

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Lucas Tetsuya Watanabe

**BIORREMEDIAÇÃO POR BACTÉRIAS EM AMBIENTES CONTAMINADOS POR
PETRÓLEO E SEUS DERIVADOS**

São Paulo
2019

Lucas Tetsuya Watanabe

**BIORREMEDIAÇÃO POR BACTÉRIAS EM AMBIENTES CONTAMINADOS
POR PETRÓLEO E SEUS DERIVADOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pela Profa. Dra. Ilka Schincariol Vercellino, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

São Paulo

2019

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Padre Inocente Radrizzani

Watanabe, Lucas Tetsuya

Biorremediação por bactérias em ambientes contaminados por petróleo e seus derivados / Lucas Tetsuya Watanabe. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2019.

42 p.

Orientação de Ilka Schincariol Vercellino.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2019.

1. Bactéria 2. Biodegradação ambiental 3. Petróleo I. Vercellino, Ilka Schincariol II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 616.014

Lucas Tetsuya Watanabe

**BIORREMEDIAÇÃO POR BACTÉRIAS EM AMBIENTES
CONTAMINADOS POR PETRÓLEO E SEUS DERIVADOS**

São Paulo, 04 de novembro de 2019.

Professor Orientador (Ilka Schincariol Vercellino)

Professor Examinador (Marjorie Mendes Marini)

**São Paulo
2019**

RESUMO

O petróleo é um composto orgânico formado principalmente por hidrocarbonetos, estes apresentam grande interesse na área da saúde e ambiental, pois são considerados compostos carcinogênicos, além disso, podem permanecer por milhões de anos até serem degradados. Para isso, algumas alternativas são utilizadas depois da contaminação por petróleo, que podem ser divididas em: físicas, químicas ou biológicas. A biorremediação é um tipo de método biológico que utiliza micro-organismos para promover a degradação e/ou a remoção de contaminantes no ambiente podendo ser realizada no próprio local contaminado, chamado de tratamento *in situ* ou o material contaminado pode ser transportado para outro local para o devido tratamento, denominado de *ex situ*. Com base no exposto, esse trabalho teve como objetivo descrever as principais técnicas de biorremediação, os processos e etapas, assim como suas variações nos diferentes tipos de tratamento, demonstrar a utilização de consórcios bacterianos e os avanços tecnológicos para melhoria da biorremediação. Para a realização da revisão bibliográfica, foi utilizado método de pesquisa qualitativo, em bibliotecas online e plataformas de busca como SciELO, PubMed e Google Acadêmico a partir do ano 2000. Por meio do levantamento bibliográfico, foi observado que existe um grupo de bactérias presente, na maioria das vezes, em locais contaminados com hidrocarbonetos, as bactérias hidrocarbonoclasticas obrigatórias. Essas bactérias apresentam genes relacionados com a degradação dos hidrocarbonetos e alguns produzem biossurfactantes, moléculas anfipáticas que auxiliam na biodegradação dos poluentes. Conclui-se que devido ao aumento das ocorrências envolvendo contaminações com petróleo e seus derivados, é de grande importância a realização de estudos envolvendo a biorremediação, pois têm-se mostrado eficiente na degradação dos poluentes.

Palavras-chave: Bactéria. Biodegradação Ambiental. Petróleo.

ABSTRACT

Petroleum is an organic compound composed mainly of hydrocarbons, which are of great interest in health and environment, as they are considered carcinogenic compounds, and can remain for millions of years until degraded. For this, some alternatives are used after oil contamination, which can be divided into: physical, chemical or biological. Bioremediation is a type of biological method that uses microorganisms to promote the degradation and / or removal of contaminants in the environment and may be performed at the contaminated site itself, called in situ treatment or the contaminated material may be transported to another location for proper contamination. treatment, called ex situ. Based on the above, this study aimed to describe the main bioremediation techniques, describing the processes and steps, as well as their variations in different types of treatment, demonstrating the use of bacterial consortia and technological advances to improve bioremediation. To perform the literature review, a qualitative research method was used in online libraries and search platforms such as SciELO, PubMed and Google Scholar from the year 2000. Through the bibliographic survey, it was observed that there is a group of bacteria present, most of the time, in places contaminated with hydrocarbons, such as obligatory hydrocarbons. These bacteria have genes related to the degradation of hydrocarbons and some produce biosurfactants, amphipathic molecules that help in the biodegradation of pollutants. It is concluded that due to the increase of occurrences involving contamination with petroleum and its derivatives, it is of great importance to carry out studies involving bioremediation, as they have been shown to be efficient in the degradation of pollutants.

Key0words: Bacteria. Biodegradation, Environmental. Petroleum.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química e nomenclatura dos 16 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HAPs).....	13
Figura 2 - Estrutura química e nomenclatura dos Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xilenos (BTEX).....	14
Figura 3 – Principais atividades poluidoras em 2007 no Estado de São Paulo.....	16
Figura 4- Queima do óleo no Golfo do México para evitar que a mancha se espalhe.	19
Figura 5 - Ação dos micro-organismos no processo de biorremediação.....	26
Figura 6- Degradação de hidrocarbonetos em condições aeróbias.....	30
Figura 7- Degradação de compostos aromáticos em condições aeróbias.....	31
Figura 8- Degradação de hidrocarbonetos em condições anaeróbias.....	31

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 OBJETIVOS.....	10
2.1 Objetivos gerais.....	10
2.2 Objetivos específicos.....	10
3 METODOLOGIA.....	11
4 DESENVOLVIMENTO	12
4.1 Petróleo.....	12
4.1.1 Características químicas.....	12
4.1.2 Histórico no mundo.....	14
4.1.3 Efeitos prejudiciais à saúde humana e ambiental.....	15
4.1.4 Acidentes com petróleo e seus derivados.....	18
4.1.5 Alternativas de tratamento pós contaminação.....	20
4.2 Biorremediação.....	21
4.2.1 Definição.....	21
4.2.2 Principais organismos utilizados.....	24
4.2.3 Bactérias utilizadas na biorremediação.....	25
5 INOVAÇÕES NA ÁREA.....	32
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	34
REFERÊNCIAS.....	35

1 INTRODUÇÃO

O processo de formação dos centros urbanos e a Revolução Industrial, no final do século XVIII ocasionaram um aumento na poluição ambiental que trouxe como consequência a necessidade da conscientização em relação ao descarte indiscriminado de poluentes nos solos, rios, lagos, oceanos e na atmosfera, bem como investimentos no desenvolvimento e implementação de tecnologias de remediação (RIZZO et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008).

Em particular, a poluição causada pelo petróleo e seus derivados têm se tornado um grande problema para o meio ambiente. Por exemplo, quando ocorre um derramamento de gasolina, a principal preocupação é a contaminação de águas subterrâneas, os aquíferos, que podem ser utilizados como fontes de abastecimento de água para o consumo humano. Diante disso, diversas técnicas alternativas: físicas, químicas e biológicas, vêm sendo desenvolvidas para remoção ou degradação dos compostos poluentes (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010).

A biorremediação é a utilização de agentes biológicos capazes de modificar ou decompor poluentes com o objetivo de tratar ambientes contaminados. É um processo que, na maioria das vezes, utiliza o metabolismo das bactérias com o objetivo de aumentar a velocidade da transformação, degradação ou remoção dos poluentes como, por exemplo, compostos tóxicos do petróleo, em substâncias menos tóxicas. São utilizados micro-organismos capazes de utilizar hidrocarbonetos como fonte de carbono e energia, que levam a mineralização do poluente, isto é, a transformação em gás carbônico, água e biomassa (LIMA, 2010).

Para degradação, normalmente, são utilizados organismos vivos que podem ser: bactérias, fungos ou plantas, e sua eficiência depende em muitos casos, da estrutura da molécula e da presença de enzimas capazes de degradar o produto, as quais apresentam especificidade para a maioria dos substratos (PEREIRA; FREITAS, 2012).

A biorremediação inclui a utilização de micro-organismos autóctones, ou seja, do próprio local e sem qualquer interferência de tecnologias ativas de remediação, chamado de biorremediação intrínseca ou natural; adição de agentes estimulantes como nutrientes, oxigênio e biossurfactantes, conhecido como bioestimulação; e a

inoculação de consórcios microbianos enriquecidos, chamado de bioaumento (MARIANO, 2006).

Devido à complexidade dos processos metabólicos necessários para a degradação de compostos poluentes, houve a formação de consórcios bacterianos que tem como objetivo juntar diferentes gêneros e espécies, cada uma especializada em degradar substâncias diferentes. Os principais gêneros utilizados são *Acidovorans*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Alcanivorax*, *Aeromonas*, *Arthrobacter*, *Beijemickia*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Comomonas*, *Cycloclasticus*, *Flavobacterium*, *Goordona*, *Moraxella*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Neptunomonas*, *Nocardia*, *Pasteurella*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Sphingomonas*, *Stenotrophomonas* e *Vibrio* (FERNANDES; RODRIGUES; MURTEIRA, 2013).

O processo de tratamento pode ser realizado no próprio local contaminado que é economicamente mais viável, chamado de biorremediação *in situ*. Além disso, o material contaminado pode ser transportado para outro local para posterior tratamento, chamado de biorremediação *ex situ* (MENEGETTI, 2007).

O petróleo é composto quimicamente por hidrocarbonetos aromáticos que são moléculas formados por cadeias de carbono e hidrogênio, esses merecem cuidado especial por serem considerado substâncias tóxicas (MARQUES, 2008).

Entre os hidrocarbonetos aromáticos estão incluídos a classe dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) e o Benzeno, Tolueno, Etil-benzeno e Xilenos (BTEX). Além da cadeia de carbono e hidrogênio, também é comum ser encontrado nitrogênio, enxofre e oxigênio (MARQUES, 2008).

A poluição do meio ambiente por petróleo vem ganhando força devido à grande quantidade de áreas afetadas por este composto e seus derivados que aumentam ano após ano. Em maio de 2002, a CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo) divulgou uma lista, registrando a existência de 255 áreas contaminadas no Estado de São Paulo. Porém, na última atualização que ocorreu em dezembro de 2017, os números mostram um aumento para 5.942 registros no Cadastro de Áreas Contaminadas e Reabilitadas no Estado de São Paulo. Entre essas áreas contaminadas, 72% estão relacionadas aos postos de combustíveis (CETESB, 2017). Considerando toda a problemática envolvendo as áreas contaminadas por petróleo e

a necessidade do desenvolvimento de novas tecnologias para o tratamento deste contaminante, o presente trabalho reúne informações sobre técnicas e microorganismos, com ênfase nas bactérias que vem sendo utilizados para a remediação de ambientes contaminados por petróleo.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Analisar e discutir informações sobre a biorremediação de ambientes contaminados por petróleo, com ênfase nos compostos a serem degradados e nas bactérias envolvidas no processo.

2.2 Objetivos específicos

- Abordar as principais técnicas de biorremediação;
- Descrever os processos e etapas da biorremediação;
- Demonstrar a utilização de consórcios bacterianos;
- Comparar as diferentes técnicas de biorremediação;
- Avanços tecnológicos para melhoria da biorremediação.

