

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
FACULDADE DE ENGENHARIA DOS RECURSOS NATURAIS



**“Desenvolvimento de ferramentas interactivas para divulgação
das aplicações da biotecnologia ambiental em biorremediação”**

Mestrado em Biotecnologia

Maria da Conceição Monteiro Patrício Silva

Faro, 2006



UNIVERSIDADE DO ALGARVE

FACULDADE DE ENGENHARIA DOS RECURSOS NATURAIS



**“Desenvolvimento de ferramentas interactivas para divulgação
das aplicações da biotecnologia ambiental em biorremediação”**

**Dissertação para a obtenção do grau de mestre em
Biotecnologia**

Maria da Conceição Monteiro Patrício Silva

Faro, 2006

2814 T.

23 04 07 69616

66 : 577

SIL # Des

NOME: Maria da Conceição Monteiro Patrício Silva

DEPARTAMENTO: Recursos Naturais

ORIENTADOR: Dr. Carlos Rocha

CO-ORIENTADOR: Dra. Leonor Cancela

DATA: Novembro de 2006

TITULO DA DISSERTAÇÃO: Desenvolvimento de ferramentas interactivas para divulgação das aplicações da biotecnologia ambiental em biorremediação.

JÚRI:

Doutor José Manuel Peixoto Teixeira Leitão

Doutora Maria Manuela Silva Nunes Reis Abreu

Doutora Maria Leonor Quintais Cancela da Fonseca

Doutora Maria Clara Semedo da Silva Costa

Doutor Carlos Sérgio Borges de Carvalho da Rocha.

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente ao meu marido pelo apoio, incentivo e colaboração, e aos meus filhos pela sua compreensão pela frequente falta de disponibilidade que o desenvolvimento deste trabalho ocasionou.

Agradeço também as orientações que foram prestadas pelo Dr. Carlos Rocha e pela Dra. Leonor Cancela.

Desenvolvimento de ferramentas interactivas para divulgação das aplicações da biotecnologia ambiental em biorremediação.

RESUMO:

A biorremediação surge actualmente como uma tecnologia com elevado potencial na recuperação de ambientes poluídos. As suas vantagens económicas e a sua versatilidade no tratamento de águas residuais urbanas, resíduos petrolíferos, solos e águas contaminados com metais pesados, pesticidas, e outros, são factores a ter em conta pela sociedade na procura do desenvolvimento sustentável.

Alguns factores controladores do seu desenvolvimento são científicos, mas outros dependem do conhecimento e da percepção que a sociedade tem da tecnologia. Estes factores, de tipo não científico, podem ser o potencial económico, a regulamentação, o investimento na investigação e os recursos humanos. Os mais limitativos actualmente são a carência de investigação específica e a falta de recursos humanos com formação nas áreas implicadas nesta tecnologia, nomeadamente: microbiologia, biologia molecular, bioquímica, engenharia hidráulica, informática, etc.

Este trabalho pretende divulgar a biorremediação a um público jovem que no futuro possa ter interesse pela formação e investigação nesta área. Nesse sentido foi desenvolvido um CD-ROM interactivo, com o apoio do software Flash 8 e Dreamweaver 8, com informação sobre os fundamentos da biorremediação. Esta ferramenta foi desenhada com potencial para ser disponibilizada através da Internet.

Palavras-chave: Biorremediação; Fitorremediação; Divulgação.

Development of interactive tools for divulgation of environmental biotechnologies applications in bioremediation.

ABSTRACT:

Nowadays the bioremediation appears as a technology with high potential in the recovery of polluted environments. Its economical advantages as well as its versatility in the treatment of wastewaters, oil residues, soils and waters contaminated with heavy metals, pesticides and others, are factors that have to be taken into account by any society when looking for a sustainable development.

Some factors that control its development are scientific while others depend on the knowledge and on the perception society has of the technology. Economical capacity, regulation, investment in scientific research and human resources may be considered these non-scientific factors. At the present time the most restrictive ones are the lack of specific research in this area as well as the lack of human resources qualified in the areas involved in this technology such as: microbiology, molecular biology, biochemistry, hydraulics engineering, computing, etc.

This work aims to turn bioremediation known by the young people that in a near future may be interested on either a qualification or some scientific research in this area. In that sense an interactive CD-ROM was developed, supported by the software Flash 8 and Dreamweaver 8, containing information about the reason of biorremediação. This tool was designed to be available through the Internet.

Key-words: Bioremediation; Phytoremediation; Divulgation.

