras. Um estudo foi conduzido por BOONCHAN et al. (2000) visando avaliar a degradação e a mineralização de HAPs pela bactéria *Stenotrophomonas maltophilia*, pelo fungo *Penicillium janthinellum* e pelo consórcio resultante da inoculação conjunta destes dois microrganismos. Em presença de benzo(a)pireno, nenhum dos microrganismos cresceu isoladamente, porém na forma de consórcio houve crescimento de ambos e degradação de 59% do HAP no meio de cultura mineral. A mineralização do benzo(a)pireno foi nula quando culturas puras da bactéria ou do fungo estavam presentes. Quando foram inoculados conjuntamente, a mineralização do HAP foi de 25%. A inoculação de um consórcio microbiano composto por seis bactérias e um fungo no solo contaminado com antraceno, fenantreno e pireno, aumentou a produção de CO₂, em aproximadamente, 10 vezes em relação a microbiota autóctona do solo (JACQUES et al., 2005a).

Fatores ambientais que influenciam a biodegradação dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

Os HAPs são contaminantes do ambiente com potencial para serem biodegradados; no entanto, a eficiência deste processo pode ser reduzida se as condições químicas e físicas não forem favoráveis a sobrevivência e a atividade dos microrganismos degradadores.

A adequada disponibilidade de água é considerada por HAIDER (1999) o fator ambiental mais crítico, pois segundo o autor uma alta atividade de biodegradação somente ocorrerá se houver adequada disponibilidade de água aos microrganismos. Segundo ATAGANA et al. (2003), as ótimas condições para a atividade da população degradadora de hidrocarbonetos ocorrem quando o conteúdo de água do solo é mantido entre 60 e 70% da capacidade de campo. Recentemente foi verificado que quanto maior a umidade gravimétrica maior foi a mineralização do antraceno no solo, havendo uma relação linear positiva (R^2 de 0,85 com significância de 1% de probabilidade) entre a porcentagem de mineralização e as umidades gravimétricas avaliadas (JACQUES, 2005a).

A temperatura altera a atividade metabólica, o consumo de substrato pelos microrganismos e, por conseqüência, a biodegradação dos HAPs. Apesar da biodegradação ocorrer numa ampla faixa de temperatura, as maiores taxas ocorrem entre 25 e 35°C, sendo que em temperaturas acima ou abaixo destas há grandes prejuízos para este processo (HAIDER, 1999). Os dados obtidos por BOSSERT e BARTHA (1986) demonstram que a máxima taxa de biodegradação ocorre entre 20 e 30°C, é reduzida pela metade a 13°C, torna-se irrelevante abaixo de 5°C e decresce a partir dos 40°C.

O pH atua diretamente na atividade dos microrganismos através dos efeitos dos íons H^+ na permeabilidade celular e na atividade enzimática, assim como indiretamente, pela influência na disponibilidade de macro e micronutrientes, e na solubilidade dos metais pesados, que podem ser tóxicos aos microrganismos. WONG et al. (2002) verificaram que no pH 5,5 o fenantreno presente no meio de cultura mineral foi degradado em 40% pela *Burkholderia cocovenenans*, enquanto que no pH 7,0, 90% deste HAP foi degradado por esta bactéria. Recentemente nós observamos que a mineralização do antraceno no solo por um consórcio microbiano foi completamente inibida no pH natural (4,5), mesmo com a adição de nitrogênio, fósforo, potássio, enxofre e micronutrientes, sendo que as maiores mineralizações foram observadas nos pH 7,0 e 7,5 (dados ainda não publicados).

A presença de HAPs no ambiente com potencial de serem utilizados como substrato para o crescimento dos microrganismos pode fazer com que outros nutrientes que não o carbono se tornem limitantes

(ATAGANA et al., 2003). Adições de nitrogênio e fósforo têm sido principalmente recomendadas visando atingir uma relação C:N:P de 100:10:1 (CHENG & MULLA, 1999). No entanto, as pesquisas que avaliaram os efeitos do nitrogênio e fósforo demonstraram resultados muito conflitantes, indicando que esta relação pode não ser a mais adequada. LEYS et al. (2005) verificaram que relações C:N:P de 100:2:1 até 120:12010:1202 não influenciaram a degradação do fluoreno em meio de cultura mineral pela bactéria *Sphingomonas* sp. LB126. Recentemente, foi observado que amplas relações C:P (1076:1 a 50:1) e C:N:P (1076:16:1 a 50:1,3:1) não influenciaram a mineralização do antraceno no solo, porém a redução da relação C:N para valores inferiores a 67:1 diminuíram a mineralização deste HAP (JACQUES, 2005a), indicando a ocorrência de um efeito tóxico do nitrogênio sobre os microrganismos degradadores. Este efeito também foi observado por outros autores, mas ainda não foi completamente entendido, no que diz respeito a teores e formas químicas tóxicas do nitrogênio (CARMICHAEL & PFAENDER, 1997; JOHNSON & SCOW, 1999; ATAGANA et al., 2003, BENTO et al., 2003).