3 METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão bibliográfica narrativa com foco no método de pesquisa qualitativo, em bibliotecas online e plataformas de busca como SciELO, PubMed e Google Acadêmico a partir do ano 2000, nos idiomas inglês e português, com as palavras-chave: “Biorremediação”, “Petróleo”, “Biodegradação Ambiental”. Além disso, foram utilizados livros do acervo da biblioteca do Centro Universitário São Camilo e consulta ao site da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB).

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 Petróleo

A palavra petróleo é originada do latim *petra* (pedra) e *oleum* (óleo), quando está no estado líquido é uma substância oleosa, inflamável, menos densa que a água, apresenta um cheiro característico e cor variando entre negro e castanho-claro (THOMAS, 2001).

A formação do petróleo acontece geralmente em bacias sedimentares, onde existe o acúmulo de matéria orgânica sob condições específicas de pressão e isolamento em camadas, sofrendo transformações por milhares de anos (MILANI et al., 2000).

O petróleo em seu estado bruto apresenta poucas aplicações, para que tenha a sua máxima utilização é necessário passar por uma série de processos, para que origine os seus derivados (MARIANO, 2001).

4.1.1 Características químicas

É um composto orgânico, formado por grande parte de hidrocarbonetos e também pequenas quantidades de compostos de enxofre, oxigênio e nitrogênio, fazendo com que seja considerado um composto bastante complexo (INCKOT et al., 2008; OLIVEIRA, 2013).

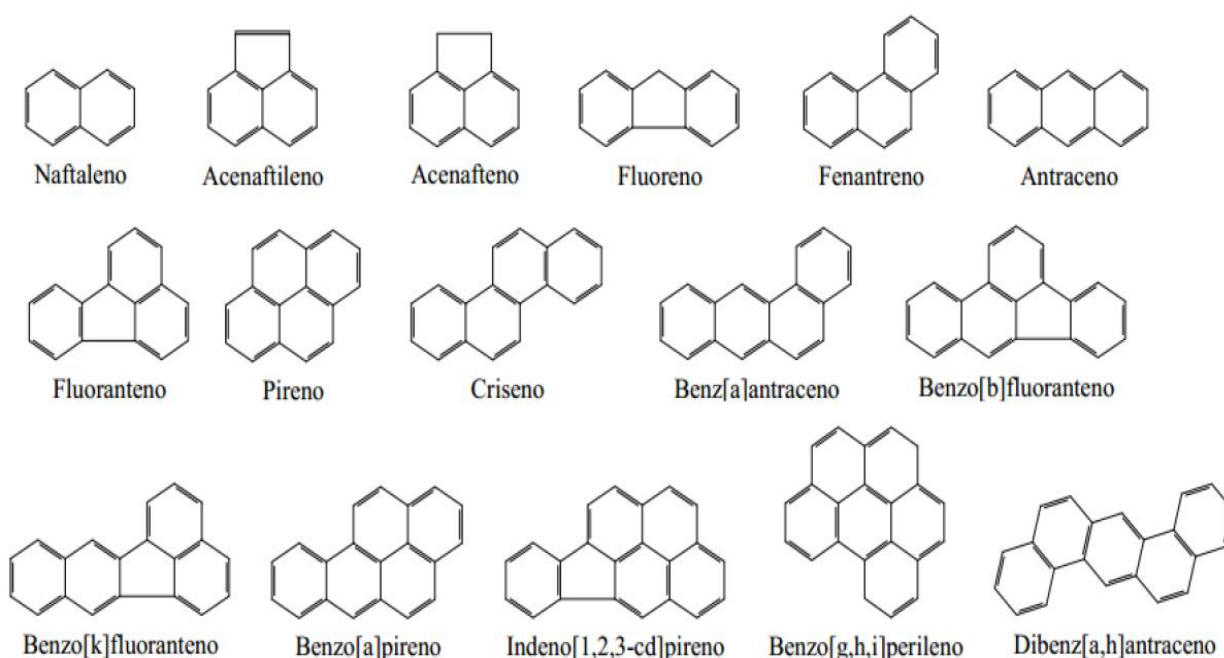
Os hidrocarbonetos de petróleo podem ser agrupados em: aromáticos, hidrocarbonetos de cadeia benzênica presentes na maioria dos tipos de petróleo e apresentam elevada toxicidade e lenta degradação; alcanos são hidrocarbonetos de cadeias simples e ramificada, geralmente sua toxicidade é baixa e são facilmente degradados; alcenos são hidrocarbonetos de cadeia aberta e dupla ligação, encontrados em pequenas quantidades no petróleo bruto, porém são abundantes em seus derivados como por exemplo, a gasolina; cicloalcanos, presente na maioria dos petróleos, apresentam hidrocarbonetos de cadeias fechadas e saturadas (KOLESNIKOVAS; OLIVEIRA; DUARTE, 2009).

O petróleo é composto por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs), uma classe de compostos químicos orgânicos, apolares e de natureza hidrofóbica constituídos de carbono e hidrogênio arrançados na forma de dois ou mais anéis

aromáticos. Atualmente há mais de 100 HAPs reconhecidos pela *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), porém a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) considera somente 16 HAPs importantes para o monitoramento ambiental de poluentes orgânicos persistentes (Figura 1) (ANJOS, 2012; JACQUES et al., 2007; RODRIGUES, 2014).

Além do petróleo bruto essa classe também está presente no carvão e gasolina, podendo ser originada pela queima incompleta ou pirólise de matéria orgânica e em vários processos industriais (CETESB, 2018).

Figura 1 - Estrutura química e nomenclatura dos 16 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HAPs).



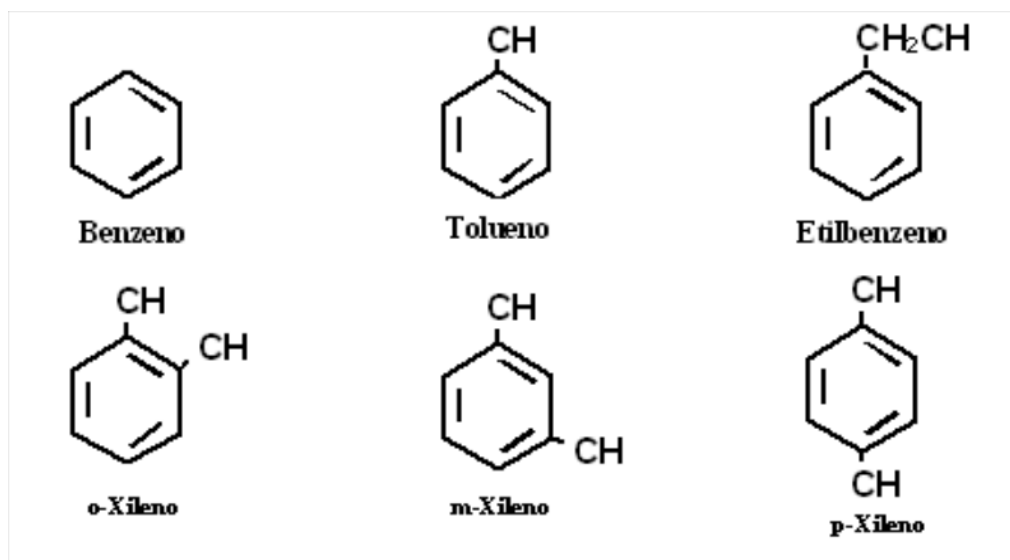
Fonte: ANJOS, 2012.

Os HAPs são considerados de grande importância pois são capazes de reagir com o DNA, diretamente ou após sofrerem transformações metabólicas, podendo ser convertidos em compostos potencialmente carcinogênicos e/ou mutagênicos (ANJOS, 2012).

A gasolina é composta por uma mistura de hidrocarbonetos aromáticos como benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos, esse grupo de substâncias são chamados de BTEX. Os BTEX (Figura 2) são hidrocarbonetos monoaromáticos voláteis, possuem estrutura cíclica constituídos por 6 átomos carbono alternados por ligações simples e

duplas. Podem ser transportados pelo solo, água ou ar, essa alta mobilidade acontece devido a sua elevada volatilidade e solubilidade (ANJOS, 2012; SANTOS, 2015; KOLESNIKOVAS; OLIVEIRA; DUARTE, 2009).

Figura 2 – Estrutura química e nomenclatura dos Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xilenos (BTEX).



Fonte: VIEIRA, 2004.

4.1.2 Histórico no mundo

Na década de 1850 nos Estados Unidos, existia um grande interesse por fontes de petróleo para utilização de seus derivados, como por exemplo, o querosene para fonte de iluminação. Com isso, investidores contrataram Benjamin Silliman que demonstrou em seu relatório que o petróleo ao ser aquecido, a níveis cada vez mais elevados de temperatura, originava o querosene e diversos produtos. A partir disso, os investidores juntamente com a empresa *Pensylvania Rock Oil Company*, investiram com o propósito de empreender na área de exploração do petróleo (MORAIS, 2013).

O primeiro local escolhido para a exploração foi no estado da Pensilvânia, lugar onde já existia a extração de petróleo por exsudações na superfície, esse petróleo era utilizado na indústria farmacêutica. Neste mesmo local, o coronel Edwin Drake encontrou a primeira jazida de petróleo à profundidade de 21 metros, utilizando o sistema de percussão movido à vapor (MORAIS, 2013; CETESB, 2011; THOMAS, 2001).

Após a descoberta da primeira jazida, diversos reservatórios de petróleo foram encontrados, porém a produção de querosene em grande escala aconteceu em 1860. Um ano depois, com a grande extração de petróleo houve uma grande produção de querosene, onde o excedente começou a ser exportado para a Europa. (MORAIS, 2013).

Em 1870, Thomas Edison desenvolveu e aprimorou o conhecimento sobre a energia elétrica superando qualquer outra fonte de iluminação, reduzindo o interesse comercial pelo petróleo. Porém, o interesse comercial pelo petróleo ressurgiu no século XX após a invenção dos motores a gasolina e diesel (ORTIZ NETO; COSTA, 2007).

Em 1900 no Texas, o americano Anthony Lucas, encontrou petróleo a uma profundidade de 354 metros utilizando perfuração rotativo, que nos anos seguintes se desenvolveu substituindo a perfuração pelo método de percussão (THOMAS, 2001).

A descoberta do primeiro poço disponível para extração de petróleo no Brasil aconteceu somente em 1939, especificamente no Recôncavo Baiano (CETESB, 2013).

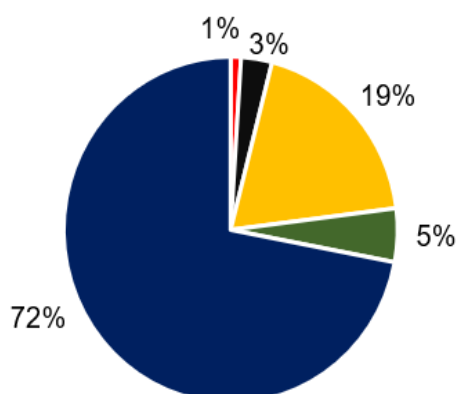
No ano de 1950, os Estados Unidos eram responsáveis pela metade da produção mundial de petróleo, porém o hemisfério oriental já estava começando a se destacar como novo polo produtor (THOMAS, 2001).