ÍNDICE

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO	16
CAPÍTULO II: A BIORREMEDIAÇÃO NO CONTEXTO ACTUAL.....	20
CAPITULO III: OS CONTAMINANTES E O SEU DESTINO AMBIENTAL.....	22
1. DESTINO AMBIENTAL DOS CONTAMINANTES	24
1.1. Mecanismos de transporte de contaminantes	24
1.2. Mecanismos de retardação dos contaminantes.....	28
1.3. Mecanismos de atenuação dos contaminantes.....	30
2. REACÇÕES DE DETOXICAÇÃO DE ALGUNS CONTAMINANTES	33
3. FACTORES AMBIENTAIS	43
CAPITULO IV: FISILOGIA E METABOLISMO DOS ORGANISMOS REMEDIADORES.....	48
1. BACTÉRIAS	51
1.1. Caracterização de ecossistemas e separação de estirpes.....	51
1.2. Aclimação.....	53
1.3. Transporte/Crescimento.....	54
1.4. Cinética de biodegradação.....	55
2. FUNGOS	59
2.1. Metabolismo e Crescimento.....	60
2.2. Biodegradação.....	61
2.3. Imobilização/mobilização de metais pesados.....	63
2.4. Neutralização de ácidos.....	63
3. PLANTAS SUPERIORES.....	64
3.1. Degradação	65
3.2. Retenção.....	67
3.3. Transferência.....	69
3.4. Selecção de plantas.....	69
4. ALGAS	70
5. ANIMAIS	72
6. MELHORAMENTO DE ESTIRPES.....	74
CAPITULO V: PRINCIPAIS METODOLOGIAS E APLICAÇÕES DA BIORREMEDIAÇÃO	78
1. SISTEMAS <i>IN SITU</i>	79
1.1. Atenuação natural monitorizada.....	80
1.2. Bioventilação	81

1.3. <i>Extracção de vapores do solo (Soil Vapor Extraction–SVE)</i>	82
1.4. <i>Biosparging</i>	82
1.5. <i>Fitorremediação</i>	83
1.6. <i>Biobarreiras</i>	87
1.7. <i>Lagoas de fase heterogénea (slurry)</i>	88
2. <i>SISTEMAS EX SITU</i>	89
2.1. <i>Sistemas ex situ para tratamento de líquidos</i>	89
2.2. <i>Sistemas ex situ para tratamento de fase heterogénea</i>	98
2.3. <i>Sistemas ex situ para tratamento de fase sólida</i>	99
2.4. <i>Sistemas de tratamento de fase de vapor</i>	107
CAPÍTULO VI: FACTORES CONTROLADORES DA APLICAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DA TECNOLOGIA	110
1. <i>FACTORES CIENTÍFICOS</i>	110
2. <i>FACTORES NÃO CIENTÍFICOS</i>	112
2.1. <i>Factores de regulamentação</i>	112
2.2. <i>Factores de investigação</i>	114
2.3. <i>Factores decorrentes dos recursos humanos</i>	114
2.4. <i>Factores económicos</i>	114
CAPÍTULO VII: METODOLOGIA SEGUIDA NA EXECUÇÃO DO TRABALHO	116
CAPÍTULO VIII: DISCUSSÃO DO TRABALHO E DA SUA RELEVÂNCIA	121
CAPÍTULO IX: PERSPECTIVAS FUTURAS	125
CAPÍTULO X: GLOSSÁRIO	126
CAPÍTULO XI: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	137
ANEXO I	146

Índice de figuras e tabelas

<i>Fig.1- Pluma de migração de fontes localizadas de contaminantes</i>	23
<i>Fig.2 – Condicionantes do destino ambiental dos contaminantes</i>	24
<i>Fig.3- Distribuição dos LNAPLs e DNAPLs nas zonas saturadas e insaturadas do solo</i>	27
<i>Fig.4- Degradação do benzeno</i>	35
<i>Fig.5- Degradação de PAHs por clivagem, meta e orto, do anel aromático</i>	36
<i>Fig.6- Biodegradação anaeróbia de anéis aromáticos de clorobenzeno</i>	38
<i>Fig.7- Formação do complexo de Meisenheimer</i>	38
<i>Fig.8- Ciclo do azoto</i>	39
<i>Fig.9- Bactéria com anamoxosoma</i>	40