Em vista da baixa solubilidade em água (FIGURA 1A) e forte tendência de sorção as partículas minerais e orgânicas, a degradação dos HAPs pode ser limitada devido a baixa biodisponibilidade destes compostos, uma vez que bactérias e fungos somente absorvem nutrientes que estejam em solução (JOHNSEN et al., 2005). Os microrganismos têm busca de superar esta limitação utilizando-se de mecanismos como a produção de biossurfactantes (BENTO et al., 2005b). Os surfactantes são compostos químicos que apresentam uma porção hidrofílica e uma porção hidrofóbica, fazendo com que se posicionem preferencialmente nas interfaces entre fases fluidas com diferentes graus de polaridade (como nas interfaces óleo/água ou ar/água). Uma das propriedades destas moléculas é a redução da energia interfacial (tensão interfacial) e da tensão superficial devido a formação de uma camada molecular ordenada na interface. Além disso, promovem a formação de microemulsões, onde os HAPs são incorporados no centro hidrofóbico das micelas e, desta forma, podem penetrar numa solução aquosa (DESAI & BANAT, 1997).

Os surfactantes utilizados na biorremediação podem ser produzidos industrialmente, a partir de derivados do petróleo, ou serem sintetizados biologicamente por microrganismos. A utilização de surfactantes biológicos (biossurfactantes) apresenta vantagens em relação aos industriais, como a menor toxicidade aos microrganismos degradadores, menor recalcitrância no ambiente, maior diversidade de estruturas químicas, atuação em uma gama maior de condições, dentre outros fatores (CHRISTOFI & IVSHINA, 2002).

Os biossurfactantes são sintetizados nas células microbianas e liberados para o meio; sua porção hidrofílica pode ser constituída de aminoácidos, peptídeos e sacarídeos e a porção hidrofóbica é normalmente formada por ácidos graxos saturados ou insaturados. ZHANG et al. (1997) adicionaram um biossurfactante ramnolipídeo produzido por *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 ao meio de cultura mineral e verificaram que a solubilidade do fenantreno aumentou de 0,7 mg L⁻¹ para 35 mg L⁻¹, o que resultou em um aumento significativo da biodegradação deste HAP. JAIN et al. (1992) obtiveram aumentos da biodegradação do tetradecano, pristano e hexadecano no solo, com a adição de um biossurfactante produzido por uma bactéria do gênero *Pseudomonas*. KOSARIC (2001) observou reduções de 90, 85 e 74% nas concentrações de antraceno, fenantreno e pireno, respectivamente, após a adição ao solo de um biossurfactante. Estes relatos são exemplos das potencialidades da utilização de biossurfactantes visando aumentar a biodisponibilidade e, conseqüentemente, a degradação dos HAPs no ambiente.

Conclusões

A crescente dependência da sociedade pelos produtos do petróleo indica que a contaminação ambiental por HAPs tenderá a se manter ou aumentar nos próximos anos. Em vista da sua estabilidade química, da baixa solubilidade em água e forte tendência de sorção às partículas minerais e orgânicas, os HAPs apresentam um comportamento ambiental que resulta na sua resistência ao ataque microbiano e na conseqüente contaminação dos ecossistemas. Agrava-se esta situação se considerarmos que estes compostos são comprovadamente mutagênicos e carcinogênicos ao homem e aos animais. Devido a sua persistência no ambiente e periculosidade, recomenda-se que os órgãos ambientais brasileiros estipulem limites de concentração dos HAPs no solo e na água, como já acontece nos Estados Unidos, na Europa e em São Paulo, que, até o momento é o único Estado brasileiro que tem legislação sobre os HAPs em vigor. A partir destes limites, as áreas contaminadas devem obrigatoriamente ser remediadas, o que demandará o desenvolvimento de tecnologias eficientes visando a remoção destes contaminantes. A utilização de microrganismos degradadores é uma alternativa que já vem sendo utilizada em outros países e tem grandes chances de se desenvolver no Brasil. As pesquisas nacionais e internacionais já possibilitaram o isolamento e a identificação destes microrganismos, assim como o conhecimento das vias bioquímicas, que confirmam a capacidade de transformação destes perigosos compostos em CO₂ e água. Algumas condições ambientais físicas e químicas que influenciam na biodegradação dos HAPs também já foram pesquisadas, havendo informações que podem orientar o monitoramento e o manejo do ambiente visando otimizar as taxas de biodegradação. Com as pesquisas desenvolvidas até o momento, pode-se inferir que a biodegradação tem grandes possibilidades de desenvolvimento no Brasil, tornando-se uma alternativa eficiente para a remoção dos contaminantes do ambiente.