Em 1996 foi descoberto, na Bacia de Campos localizado no Rio de Janeiro, uma reserva de petróleo com equivalente a 2,6 bilhões de barris. Devido a sua grande área de extensão, a quantidade de reserva de petróleo e gás, essa região foi dividida em três módulos. O primeiro módulo chamado de plataforma P-36 começou a sua produção em maio de 2000, tinha capacidade de produzir 180.000 barris de petróleo e comprimir 7,2 milhões de metros cúbicos de gás natural por dia (ANP, 2001).

4.1.3 Efeitos prejudiciais à saúde humana e ambiental.

De acordo com a CETESB (2017), existem 5.942 registros no Cadastro de Áreas Contaminadas e Reabilitadas no Estado de São Paulo, entre essas áreas contaminadas, 72% estão relacionadas aos postos de combustíveis (Figura 3).

Figura 3 – Principais atividades poluidoras em 2007 no Estado de São Paulo.



- Acidentes/Agricultura/Fonte desconhecida (51)
- Resíduos (193)
- Indústria (1.109)
- Comercial (304)
- Posto de combustível (4.284)

Fonte: Adaptado de CETESB, 2017.

Em casos de derramamento ou vazamento de petróleo ou seus derivados, os hidrocarbonetos apresentam grande interesse na área da saúde, devido ao seu elevado potencial tóxico e mobilidade no ambiente (ANJOS, 2012).

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos entram em contato com o solo e por ação da gravidade, podem chegar até os lençóis freáticos dependendo das características do meio e do contaminante (ANJOS, 2012; CARMINITTI, 2008).

Quando os hidrocarbonetos entram em contato com os lençóis freáticos, esses hidrocarbonetos são menos densos que a água, formam uma massa e os compostos vão se dissolvendo lentamente, podendo contaminar todo o volume de água presente (FENSTERSEIFER, 2010).

Essas substâncias apresentam grande interesse ambiental e toxicológico, pois são considerados compostos pré-carcinogênicos e/ou mutagênicos, podendo provocar tumorações em animais e mutações em bactérias. O mecanismo de carcinogênese tem relação com a estrutura molecular do HPAs (CARUSO; ALABURDA, 2008; SISINNO et al., 2003).

Após a emissão dos HAP's no ambiente, podem permanecer por milhões de anos até serem biodegradados, dependendo de sua característica físico-química ou compartimento ambiental, que pode ser ar, água ou solo (CRUZ; MARSAIOLI, 2012; SISINNO et al., 2003).

A ingestão humana acontece por diferentes vias, como inalação, ingestão ou absorção pela pele, pois os hidrocarbonetos são altamente permeáveis. Porém, a presença desses compostos não pode dar informações sobre a carcinogenicidade em indivíduos expostos, pois essas substâncias precisam ser ativadas metabolicamente. Isso acontece no processo de eliminação, para formação de metabólitos mais hidrossolúveis que seu precursor, para facilitar a sua excreção por meio de fluidos biológicos (CARUSO; ALABURDA, 2008; SISINNO et al., 2003).

O processo de biotransformação ocorre no fígado, por enzimas da família dos citocromos P450, na qual acontece a formação de epóxidos e depois polihidroxilados que são compostos mais solúveis em água, podendo ser eliminados na urina. Porém, o intermediário pode reagir com o DNA, especificamente a guanina, formando adutos que são considerados muito importantes para o processo de carcinogênese (CARUSO; ALABURDA, 2008; MEIRE; AZEREDO; TORRES, 2007).

Os BTEX apresentam grande preocupação, pois podem causar depressão do sistema nervoso central e também apresentam toxicidade mesmo em pequenas concentrações (AMARAL et al., 2017; VIEIRA, 2004). Segundo Gamo, Oka e Nakanishi (2003) benzeno e tolueno estão entre as substâncias mais perigosas para a saúde humana, por serem consideradas substâncias carcinogênicas, ficaram consecutivamente em segunda e décima primeira posição no ranking com 12 poluentes.

O benzeno é considerado o composto mais tóxico da classe dos BTEX, pois é uma substância carcinogênica, podendo causar leucemia. É rapidamente absorvido nos pulmões e distribuído pelo corpo podendo ficar retido nos tecidos gordurosos. A exposição ao benzeno pode causar dano oxidativo ao DNA (quebras e formação de adutos) e as macromoléculas celulares, induzindo mutações e proliferação de células mutadas. Além disso, pode interferir no ciclo celular induzindo a apoptose de células precursoras do sistema hematopoiético e na sinalização celular, resultando em citotoxicidade (AMARAL et al., 2017; CETESB, 2016; OLIVEIRA et al., 2005).

No ambiente esses compostos aromáticos, em comparação com alifáticos, possuem uma maior mobilidade na água isso ocorre devido ao menor coeficiente de partição octanol-água (OLIVEIRA et al., 2005).

4.1.4 Acidentes com petróleo e seus derivados

No Brasil, o primeiro registro de acidente aconteceu em 1960, onde o navio Sinclair Petrolore, carregado com petróleo, explodiu e afundou no Espírito Santo com vazamento estimado em 66.530 m³. Já na década de 1970, foram registradas três ocorrências que aconteceram na Baía de Guanabara, Canal de São Sebastião e no litoral carioca, respectivamente (CETESB, 2013).

No ano 2000, houve o rompimento do oleoduto na Baía de Guanabara, causando o vazamento de 1.300 m³ de óleo combustível marítimo, essa situação foi a que teve uma grande repercussão nos meios de comunicação, pois houve a contaminação de praias, costões, manguezais e mortandade de animais (CETESB, 2013).

Em julho de 2000, na Refinaria Presidente Getúlio Vargas, localizada no município de Araucária no estado do Paraná, ocorreu o maior derramamento de petróleo já registrado no Brasil, foram 4 milhões de litros contaminando os 2,25 km de extensão do arroio e seus banhados próximos, chegando ao rio Barigui e ao rio Iguaçu. Nesse evento houve a contaminação do lençol freático na região antes de chegar ao rio Barigui e no ponto zero, onde houve o início da contaminação (ALBARELLO, 2008; ARTUR NETO et al., 2003).

Em 2001 ocorreu o acidente na plataforma P-36 situada na Bacia de Campos, ao norte do estado do Rio de Janeiro, foi classificado como um dos grandes desastres internacionais, onde trabalhavam cerca de 175 pessoas, sendo 85 tripulantes. Nessa tragédia, ocorreram duas explosões causando a perda total da unidade e matando onze funcionários da Petrobrás e a estimativa da quantidade que vazou de petróleo varia entre 350 mil e 1,5 milhão de litros (AYRES, 2001; FIGUEIREDO; ALVAREZ; ADAMS, 2018; ANP, 2001).

O controle do petróleo derramado da plataforma P-36 foi realizado com recolhimento de parte do óleo e dispersão química e mecânica do petróleo bruto, o

desastre ambiental só não foi maior, pois o fluxo dos poços ligados à plataforma foi desativado logo após a explosão (MEIRA; ANDRADE; SILVA, 2017).

No dia 20 de abril de 2010, a plataforma de exploração de petróleo *Deep Water Horizon*, situada no Golfo do México, foi acometida com uma explosão seguida de incêndio que durou por dois dias, causando um vazamento de aproximadamente 4,9 milhões de barris de petróleo. Foi realizado um processo de limpeza utilizando dispersantes, que auxiliam na biodegradação pelas bactérias, além disso, o óleo derramado foi contido em uma barreira, onde foi queimado ou sugado para evitar sua dispersão (Figura 4). Essa região é utilizada pelo atum rabilho para desova, com isso, após o derramamento esses peixes apresentaram problemas cardíacos devido a exposição ao HAPs (PALLARDY, 2019).

Figura 4- Queima do óleo no Golfo do México para evitar que a mancha se espalhe.



Fonte: PALLARDY, 2019.

O derramamento de petróleo no oceano prejudica todo o ecossistema, formando uma camada sobre a superfície onde, aproximadamente 30% evapora naturalmente e o restante forma uma camada impermeável sobre a superfície dificultando a fotossíntese realizada por organismos fotossintetizantes, matando organismos que formam a base da cadeia alimentar e consequentemente também afetam outras espécies de animais fazendo com que toda a cadeia alimentar seja alterada (VARELA; MILONE, 2019).

4.1.5 Alternativas de tratamento pós contaminação

Devido à grande incidência de contaminações ao longo dos anos houve a necessidade do desenvolvimento de técnicas de remediação *in situ* e *ex situ* para tratamento do solo, chorume, águas residuais e águas subterrâneas contaminadas por diversos poluentes (KHAN; HUSAIN; HEJAZI, 2004).

Após a contaminação com petróleo, algumas técnicas de remediação podem ser utilizadas para o tratamento e podem ser categorizadas em três métodos: físicos, químicos ou biológicos. A escolha por um dos métodos depende das características químicas, físicas e biológicas do local contaminado; concentração do contaminante e tempo necessário para degradação (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010).

O método de oxidação *in situ* é o processo de remediação química, onde são adicionados compostos químicos, como por exemplo: Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2), Permanganato de Potássio ($KMnO_4$) e Ozônio (O_3), com o objetivo de promover reações oxidativas que fazem com que os compostos contaminantes sejam degradados. Esse método, na maioria das vezes, é aplicada em águas subterrâneas e solos com alta concentração de contaminantes, podendo ser utilizado como um pré-tratamento para que outras técnicas sejam utilizadas *a posteriori*, como tratamento biológico, com melhor aproveitamento. (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010; TECNOHIDRO, 2019). Geralmente este método é utilizado quando existe uma grande concentração de poluentes no local.

A extração de vapores do solo é um método de tratamento físico que induz a produção de vácuo em partes específicas do solo, com isso, removendo o contaminante. O gás retirado desse local passa por etapas de tratamento de vapores, para poder ser eliminado no ambiente. Essa técnica depende da volatilização do contaminante, ausência de ar em ambientes com água e permeabilidade do solo (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010).

Já no tratamento por métodos biológicos podem ser citados exemplos como atenuação natural e a biorremediação, sendo que esta última será tratada com mais detalhes na sequência (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010).

O processo de atenuação natural, também chamada de intrínseca, onde objetivo é conter ou remover o contaminante disperso no ambiente, envolvendo

processos naturais, como: a diluição, volatilização, dispersão, adsorção e biodegradação, sendo que somente esta última pode diminuir a quantidade de contaminantes, pois utiliza a capacidade de degradação dos micro-organismos do próprio ambiente, sem a utilização de tecnologias remediadoras (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010; MARIANO, 2006).

A principal vantagem desse processo é que não existe a necessidade do aumento de nutrientes e nem qualquer alteração nas condições ambientais, pois ocorre a adaptação natural, ou seja, esses organismos passam a consumir os compostos orgânicos como fonte de carbono, conseqüentemente, diminuindo a quantidade do poluente. Além disso, é uma técnica de baixo custo, devido à baixa necessidade de intervenção (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010; MARIANO, 2006).

4.2 Biorremediação

4.2.1 Definição

É um processo biológico que está envolvida na degradação, remoção, alteração ou desintoxicação de vários produtos químicos e resíduos físicos do ambiente, por meio da ação de bactérias, fungos ou plantas. Esses organismos atuam como catalisadores e facilitam as reações bioquímicas que degradam esses compostos possivelmente poluentes (ABATENH et al., 2017).

Entretanto, para que esse processo seja eficiente são necessárias algumas condições como, temperatura, presença de oxigênio, nutrientes e pH. Esse processo biotecnológico tem sido recomendado como uma técnica viável para a descontaminação em águas superficiais, subterrâneas, solos, além de efluentes e resíduos industriais em aterro ou áreas de contenção (CORIOLANO; MORAIS FILHO, 2016).

O tipo de biorremediação pode ser: *in situ* quando o tratamento é realizado no próprio local contaminado ou *ex situ* quando o material contaminado é transportado para outro lugar para o processo de tratamento, deve ser avaliada de acordo com distribuição e concentração do contaminante no local, toxicidade e persistência dessa substância (TOMASSONI et al., 2014).

Entre as técnicas de biorremediação mais utilizadas tem-se:

A bioestimulação é uma técnica de biorremediação ativa, podendo ser realizada em condições aeróbias ou anaeróbias, é usado em locais onde existem micro-organismos capazes de degradar os contaminantes, porém as condições ambientais não favorecem a máxima atividade microbiológica dessa população, por exemplo: alta concentração de poluentes, falta de oxigênio, pH desfavorável, falta de nutrientes, baixa umidade e temperaturas desfavoráveis (MARIANO, 2006; RAMOS, 2013).

Na bioestimulação aeróbia os micro-organismos utilizam o oxigênio como receptores de elétrons para oxidar contaminantes orgânicos, a vantagem dessa técnica é que a degradação acontece de forma mais rápida em comparação com a anaeróbia, pois existe um maior fornecimento de energia para os organismos. No entanto, a baixa solubilidade do oxigênio no ambiente contaminado, além de seu rápido consumo e o difícil fornecimento, fazem com que não seja muito atrativa (RAMOS, 2013).

Em contrapartida, na bioestimulação anaeróbia os micro-organismos utilizam receptores de elétrons alternativos, como por exemplo nitrato, sulfato, Fe, CO₂ e outros aceptores. Uma das vantagens é que esses receptores são quimicamente mais estáveis em comparação com o oxigênio, presente na bioestimulação aeróbia, fazendo com que esse tratamento seja mais vantajoso economicamente (DELLAGNEZZE, 2015; RAMOS, 2013).

Já o bioaumento é uma técnica utilizada em locais onde a população microbiana não está presente ou em quantidades insuficientes para que aconteça a degradação. É necessário que os micro-organismos a serem inoculados não sejam patogênicos e não devem produzir substâncias tóxicas durante o processo de biodegradação (MARIANO, 2006; OLIVEIRA, 2008).

Tem como objetivo a inoculação de consórcios microbianos enriquecidos, ou seja, são inseridos micro-organismos exógenos, espécies não nativas de determinada região (MARIANO, 2006).

O processo de bioaumento até junho de 2007 era proibido no Brasil, porém no dia 22 de junho de 2007 por meio da Decisão de Diretoria (DD) Nº 103/2007/C/E, de

22 de junho de 2007 publicou a seguinte informação: “A utilização de micro-organismos alóctones nos sistemas de remediação deverá seguir as normas técnicas CETESB e as legais pertinentes”, sendo permitida no Brasil, principalmente no Estado de São Paulo (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010; BRASIL, 2007, p.34).

Na técnica que utiliza biorreatores, o solo contaminado é colocado dentro de um biorreator e misturado com água, com objetivo de formar 10 a 40% de sólidos, este sólido é mecanicamente aerado por meio rotações, fazendo com que o solo fique homogêneo na distribuição do contaminante e também aumente a disponibilidade de nutrientes para os micro-organismos degradadores. Além disso, no interior do biorreator é possível otimizar as condições do pH, a disponibilidade de nutrientes, a aeração e a temperatura. Essa técnica possui grande eficiência em solos contaminados com HAPs, pois as condições ambientais são propícias para a atividade microbiana. Após a redução dos níveis de contaminantes, a substância pode ser desidratada e a água reutilizada no biorreator (FRANCISCO; QUEIROZ, 2018; JACQUES et al., 2007).

Landfarming é uma técnica muito utilizada em casos de contaminação com hidrocarbonetos. O contaminante sólido ou líquido é colocado na superfície do solo formando uma pequena camada, que a partir daí os micro-organismos heterotróficos degradam as substâncias presentes, transformando-os em substâncias inertes como o material orgânico estabilizado, água e CO₂ (JACQUES et al., 2007; TOMASSONI et al., 2014).

Essa técnica pode ser realizada *in situ*, com objetivo de degradação no próprio local ou *ex situ* onde ocorre a remoção do material contaminado para outro local onde será realizado o *Landfarming*. Porém, o tratamento *in situ* é limitado a contaminantes superficiais, para poluentes na subsuperfície é necessário a utilização da técnica *ex situ* (JACQUES et al., 2007).

O processo de compostagem ou biopilha é processo de biorremediação *ex situ*, onde o solo contaminado é retirado do local e empilhado em forma de camadas, o objetivo dessa técnica é estimular o processo de degradação por micro-organismos aeróbios, transformando-os em material orgânico estabilizado, CO₂ e água (FRANCISCO; QUEIROZ, 2018; TOMASSONI et al., 2014).

A fitorremediação utiliza-se de plantas para acelerar a degradação, porém a eficiência é obtida utilizando plantas que possuem grande capacidade de absorção, rápido crescimento, fácil colheita e resistência ao poluente. Uma desvantagem desse método é que em locais contaminados por várias substâncias há dificuldade em selecionar a planta adequada para degradação (FRANCISCO; QUEIROZ, 2018; TOMASSONI et al., 2014).

4.2.2 Principais organismos utilizados

Na biorremediação podem ser utilizados vários tipos de organismos, como por exemplo: bactérias, fungos ou plantas, porém a sua eficiência na degradação está relacionada com a estrutura da molécula a ser degradada e enzimas presentes no organismo utilizado que são capazes de catabolizar o resíduo orgânico (FRANCISCO; QUEIROZ, 2018).

Na utilização de plantas, chamado de fitorremediação, alguns resultados foram promissores em tratamentos com metais pesados, agrotóxicos, explosivos, solventes clorados, subprodutos tóxicos da indústria e hidrocarbonetos de petróleo. A vantagem é que existe a possibilidade do tratamento de grandes áreas associado a um baixo custo, benefícios estéticos da paisagem e é uma técnica não invasiva. No entanto, o tempo de remediação pode ser longo (AGUIAR et al., 2012).

Alguns tipos de plantas destacam-se na fitorremediação: gramíneas, leguminosas, hortaliças, espécies de porte arbóreo e diversas outras monocotiledôneas e eudicotiledôneas. Duas espécies apresentam grande capacidade de fitorremediar hidrocarbonetos do petróleo é a *Glycine max* e *Brachiaria brizantha* (AGUIAR et al., 2012).

Já a degradação dos hidrocarbonetos por micro-organismos foi relatado primeiramente por Zobell em 1946 (SILVA, 2007; CUNHA et al., 2008).

A maioria dos trabalhos envolvendo a biorremediação de compostos orgânicos está relacionada com bactérias, dando pouca valorização para a atividade de degradação dos fungos, isso acontece pois o solo é um ambiente heterogêneo, fazendo com que os ensaios com fungos tenham diferentes graus de sucesso, porém, favorecer o crescimento e a quantidade de fungos pode ajudar na degradação (LIMA; OLIVEIRA; CRUZ, 2011).

A importância dos fungos na biorremediação cresceu nos últimos anos em função do entendimento das suas estratégias de crescimento. Os movimentos quimiostáticos ocorrem em direção às fontes de carbono orgânicos, ou seja, ocorre o alongamento e ramificação das hifas permitindo a colonização de grandes áreas aumentando o contato superficial com o contaminante, conseqüentemente, elevando a degradação. Além disso, esses organismos têm a capacidade de crescer sobre estresse ambiental (PEREIRA; FREITAS, 2012).

Os fungos da podridão branca são os mais conhecidos na degradação de compostos orgânicos, porém, outros organismos também têm se destacado, principalmente na degradação dos HAPs, como *Cunninghamella* sp., *Penicillium* sp. e *Aspergillus niger* (LIMA; OLIVEIRA; CRUZ, 2011).

Atualmente os consórcios microbianos têm se destacado com uma melhor eficiência na degradação dos hidrocarbonetos, em relação às culturas puras, pois apresentam maior capacidade de utilização de HAPs (JACQUES et al., 2007).

4.2.3 Bactérias utilizadas na biorremediação

Para a biodegradação dos compostos do petróleo, em ambientes naturais ou em laboratório, é preciso utilizar várias espécies microbianas, visto que este tipo de contaminante é constituído de vários hidrocarbonetos (OLIVEIRA, 2013).

Os organismos com capacidade de degradar componentes do petróleo são facilmente encontrados em ambientes já poluídos, pois o contaminante pode auxiliar na seleção de linhagens com habilidade em degradar esses compostos. Além disso, esses micro-organismos também podem ser encontrados em áreas que não tiveram contato com hidrocarbonetos (OLIVEIRA, 2013).

Em ambientes não contaminados, menos de 1% da população microbiana são considerados micro-organismos hidrocarbonoclasticos, ou seja, aqueles com capacidade de degradar hidrocarbonetos, já em ecossistemas com a presença dos hidrocarbonetos essa população pode chegar a 100% (NASCIMENTO; ARAUJO, 2016).

A degradação pode acontecer por meio do metabolismo de respiração aeróbia ou anaeróbia e está relacionada com a complexidade da molécula, ou seja, quanto

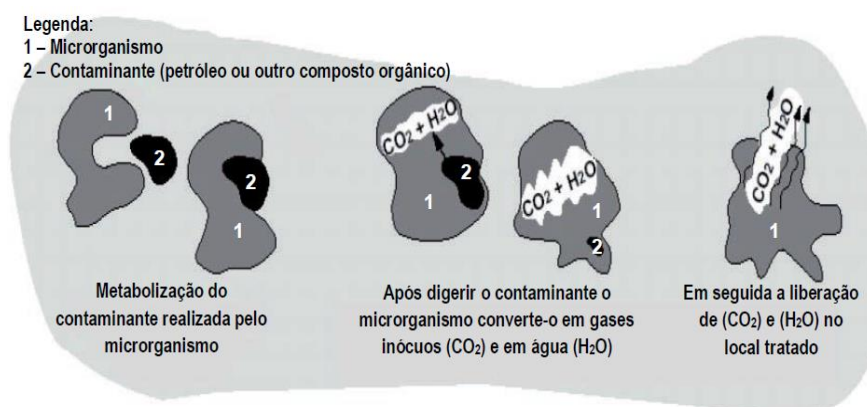
mais complexa mais difícil de ser degradada (MUTECA, 2012; RODRIGUES, 2014)

Para que o micro-organismo consiga utilizar os HAP's como fonte de carbono e energia é necessário que suas enzimas tenham capacidade de transformar o composto, em intermediários comuns da rota catabólica. Algumas vias metabólicas de degradação dos HAP's já foram identificadas em diferentes micro-organismos, porém as mais estudadas são do metabolismo aeróbico realizado pelas bactérias, pelos fungos lignolíticos e pelos fungos não-lignolíticos (JACQUES et al., 2007; OLIVEIRA, 2013).