Bibliografia citada

- ATAGANA, H.I. et al. Optimization of soil physical and chemical conditions for the bioremediation of creosote-contaminated soil. **Biodegradation**, Dordrecht, v.14, n.4, p.297-307, 2003.
- BAMFORTH, S.; SINGLETON, I. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, Sussex, v.80, n. 7, p. 723-736, 2005.
- BAZALEL, L. et al. Mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, n.1, p.292-295, 1996.
- BENTO, F. M. et al. Bioremediation approaches for soil contaminated with diesel oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 34, supl.1, p. 65-68, 2003.
- BENTO, F. M. et al. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. **Bioresource Technology**, Oxon, v. 96, n 9, p. 1049-1055, 2005a.
- BENTO, F. M., et al. Diversity of hydrocarbon-degrading bacteria in soil contaminated with diesel oil. **Microbiological Research**, Jena, v. 160, n. 3, p. 249-255, 2005b.
- BOONCHAN, S. et al. Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.66, n.3, p.1007-1019, 2000.
- BOSSERT, J.D.; BARTHA, R. **Biodegradability relationships of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil**. New York: Springer Verlag, 1986. 495 p.
- BUMPUS, J.A. et al. Oxidation of persistent environmental pollutants by a white-rot fungus. **Science**, Washington, v.228, n.4706, p.1434-1436, 1985.
- CARMICHAEL, L.M.; PFAENDER, F.K. The effect of inorganic and organic supplements on the microbial degradation of phenanthrene and pyrene in soils. **Biodegradation**, Dordrecht, v.8, n.1, p.1-13, 1997.
- CERNIGLIA, C. E. Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: past, present and future applications in bioremediation. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Hampshire, v.19, n. 5-6, p.324-333, 1997.

CETESB. **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. Capturado em 20 jul. 2005. Online. Disponível na Internet http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas_contaminadas/relacao_areas.asp.

CHAKRADEO, P.P. et al. Effect of benzo(a)pireno and methyl(acetoxymethyl)nitrosamine on thymidine uptake and induction of aryl hydrocarbon hydroxylase activity in human fetal esophageal cells in culture. **Cellular Biology International**, Amsterdam, v.17, n.7, p.671-676, 1993.

CHENG, H.H.; MULLA, D.J. The soil environment. In: ADRIANO, D.C. et al. (Ed.) **Bioremediation of contaminated soils**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, 1999. p.1-13.

CHRISTOFI, N.; IVSHINA, I.B. Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation. **Journal of Applied Microbiology**, Bradford, v.93, n.6, p.915-929, 2002.

CLEMENTE A.R. et al. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by soil fungi. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.32, n.4, p.255-261, 2001.

DESAI, J.D.; BANAT, I.M. Microbial production of surfactants and their commercial potential. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v.61, n.1, p.47-64, 1997.

EVANS, W.C. Biochemistry of the bacterial catabolism of aromatic compounds in anaerobic environments. **Nature**, v. 270, n. , p. 17-22, 1977.

HAIDER, K. Microbe-soil-organic contaminant interactions. In: ADRIANO, D.C. et al. (Ed.) **Bioremediation of contaminated soils**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, 1999. p.33-51.

JACQUES, R.J.S. **Biorremediação de antraceno, fenantreno e pireno em um argissolo**. 2005a. 170f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

JACQUES, R.J.S. et al. Anthracene biodegradation by *Pseudomonas* sp isolated from a petrochemical sludge landfarming. **International Biodeterioration and Biodegradation**, London, v.56, n.3, p.150-156, 2005b.