A comunidade microbiana capaz de degradar contaminantes pode ser dividida em dois grupos: micro-organismos primários e secundários. Os primários são organismos capazes de utilizar o principal substrato presente, já os secundários utilizam os produtos formados por organismos primários (MARIANO, 2006; PEREIRA; FREITAS, 2012).

Para que aconteça a degradação completa ou a mineralização do contaminante as bactérias precisam realizar a oxidação do composto, transformando-o em dióxido de carbono (CO_2) e água (Figura 5), produzindo energia que poderá ser utilizada na síntese celular (denominado biomassa). A biodegradação ocorre por meio de enzimas bacterianas sobre substâncias específicas ou também é possível a utilização de consórcios bacterianos para que cada espécie atue em diferentes etapas da degradação (CORIOLANO; MORAIS FILHO, 2016; GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005).

Figura 5 - Ação dos micro-organismos no processo de biorremediação.



Fonte: CORIOLANO; MORAIS FILHO, 2016.

Na contaminação com hidrocarbonetos de petróleo há grande dificuldade na degradação, pois esses compostos se aderem fortemente a partículas do solo, fazendo com que exista uma baixa disponibilidade do poluente para ação dos micro-organismos, para isso algumas bactérias e fungos são capazes de secretar substâncias anfipáticas chamadas de biossurfactantes, que em locais contaminados com HPAs, por exemplo, observou-se o aumento da biodisponibilidade e conseqüentemente sua degradação (EBADI et al., 2017; NITSCHKE; PASTORE, 2002).

Existe um grupo de bactérias que utilizam exclusivamente hidrocarbonetos como substratos, denominadas bactérias hidrocarbonoclástica obrigatória, ou seja, são encontradas em níveis baixos ou indetectáveis em ambientes não contaminados com hidrocarbonetos. Os principais gêneros desse grupo são: *Alcanivorax*, *Marinobacter*, *Thalassolituus*, *Cycloclasticus* e *Oleispira* (MAHJOURI et al., 2018).

Na maioria das vezes, a degradação dos hidrocarbonetos começa com a ação das oxigenases, que são enzimas codificadas por genes *alkB*, esses genes podem ser encontrados na maioria das bactérias gram-negativas (SABIROVA et al., 2006).

No genoma do gênero *Alcanivorax* foi detectado genes *alkB* que codificam enzimas que iniciam a degradação dos hidrocarbonetos, esse gênero compreende onze espécies, sendo que a mais comumente encontrada no ambiente é a *A. dieselolei*. Essa bactéria apresenta capacidade de degradar alcanos lineares, cicloalcanos e isoprenoides (BARBATO et al., 2016).

A bactéria Gram-negativa *Alcanivorax borkumensis* apresenta uma forma de bastonete, raramente é encontrada em locais não poluídos, pois utiliza os hidrocarbonetos do petróleo como fonte exclusiva de carbono e hidrogênio. Esse micro-organismo pode se tornar a espécie dominante em águas contaminadas com hidrocarbonetos, podendo compreender de 80 a 90% da comunidade microbiana degradadora de petróleo, pois o contaminante pode auxiliar a seleção das bactérias (SCHNEIKER et al., 2006).

A. borkumensis foi a primeira bactéria hidrocarbonoclástica a ser sequenciada, onde foi possível observar que este micro-organismo apresenta capacidade de degradar n-alcanos, produzir biossurfactante, biofilme, pode eliminar nutrientes e

cofatores em ambientes pobres, além disso, sobrevive em condições de estresse ambiental. Seu genoma é constituído por um cromossomo circular de 3.120.143 pares de bases (SCHNEIKER et al., 2006).

A bactéria *Thalassolituus oleivorans* é uma Gram-negativa com capacidade de degradar hidrocarbonetos alifáticos. Já a *Cycloclasticus* é capaz de degradar alguns HAPs como naftaleno, fenantreno, antraceno, pireno e fluoreno (MAHJOURI et al., 2018).

A bactéria *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* foi inicialmente isolada em sedimentos poluídos por hidrocarbonetos, que foram coletadas na saída de uma refinaria de petróleo ao longo do mar mediterrâneo, na costa francesa. Essa bactéria pode degradar hidrocarbonetos alifáticos (pristano, heneicosano, eicosano, hexadecano e tetradecano) e aromáticos (fenantreno e fenildecano), além disso, é um micro-organismo produtor de biossurfactantes (HANDLEY; LLOYD, 2013).

Outro gênero pertencente ao grupo das bactérias hidrocarbonoclática obrigatória é a *Oleispira* que estava presente na degradação do óleo decorrente do derramamento da plataforma *Deep Water Horizon*, no Golfo do México. A principal bactéria representante desse gênero é a *Oleispira antarctica* que apresenta o gene AlkB2 para degradação de hidrocarbonetos (KUBE et al., 2013).

Quando existe a necessidade da biorremediação em locais onde apresenta uma mistura complexa de hidrocarbonetos, geralmente é necessário mais de uma espécie de bactéria, ou seja, uma população mista de bactérias (consórcio) pode aumentar a taxa e a biodegradação do petróleo (PATOWARY et al., 2016).

Em uma pesquisa realizada por Patowary et al. (2016), foi coletado petróleo da refinaria Digboi, localizado na Índia e amostras do solo desse mesmo local, com objetivo de identificar o melhor consórcio bacteriano para biodegradação do petróleo bruto nesse local. Foram avaliados quatorze consórcios diferentes, envolvendo isolados produtores e não produtores de biossurfactantes.

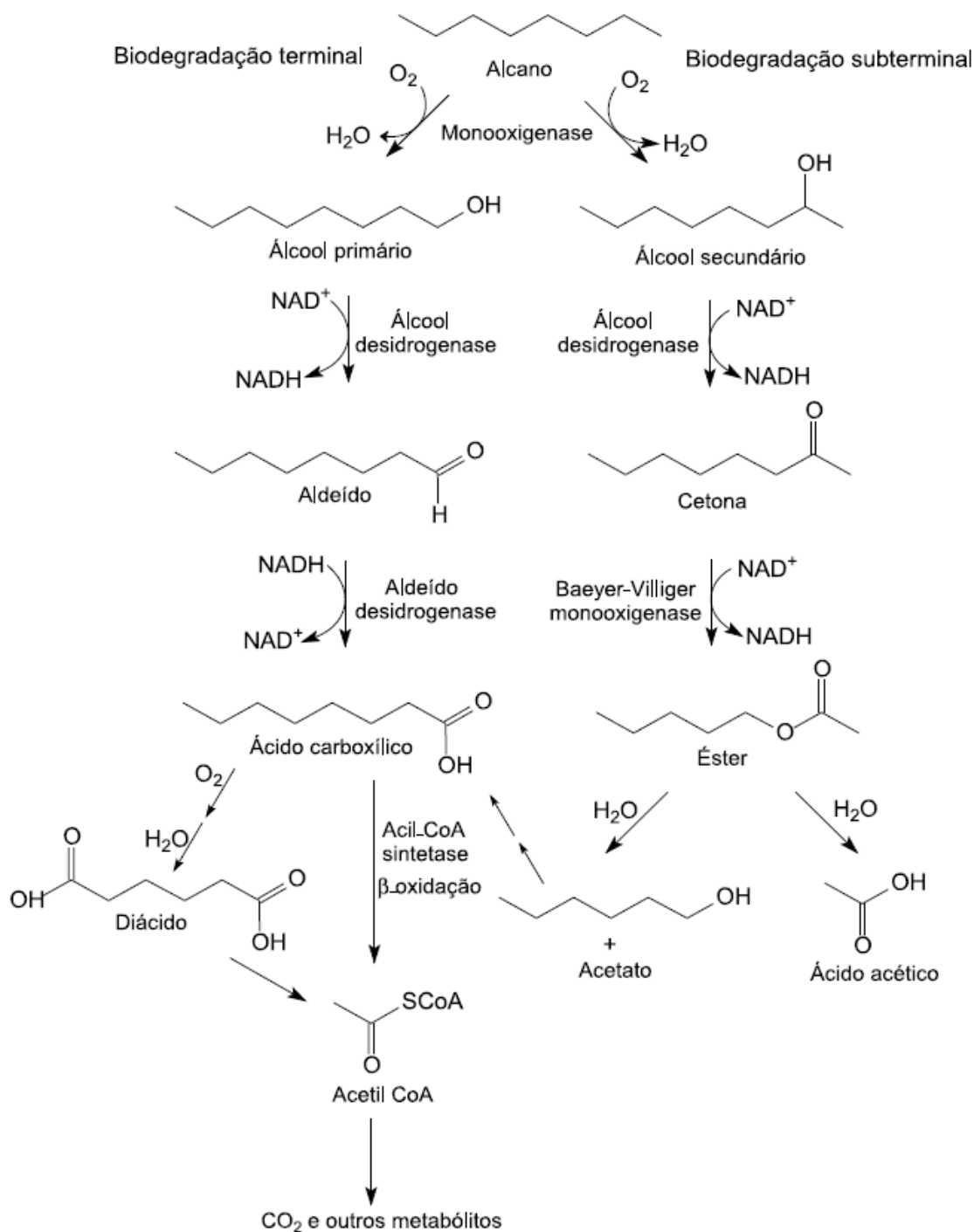
Alguns consórcios obtiveram resultados de degradação satisfatórios na primeira semana de incubação, porém nas semanas seguintes a taxa de degradação se manteve a mesma (PATOWARY et al., 2016).

O melhor consórcio foi selecionado de acordo com a capacidade de degradação do petróleo bruto, nesse estudo o que obteve melhor resultado foi o consórcio envolvendo duas cepas de *Bacillus* que são produtoras de biossurfactantes, *Bacillus pumilus* KS2 e *Bacillus cereus* R2. Após 5 semanas de incubação, esse consórcio apresentou degradação de até 84,15% do petróleo bruto (PATOWARY et al., 2016).

Na degradação aeróbica, a maior parte dos micro-organismos são fungos ou bactérias, o gás oxigênio (O_2) não serve somente como acceptor de elétrons para processos respiratórios, também é necessário para que ocorra a ativação do mecanismo de degradação. Em ambientes sem oxigênio, as bactérias anaeróbicas ou anaeróbicas facultativas desenvolveram vias alternativas para que aconteça a degradação, por exemplo a utilização de aceptores de elétrons como nitrato, sulfato, Fe, CO_2 e outros aceptores. (DELLAGNEZZE, 2015).

A degradação dos hidrocarbonetos por micro-organismos aeróbios inicia-se pela adição de duas moléculas de oxigênio, essa reação chamada de redox é catalisada por meio das enzimas oxigenases, podendo ser mono ou dioxigenase. Após isso, o álcool é oxidado por enzimas álcool e aldeído desidrogenases, formando aldeído e cetona. O ácido carboxílico formado sofre ação da enzima acetil-CoA sintetase e após isso é degradado pelo processo de beta-oxidação (Figura 6) (CRUZ; MARSAIOLI, 2012; DELLAGNEZZE, 2015).

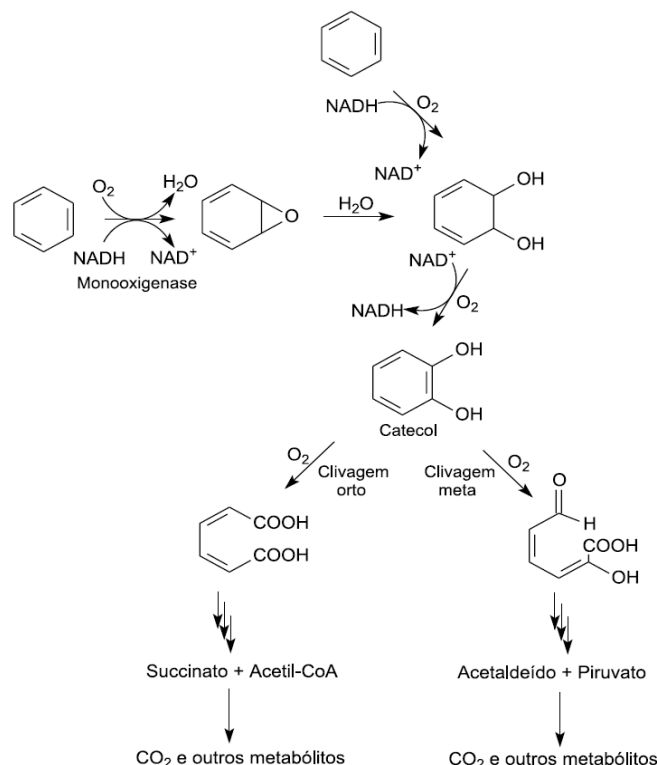
Figura 6- Degradação de hidrocarbonetos em condições aeróbias.



Fonte: CRUZ; MARSAIOLI, 2012.

Já a degradação de compostos aromáticos em condições aeróbias também tem início com enzimas oxigenases formando dióis, seguida da clivagem do anel e formação do catecol, que sofre outra clivagem dando origem a três compostos: succinato, piruvato e acetaldeído (Figura 7) (CRUZ; MARSAIOLI, 2012).

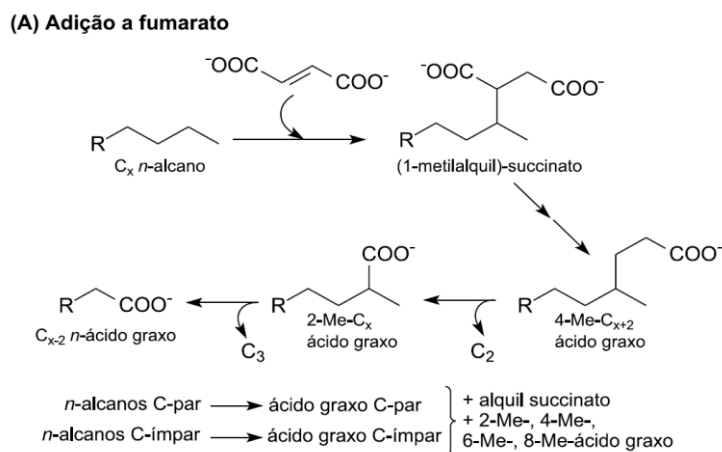
Figura 7- Degradação de compostos aromáticos em condições aeróbias.



Fonte: CRUZ; MARSALOLI, 2012.

Em aquíferos, sedimentos aquáticos ou solos submersos a concentração de oxigênio é mínima ou até mesmo ausente, por isso, para que ocorra a degradação do poluente são necessárias bactérias anaeróbias ou anaeróbias facultativas. A via de degradação mais descrita na literatura é a adição de fumarato ao carbono subterminal dos hidrocarbonetos, formando ácidos graxos lineares e ramificados e succinatos substituídos (Figura 8) (CRUZ; MARSALOLI, 2012; DELLAGNEZZE, 2015).

Figura 8- Degradação de hidrocarbonetos em condições anaeróbias.



Fonte: CRUZ; MARSALOLI, 2012.

5 INOVAÇÕES NA ÁREA

Os biossurfactantes são moléculas anfipáticas e que atualmente são utilizadas na biorremediação de hidrocarbonetos, pois foi observado que a utilização dos surfactantes aumenta a mobilidade dos hidrocarbonetos e sua biodisponibilidade, o que eleva a taxa de biodegradação. Atualmente são utilizados pelas indústrias de petróleo para aumentarem a solubilidade da gasolina e derivados (KARLAPUDI et al., 2018).

Além de suas utilidades, os biossurfactantes são produzidos por algumas bactérias e fungos, como por exemplo a *Pseudomonas aeruginosa*, é a principal produtora de um tipo de surfactante chamado de ramnolipídio formado por uma ou duas moléculas de L-ramnose ligadas à uma ou duas moléculas de ácido beta-hidroxiálcanóico (EBADI et al., 2017; NEVES et al., 2014).

Os ramnolipídeos apresentam interesse em várias áreas como, indústrias cosméticas, alimentícia, farmacêutica, papelreira, de metais, cerâmicas, entre outras. Porém suas propriedades têm grande interesse na parte ambiental, especificamente na biorremediação, podendo ser utilizado em solos e água contaminada (NEVES et al., 2014).

Em uma pesquisa realizada por Urum e Pekdemir (2004) em amostras de solo contaminadas com óleo, onde realizaram lavagens com ramnolipídeos e puderam observar que houve uma redução de até 80% do óleo presente.

No entanto a *Pseudomonas aeruginosa* é um patógeno oportunista que pode causar infecções urinárias, dermatites e sistêmicas, principalmente em pacientes imunocomprometidos, fazendo com que sua manipulação tenha um custo elevado (NEVES et al., 2014; PEDROSA et al., 2014).

Burkholderia kururiensis é uma bactéria não patogênica de vida livre, apresenta uma discreta produção de ramnolipídeos. Devido à proximidade filogenética entre os gêneros *Pseudomonas* e *Burkholderia* foi observado que existe um futuro promissor na utilização da *B. kururiensis* como um hospedeiro heterólogo para genes de *P. aeruginosa* (NEVES et al., 2014).

O objetivo da técnica foi inserir plasmídeos contendo os genes *rhlAB*, derivados

da cepa de *P. aeruginosa* PA01, responsáveis pela produção das enzimas componentes da Rhamnosiltransferase 1 (RhIA e RhIB).

Após a inserção dos plasmídeos na *B. kururiensis* foi realizada a expressão heteróloga e constitutiva, em um único operon, de duas enzimas biossintéticas: transacilase (RhIA) e raminosiltransferase 1(RhIB). A RhIA tem o objetivo de gerar a fração lipídica dos raminolipídios e os ácidos hidroxialcanóicos e a RhIB catalisa a ligação da dTDP-L-raminose à fração lipídica, resultando em uma produção de ramnolipídeos maior ou igual em comparação com *P. aeruginosa* (NEVES et al., 2014).

Além da possível elevação na produção de biossurfactantes essa técnica se destaca por não utilizar organismos patogênicos, *Burkholderia kururiensis* LMM21. Na observação dos resultados utilizando a linhagem recombinante, foi possível observar uma excelente expressão constitutiva para genes heterólogos e uma elevada produção de ramnolipídeos em comparação com linhagens de *P. aeruginosa* (NEVES et al., 2014).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido ao crescimento na contaminação com petróleo e seus derivados foi observado que dois componentes podem ser muito prejudiciais, como por exemplo, os hidrocarbonetos e os BTEX, podendo afetar tanto o ser humano quanto o meio ambiente. Por isso, algumas técnicas são utilizadas para descontaminar esses locais uma delas é a biorremediação que utiliza micro-organismos para biodegradar esses poluentes.

A biorremediação apresenta diferentes técnicas que podem ser utilizadas em ambientes contaminados com petróleo. As bactérias potencialmente degradadoras são facilmente encontradas em ambientes já contaminados, pois nesses locais somente os micro-organismos resistentes a esses compostos conseguem sobreviver.

Em alguns locais são necessários a utilização de biossurfactantes que são compostos produzidos principalmente por bactérias e apresentam a função diminuir a tensão superficial óleo e água. Porém, a principal bactéria que sintetiza essa substância que é *Pseudomonas aeruginosa* uma bactéria oportunista, o que encarece a sua manipulação, com isso, foram transferidos genes relacionados com a produção dos biossurfactantes em bactérias não patogênicas e observou-se que houve um aumento na produção.

Foi observado que a utilização dos biossurfactantes pode elevar a taxa de biodegradação dos hidrocarbonetos, conseqüentemente, esse composto pode aumentar a biodisponibilidade do substrato para os micro-organismos degradadores. Visto que a principal bactéria produtora do biossurfactante é um micro-organismo oportunista, a pesquisa utilizando a bactéria de vida livre e não patogênica é relevante, pois diminui os riscos para a manipulação e os resultados mostraram que sua produção pode ser aumentada.

Em decorrência do aumento dos casos de contaminações com petróleo e seus derivados, a realização de mais estudos envolvendo a biorremediação é de grande importância atualmente, pois tem revelado ser uma técnica eficiente para a atenuação ou eliminação completa do contaminante, transformando-o em produtos com pouca ou nenhuma toxicidade.