JAIN, D.K. et al. Effect of addition of *Pseudomonas aeruginosa* UG2 inocula or biosurfactants on biodegradation of selected hydrocarbons in soil. **Journal of Industrial Microbiology**, London, v.10, n.2, p.87-93, 1992.

JOHNSEN, A. R. et al. Principles of microbial PAH-degradation in soil. **Environmental Pollution**, Oxford, v.133, n.1, p.71-84, 2005.

JOHNSEN, A.R.; KARLSON, U. Evaluation of bacterial strategies to promote the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v.63, n.3, p.452-459, 2004.

JOHNSON, C.R.; SCOW, K.M. Effect of nitrogen and phosphorus addition on phenanthrene biodegradation in four soils. **Biodegradation**, Dordrecht, v.10, n.1, p.43-50, 1999.

KÄSTNER, M. et al. Impact of inoculation protocols, salinity, and pH on the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and survival of PAH-degrading bacteria introduced into soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.64, n.1, p.359-362, 1998.

KOSARIC, N. Biosurfactants for soil bioremediation. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v.39, n.4, p.295-304, 2001.

LEYS, N.M. et al. Influence of the carbon/nitrogen/phosphorus ratio on polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by *Mycobacterium* and *Sphingomonas* in soil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v.66, n.6, p.726-736, 2005.

LIMA, C.B.S. et al. Efluentes: a qualidade da água comprometida. In: MENEGAT, R. et al. (Ed.) **Atlas ambiental de Porto Alegre**. Porto Alegre: Universidade/UFRGS, 1998. p.157-158.

MECKENSTOCH, R.U. et al. Anaerobic naphthalene degradation by a sulphate reducing enrichment culture. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.66, n.7, p.2743-2747, 2000.

MISHRA, V. et al. Enzymes and operons mediating xenobiotic degradation in bacteria. **Critical Reviews in Microbiology**, Boca Raton, v.27, n.2, p.133-166, 2001.

MUTNURI, S. et al. Degradation of anthracene and pyrene supplied by microcrystals and non-aqueous-phase liquids. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v.67, n.4, p.569-576, 2005.

NETTO A.D.P. et al. Evaluation of human contamination with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) and their nitrated derivatives (NHPAS): a review of methodology. **Química Nova**, São Paulo, v.23, n.6, p.765-773, 2000.

POTIN, O. et al. Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil. **International Biodeterioration and Biodegradation**, Oxford, v.54, n.1, p.45-52, 2004.

PRINCE, R.C.; DRAKE, E.N. Transformation and fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. In: ADRIANO, D.C. et al. (Ed.) **Bioremediation of contaminated soils**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, 1999. p.89-110.

ROCKNE, K.J. et al. Anaerobic naphthalene degradation by microbial pure cultures under nitrate reducing conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.66, n.4, p.1595-1601, 2000.

STEFFEN, K.T. et al. Removal and mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by litter-decomposing basidiomycetous fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v.60, n., p.212-217, 2002.

THE UNIVERSITY OF MINNESOTA, Minnesota, 2005. **Biocatalysis/ Biodegradation Database**: Microbial biocatalytic reactions and biodegradation pathways primarily for xenobiotic, chemical compounds. Capturado em 25 mai. 2005. Online. Disponível na Internet http://umbbd.ahc.umn.edu/pha2/pha2_image_map.html.

USEPA (United States Environmental Protection Agency), Washington, 2002. **Persistent Bioaccumulative and Toxic (PBT) Chemical Program**. Capturado em 30 nov. 2005. Online. Disponível na Internet <http://www.epa.gov/opptintr/pbt/pubs/benzo.htm>.

VERSCHUEREN, K. **Handbook of environmental data of organic chemicals**. 4th ed. Chichester, England: Wiley, 2001. 2416p.

WHITE, K.L. An overview of immunotoxicology and carcinogenic polycyclic aromatic-hydrocarbons in the environmental. **Journal of Environmental Science and Health**, New York, v.4, n.2, p.163-202, 1986.

WONG, J.W.C. et al. Isolation and optimization of PAH-degradative bacteria from contaminated soil for PAHs bioremediation. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v.139, n.1-4, p.1-13, 2002.

ZHANG, Y. M. et al. Effect of rhamnolipids on the dissolution, bioavailability, and biodegradation of phenanthrene. **Environmental Science and Technology**, Washington, v.31, n.8, p.2211-2217, 1997.