REFERÊNCIAS

- ABATENH, Endeshaw et al. Application of microorganisms in bioremediation. **Journal Of Environmental Chemistry And Toxicology**, Ethiopia, v. 1, n. 1, p.2-9, 22 dez. 2017. Disponível em: <<https://www.pulsus.com/scholarly-articles/application-of-microorganisms-in-bioremediationreview.pdf>>. Acesso em: 02 nov. 2019.
- AGUIAR, Christiane Rosas Chafim et al. Fitorremediação de Solos Contaminados por Petróleo. **Revista Trópica**, Maranhão, v. 6, n. 1, p.3-9, 2012. Disponível em: <<http://www.periodicoeletronicos.ufma.br/index.php/ccaotropica/article/download/555/598>>. Acesso em: 31 out. 2019.
- ALBARELLO, Lilian Cristiane. **Avaliação ambiental da área do banhado 4 afetada por vazamento de petróleo - REPAR, Araucária, PR**. 2008. 111 f. TCC (Graduação) - Curso de Geologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008. Disponível em: <<https://lume.ufrgs.br/handle/10183/16156>>. Acesso em: 10 set. 2019.
- AMARAL, Isabele Campos Costa et al. Avaliação ambiental de BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno, xilenos) e biomarcadores de genotoxicidade em trabalhadores de postos de combustíveis. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, [s.l.], v. 42, n. 1, p.1-14, 3 ago. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/2317-6369000124515>.
- ANDRADE, Juliano de Almeida; AUGUSTO, Fabio; JARDIM, Isabel Cristina Sales Fontes. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**, [s.l.], v. 35, n. 3, p.17-43, set. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-46702010000300002>.
- ANJOS, Raoni Batista dos. **Avaliação de HPA e BTEX no solo e água subterrânea, em postos de revenda de combustível: Estudo de caso na cidade de Natal-RN**. 2012. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Engenharia de Petróleo, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012. Disponível em: <<http://www.natal.rn.gov.br/bvn/publicacoes/RaoniBA DISSERT.pdf>>. Acesso em: 27 ago. 2019.
- ANP. **Análise do acidente com a plataforma P-36**. 2001. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/images/EXPLORACAO_E_PRODUCAO_DE_OLEO_E_GAS/Seguranca_Operacional/Relat_incidentes/Relatorio_P-36.pdf>. Acesso em: 04 out. 2019.
- ARTUR NETO, et al. Contaminação do Lençol Freático pelo Vazamento de Óleo na Refinaria Presidente Getúlio Vargas - REPAR, Município de Araucária, Paraná. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.13-19, 2003. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.21168/rbrh.v8n1.p13-19>.
- AYRES, Antonio. Uso de dispersantes no vazamento da P-36 deixará sequelas ambientais, diz pesquisadora. **Agência Universitária de Notícias**, São Paulo, v. 34, n. 2, p.1-1, mar. 2001. Disponível em: <<http://www.usp.br/aunantigo/exibir?id=74&ed=10&f=27>>. Acesso em: 10 set. 2019.
- BARBATO, Marta et al. Hydrocarbonoclastic Alcanivorax Isolates Exhibit Different Physiological and Expression Responses to n-dodecane. **Frontiers In Microbiology**, [s.l.], v. 7, p.1-14, 21 dez. 2016. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.02056>.

BRASIL. Decisão de Diretoria Nº 103/2007/C/E, de 22 de junho de 2007. Dispõe sobre o procedimento para gerenciamento de áreas contaminadas. **Diário Oficial Estado de São Paulo**, Poder Executivo, 27 jun. 2007, Seção 1, p.34.

CARMINITTI, Lilian. **Estabelecimento do potencial de plantas no monitoramento de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) presentes na atmosfera urbana de São Paulo, SP**. 2008. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2008. Disponível em: <http://arquivos.ambiente.sp.gov.br/pgibt/2013/10/Lilian_Carminitti_MS.pdf>. Acesso em: 07 set. 2019.

CARUSO, Miriam Solange Fernandes; ALABURDA, Janete. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - benzo(a)pireno: uma revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz (impr.)**, São Paulo, v. 67, n. 1, p.1-27, abr. 2008. Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552008000100001&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 02 set. 2019.

CETESB. **Breve história do petróleo no Brasil e em São Paulo e principais acidentes**. 2013. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/emergencias-quimicas/wp-content/uploads/sites/22/2013/12/Principais-Acidentes-Brasil-.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2019.

CETESB, **Companhia Ambiental do Estado de São Paulo**. *Áreas Contaminadas*, Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em 09 dez. 2018.

CETESB. **Diretoria de engenharia e qualidade ambiental departamento de qualidade ambiental divisão de qualidade do ar setor de amostragem e análise do ar**. São Paulo, 2016. 19 p. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/ar/wp-content/uploads/sites/28/2013/12/Relatorio-BTEX.pdf>>. Acesso em: 07 set. 2019.

CETESB. **HPAs - Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos**. 2018. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2018/07/HPAs-Hidrocarbonetos-Policíclicos-Aromáticos.pdf>>. Acesso em: 07 set. 2019

CETESB. **O petróleo da história antiga aos tempos atuais**. 2011. Disponível em: <<https://www.cetesb.sp.gov.br/emergencias-quimicas/wp-content/uploads/sites/22/2013/12/O-petroleo-historia-antiga-tempos-atuias.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2019.

CORIOLOANO, Ana Catarina Fernandes; MORAIS FILHO, Manuel Capristanio de. biorremediação, uma alternativa na utilização em áreas degradadas pela indústria petrolífera. **Holos**, [s.l.], v. 7, p.133-150, 12 nov. 2016. Instituto Federal de Educacao, Ciencia e Tecnologia do Rio Grande do Norte (IFRN). <http://dx.doi.org/10.15628/holos.2016.4278>.

CRUZ, Georgiana Feitosa da; MARSAIOLI, Anita Jocelyne. Processos naturais de biodegradação do petróleo em reservatórios. **Química Nova**, [s.l.], v. 35, n. 8, p.1628-1634, 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422012000800024>.

CUNHA, Cláudia Duarte da et al. **Biorremediação de Água Subterrânea Contaminada com Gasolina e Análise Molecular da Comunidade Bacteriana Presente**. Rio de Janeiro: Série Tecnologia Ambiental, 2008. 47 p. Disponível em: <<http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/cetem/322/1/sta-47.pdf>>. Acesso em: 08 ago. 2019.

DELLAGNEZZE, Bruna Martins. **Avaliação do potencial de microbiota originada de reservatórios de petróleo para biorremediação**. 2015. 155 f. Tese (Doutorado) - Curso de Genética de Microorganismos, Unicamp, Campinas, 2015. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/317335/1/Dellagnezze_BrunaMartins_D.pdf>. Acesso em: 12 out. 2019.

EBADI, Ali et al. Effective bioremediation of a petroleum-polluted saline soil by a surfactant-producing *Pseudomonas aeruginosa* consortium. **Journal Of Advanced Research**, [s.l.], v. 8, n. 6, p.627-633, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jare.2017.06.008>.

FERNANDES, Edna Andrade; RODRIGUES, Ottávio de Azevedo Oliveira; MURTEIRA, Viviane Gomes. Biorremediação no combate ao derramamento de Petróleo. **Bolsista de Valor**, Campos dos Goytacazes, v. 3, n. 1, p.68-70, 2013. Disponível em: <<http://www.essentiaeditora.iff.edu.br/index.php/BolsistaDeValor/article/view/6715>>. Acesso em: 09 dez. 2018.

FIGUEIREDO, Marcelo Gonçalves; ALVAREZ, Denise; ADAMS, Ricardo Nunes. O acidente da plataforma de petróleo P-36 revisitado 15 anos depois: da gestão de situações incidentais e acidentais aos fatores organizacionais. **Cadernos de Saúde Pública**, [s.l.], v. 34, n. 4, p.1-12, 29 mar. 2018. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0102-311x00034617>.

FRANCISCO, Wellington Camilo; QUEIROZ, Tânia Márcia de. BIORREMEDIAÇÃO. **Nucleus**, [s.l.], v. 15, n. 1, p.249-256, 30 abr. 2018. Fundação Educacional de Ituverava. <http://dx.doi.org/10.3738/1982.2278.1700>.

FENSTERSEIFER, Marli Luiza Accadrolli. **Determinação de Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xilenos em águas subterrâneas coletadas próximas a postos de combustível**. 2010. 53 f. Monografia (Especialização) - Curso de Química Industrial, Centro Universitário Univates, Lajeado, 2010. Disponível em: <<https://www.univates.br/bdu/bitstream/10737/471/1/2010MarliFensterseifer.pdf>>. Acesso em: 07 set. 2019.

GAMO, Masashi; OKA, Toshihiro; NAKANISHI, Junko. Ranking the risks of 12 major environmental pollutants that occur in Japan. **Chemosphere**, [s.l.], v. 53, n. 4, p.277-284, out. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0045-6535\(03\)00053-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0045-6535(03)00053-5).

GAYLARDE, Christine Claire; BELLINASSO, Maria de Lourdes; MANFIO, Gilson Paulo. Biorremediação: Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Viçosa, v. 34, p.36-43, 2005. Disponível em: <<https://docente.ifrn.edu.br/helidamesquita/disciplinas/agricultura-geral/revista-biotecnologia-ciencia-e-desenvolvimento>>. Acesso em: 05 out. 2019.

HANDLEY, Kim M.; LLOYD, Jonathan R.. Biogeochemical implications of the ubiquitous colonization of marine habitats and redox gradients by *Marinobacter* species. **Frontiers In Microbiology**, [s.l.], v. 4, p.1-10, 2013. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2013.00136>.

KHAN, Faisal I; HUSAIN, Tahir; HEJAZI, Ramzi. An overview and analysis of site remediation technologies. **Journal Of Environmental Management**, [s.l.], v. 71, n. 2, p.95-122, jun. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2004.02.003>.

INCKOT, Renata Charvet et al. Anatomia das plântulas de *Mimosa pilulifera* (Leguminosae) crescendo em solo contaminado com petróleo e solo biorremediado. **Rodriguésia**, Curitiba, v. 59, n. 3, p.513-524, jul. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S2175-78602008000300513&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 25 maio 2019.

JACQUES, Rodrigo Josemar Seminoti et al. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 37, n. 4, p.1192-1201, ago. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84782007000400049>.

KARLAPUDI, Abraham Peele et al. Role of biosurfactants in bioremediation of oil pollution-a review. **Petroleum**, [s.l.], v. 4, n. 3, p.241-249, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.petlm.2018.03.007>. Disponível em: <<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S2405656117301530?token=5542500BA06ECD464BA4F2CD25861F63AA3AA3EC6AB2082DBC0694D3B5739FB067AAC66F788F71DB7B987900DB940AA1>>. Acesso em: 02 nov. 2019.

KOLESNIKOVAS, Celso; OLIVEIRA, Everton de; DUARTE, Uriel. Avaliação de risco toxicológico para hidrocarbonetos totais de petróleo em forma fracionada aplicada à gestão e monitoramento de água subterrânea em um complexo industrial. **Águas Subterrâneas**, São Paulo, v. 23, n. 1, p.31-44, 2009. Disponível em: <<https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/12128/13807>>. Acesso em: 05 set. 2019.

KUBE, Michael et al. Genome sequence and functional genomic analysis of the oil-degrading bacterium *Oleispira antarctica*. **Nature Communications**, [s.l.], v. 4, n. 1, p.1-11, 23 jul. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms3156>. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/ncomms3156.pdf>>. Acesso em: 02 nov. 2019.

LIMA, Danúzia Ferreira. **Biorremediação em sedimentos impactados por petróleo na Baía de todos os santos, Bahia: avaliação da degradação de hidrocarbonetos saturados**. 2010. 234 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Geologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010. Disponível em: <<https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/16319/1/Dan%C3%BAAsia%20Ferreira%20Lima.pdf>>. Acesso em: 08 dez. 2018.

LIMA, Danúzia Ferreira; OLIVEIRA, Olívia Maria Cordeiro de; CRUZ, Manoel Jerônimo Moreira. Utilização dos fungos na biorremediação de substratos contaminados por petróleo: estado da arte. **Caderno de Geociências**, [s. L.], v. 8, n. 2, p.113-121, nov. 2011. Disponível em: <<https://portalseer.ufba.br/index.php/cadgeoc/article/view/5553>>. Acesso em: 29 set. 2019.

MAHJOUBI, Mouna et al. Microbial Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon– Contaminated Marine Environments. **Recent insights in petroleum science and engineering**, [s.l.], p.325-350, 7 fev. 2018. InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.72207>.

MARIANO, Adriano Pinto. **Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel**. 2006. 162 f. Tese (Doutorado) - Curso de Geociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2006. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/102864>>. Acesso em: 09 dez. 2018.

MARIANO, Jacqueline Barboza. **Impactos Ambientais do Refino de Petróleo**. 2001. 289 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências em Planejamento Energético, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001. Disponível em: <<http://antigo.ppe.ufrj.br/ppe/production/tesis/jbmariano.pdf>>. Acesso em: 02 set. 2019.

MARQUES, Emily de Mendonça. **Solos Contaminados por Hidrocarbonetos de Petróleo**. 2008. 13 f. TCC (Graduação) - Curso de Geografia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: <<http://lsie.unb.br/ugb/sinageo/7/0109.pdf>>. Acesso em: 25 maio 2019.

MEIRA, L. S.; ANDRADE, S. S. S.; SILVA, L. D.. OS IMPACTOS AMBIENTAIS E AS MELHORIAS OCORRIDAS APÓS O ACIDENTE DA PLATAFORMA P-36. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, [s.l.], p.1-6, jul. 2017. Editora Blucher. <http://dx.doi.org/10.5151/chemeng-cobeqic2017-239>.

MEIRE, Rodrigo Ornellas; AZEREDO, Antônio; TORRES, João Paulo Machado. Aspectos ecotoxicológicos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. **Oecologia Brasiliensis**, [s.l.], v. 11, n. 2, p.188-201, nov. 2007. Oecologia Australis. <http://dx.doi.org/10.4257/oeco.2007.1102.03>.

MENEGHETTI, Liliane Rebechi Ribeiro. **Biorremediação na descontaminação de solo residual de basalto contaminado com óleo diesel e biodiesel**. 2007. 112 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia, Universidade de Passo Fundo Faculdade de Engenharia e Arquitetura, Passo Fundo, 2007. Disponível em: <<http://livros01.livrosgratis.com.br/cp104053.pdf>>. Acesso em: 08 nov. 2018.

MILANI, E. J. et al. Petróleo na margem continental brasileira: geologia, exploração, resultados e perspectivas. **Revista Brasileira de Geofísica**, [s.l.], v. 18, n. 3, p.352-396, 2000. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-261x2000000300012>.

MORAIS, José Mauro de. **Petróleo em águas profundas: Uma história tecnológica da Petrobras na exploração e produção offshore**. Brasília: Ipea, 2013. Disponível em: <http://www.ipea.gov.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=18251>. Acesso em: 16 mar. 2019.

MUTECA, Felisberto Lucas Luis. **Biorremediação de solo contaminado com óleo cru proveniente de Angola**. 2012. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <<http://tpqb.eq.ufrj.br/download/biorremediacao-de-solo-contaminado-com-oleo-cru.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

NASCIMENTO, Edileine Aparecida do; ARAUJO, João Carlos de Souza Batista. **Aplicação da biorremediação no Estado de São Paulo**. 2016. 18 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Ambiental, Universidade Católica de Santos, Santos, 2016. Disponível em: <<http://periodicos.unisantos.br/leopoldianum/article/view/687>>. Acesso em: 25 maio 2019.

NEVES, Bianca Cruz *et al.* **Burkholderia kururiensis geneticamente modificada, método para de biossurfactantes do tipo ramnolípídeos e usos**. Depositante: Universidade Federal do Rio de Janeiro. BR nº PI 1102193-4 A2. Depósito: 23 maio 2011. Concessão: 14 jan. 2014. Disponível em: <<https://pantheon.ufrj.br/handle/11422/3193>>. Acesso em: 16 out. 2019.

NITSCHKE, Marcia; PASTORE, Gláucia Maria. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. **Química Nova**, [s.l.], v. 25, n. 5, p.772-776, set. 2002. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422002000500013>.

OLIVEIRA, Adriana Sousa de et al. **Estudo da Contaminação de Águas Subterrâneas por BTEX oriundas de postos de distribuição no Brasil**. Salvador: 3º Congresso Brasileiro de P&d em Petróleo e Gás, 2005. 6 p. Disponível em: <http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/3/trabalhos/IBP0563_05.pdf>. Acesso em: 07 set. 2019.

OLIVEIRA, Rosiane Martins. **Diversidade microbiana utilizada na biorremediação de solos contaminados por petróleo e derivados**. 2013. 16 f. TCC (Graduação) - Curso de

Ciências Biológicas, Centro Universitário Metodista Izabela Hendrix, Belo Horizonte, 2013. Disponível em: <<https://www.metodista.br/revistas-izabela//index.php/aic/article/view/399>>. Acesso em: 25 maio 2019.

OLIVEIRA, Sabrina Dias de. **Avaliação das técnicas de bioaumento fúngico e bioestímulo em processos de biorremediação utilizando solo contaminado por petróleo**. 2008. 158 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: <<http://186.202.79.107/download/bioaumento-fungico-em-processos-de-biorremediacao.pdf>>. Acesso em: 29 nov. 2019.

OLIVEIRA, Sabrina Dias de et al. **Emprego de Fungos Filamentosos na Biorremediação de Solos Contaminados por Petróleo**: Estado da Arte. Rio de Janeiro: Cetem/mct, 2008. Disponível em: <<http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/cetem/324/1/sta-45.pdf>>. Acesso em: 30 nov. 2018.

ORTIZ NETO, José Benedito; COSTA, Armando João dalla. A Petrobras e a exploração de petróleo offshore no Brasil: um approach evolucionário. **Revista Brasileira de Economia**, Rio de Janeiro, v. 61, n. 1, p.95-109, 2007. Disponível em: <<http://bibliotecadigital.fgv.br/ojs/index.php/rbe/article/view/1013>>. Acesso em: 04 out. 2019.

PALLARDY, Richard. **Deepwater Horizon oil spill**. 2019. Disponível em: <<https://www.britannica.com/event/Deepwater-Horizon-oil-spill>>. Acesso em: 24 out. 2019.

PATOWARY, Kaustuvmani et al. Development of an Efficient Bacterial Consortium for the Potential Remediation of Hydrocarbons from Contaminated Sites. **Frontiers In Microbiology**, [s.l.], v. 7, p.1-14, 14 jul. 2016. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.01092>.

PEDROSA, Aline Pereira et al. Pesquisa de fatores de virulência em *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de águas minerais naturais. **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal Of Applied Science**, [s.l.], v. 9, n. 2, p.313-324, 26 jun. 2014. Instituto de Pesquisas Ambientais em Bacias Hidrográficas (IPABHi). <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1359>.

PEREIRA, Aline Ramalho Brandão; FREITAS, Diego Antônio França de. Uso de microrganismos para a biorremediação de ambientes impactados. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Lavras, v. 6, n. 6, p.975-1006, 2012. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/reget/article/viewFile/4818/2993>>. Acesso em: 29 out. 2018.

RAMOS, Débora Toledo. **Bioestimulação de processos metanogênicos com acetato de amônio para degradação acelerada de hidrocarbonetos de petróleo em águas subterrâneas contaminadas com diesel B20**. 2013. 259 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/107518>>. Acesso em: 22 ago. 2019.

RIZZO, Andréa C. de Lima et al. **Biorremediação de solos contaminados por petróleo**: Ênfase no uso de biorreatores. Rio de Janeiro: Cetem/mct, 2006. Disponível em: <<http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/cetem/332/1/sta-37.pdf>>. Acesso em: 30 nov. 2018.

RODRIGUES, Edmo Montes. **Prospecção de bactérias degradadoras de petróleo e avaliação de potenciais estratégias de biorremediação para a degradação de hidrocarbonetos na ilha da trindade**. 2014. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014. Disponível em:

<<https://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/5372/texto%20completo.pdf?sequenc e=1>>. Acesso em: 25 maio 2019.

SABIROVA, J. S. et al. Proteomic Insights into Metabolic Adaptations in *Alcanivorax borkumensis* Induced by Alkane Utilization. **Journal Of Bacteriology**, [s.l.], v. 188, n. 11, p.3763-3773, 17 maio 2006. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jb.00072-06>.

SANTOS, Daniela França dos. **Estudo dos compostos btex na atmosfera da cidade de salvador utilizando amostragem passiva**. 2015. 155 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015. Disponível em: <[https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/19129/1/Disserta%C3%A7ao_Daniela%20Franca.p df](https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/19129/1/Disserta%C3%A7ao_Daniela%20Franca.pdf)>. Acesso em: 07 set. 2019.

SCHNEIKER, Susanne et al. Genome sequence of the ubiquitous hydrocarbon-degrading marine bacterium *Alcanivorax borkumensis*. **Nature Biotechnology**, [s. L.], v. 24, p.997-1004, 30 jul. 2006. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nbt1232>>. Acesso em: 06 out. 2019.

SILVA, Maicon Gonçalves. **Biorremediação do solo contaminado por petróleo por diferentes técnicas de bioestimulação**. 2007. 115 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Oceanografia Física, Química e Geológica, Instituto de Oceanografia, Rio Grande, 2007. Disponível em: <<http://repositorio.furg.br/handle/1/3642>>. Acesso em: 08 ago. 2019.

SISINNO, Cristina L. S. et al. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em resíduos sólidos industriais: uma avaliação preliminar do risco potencial de contaminação ambiental e humana em áreas de disposição de resíduos. **Cadernos de Saúde Pública**, [s.l.], v. 19, n. 2, p.671-676, abr. 2003. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-311x2003000200035>.

TECNOHIDRO. **ISCO – Oxidação Química “In situ”**. Disponível em: <<http://tecnohidro.com.br/portfolio-posts/isco-oxidacao-quimica-in-situ/>>. Acesso em: 29 nov. 2019.

THOMAS, José Eduardo (Org.). **Fundamentos de Engenharia de Petróleo**. Rio de Janeiro: Interciência, 2001. 278 p.

TOMASSONI, Fabíola et al. Técnica de biorremediação do solo. **Acta Iguazu**, Cascavel, v. 3, n. 3, p.46-56, 2014. Disponível em: <<http://e-revista.unioeste.br/index.php/actaiguazu/article/view/10796>>. Acesso em: 22 set. 2019.

URUM, Kingsley; PEKDEMIR, Turgay. Evaluation of biosurfactants for crude oil contaminated soil washing. **Chemosphere**, [s.l.], v. 57, n. 9, p.1139-1150, dez. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.07.048>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653504006630?via%3Dihub>>. Acesso em: 02 nov. 2019.

VARELA, Carmen Augusta; MILONE, Débora. **A Resposta do mercado aos Acidentes Ambientais na Indústria Petrolífera: Estudo do Caso do Desastre no Golfo do México**. Disponível em: <<https://www.engema.org.br/XVIENGEMA/148.pdf>>. Acesso em: 23 out. 2019.

VIEIRA, Francyne Carolina dos Santos. **Toxicidade de Hidrocarbonetos Monoaromáticos do Petróleo sobre *Metamysidopsis elongata atlantica* (Crustacea: Mysidacea)**. 2004. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa

Catarina, Florianópolis, 2004. Cap. 83. Disponível em:
<<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/88023?show=full>>. Acesso em: 01 set.
2019.