Fig.10- Mecanismos de detoxicação de metais em bactérias	42
Fig.11- Aceitadores de electrões identificados numa pluma de contaminação	45
Fig.12- Degradação de contaminantes orgânicos e correspondente aumento de biomassa bacteriano....	56
Fig.13- Efeito da concentração do substrato e da sua toxicidade na taxa de crescimento.....	57
Fig.14- Curvas cinéticas de degradação de substâncias metabolizadas por bactérias.....	59
Fig.15- Mecanismos de fitorremediação: degradação, retenção ou transferência.	64
Fig.16- Sistema de bioventilação típico conseguido pela extracção lenta de vapores.....	82
Fig.17- Unidade de biosparging com extracção de vapores, SVE.....	83
Fig.18- Biobarreira.....	87
Fig.19-Tratamento biológico de líquidos com pré e pós tratamento....	90
Fig.20- Operações num reactor batch sequenciado (SBR)	91
Fig.21- Processo PACT.....	92
Fig.22- Filtro trickling com meio de gravilha e esquema dos seus componentes.	93
Fig.23- Construção de uma torre biológica.....	94
Fig.24- Biorreactor de Leito Fluidizado.....	94
Fig.25- Biorreactor de disco rotativo.....	95
Fig.26- Biorreactor anaeróbio de tipo UASB.....	96
Fig.27- Sistema lagunar com células em série.....	97
Fig.28- Sistema de tratamento em reactor de fase heterogénea (slurry)	99
Fig.29- Tratamento de Terra (landfarming)	100
Fig.30- Construção de um sistema de Landfarming com recolha de lexiviados	101
Fig.31- Perfil de operação de Landfarming típica com recolha de lexiviados e voláteis.....	102
Fig.32- Variação de temperatura, em °C, no interior de uma pilha de compostagem.....	103
Fig.33- Pilha de compostagem windrows.....	104
Fig.34- Pilha estática de compostagem.	104
Fig.35- Reactores de compostagem.....	105
Fig.36- Alguns contaminantes que podem ser degradados pela compostagem.	105
Fig. 37- Sistema de biopilhas típico.....	107
Fig.38- Imagem e esquema de um biofiltro a descoberto em que o meio sólido é o solo.....	108
Fig.39- Filtro biopercolador típico.....	108
Fig.40- Ambiente de desenvolvimento do Macromedia Flash 8.	117
Fig.41- Ambiente de desenvolvimento do Macromedia Dreamweaver 8.	117
Fig.42- Gráfico das características da amostra de indivíduos que responderam ao questionário.	118
Fig.43- Gráfico do conhecimento sobre Biorremediação dos indivíduos inquiridos.	121
Fig.44- Gráfico dos resultados da avaliação geral do CD pelos indivíduos inquiridos.	122
Fig.45- Gráfico do tempo que os indivíduos inquiridos despenderam a visualizar o CD.	122
Tabela 1: Estados de oxidação e destino ambiental em compostos inorgânicos.....	33
Tabela 2: Principais reacções de detoxicação.....	34

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO

A preocupação com o relacionamento entre a ciência e o público, especificamente o que a população em geral sabe de ciência e o que pensa dela, não é recente. Já nos anos cinquenta Charles Percy Snow, no seu ensaio *“The Two Cultures”*, lamentava a ausência da ciência do leque de saberes esperado dos cidadãos (Costa *at al.*, 2002). Nos anos oitenta este assunto adquire especial acuidade e torna-se alvo de preocupação e intervenção política no Reino Unido, depois da publicação de um relatório da “Royal Society” onde foram identificadas reduzidas taxas de conhecimento e de confiança na ciência entre a população britânica, exortando-se o governo a tomar medidas. Desde então por toda Europa, têm-se multiplicado os instrumentos de diagnóstico (inquéritos à cultura científica, estudos, grupos de trabalho) e as iniciativas de intervenção (promoção do ensino experimental nas escolas, da formação em jornalismo científico, da edição de publicações científicas, criação de museus e centros de ciência, etc.). Em Portugal, a decisão tomada em 1995 pelo Ministério da Ciência de aplicar 5% do orçamento para promover o desenvolvimento da cultura científico-tecnológica, chega após anos caracterizados por escassas actividades nesta área (Report from the Expert group Benchmarking the Promotion of RTD culture and Public Understanding of Science, 2002).

Em Março de 2000, o Conselho Europeu de Lisboa, delineou como meta tornar a Europa a mais dinâmica e competitiva sociedade do conhecimento do mundo até 2010. Os líderes dos estados e governos consideraram o desenvolvimento científico-tecnológico uma

área essencial da política europeia e o envolvimento dos cidadãos na sociedade do conhecimento a chave da democratização (Special Eurobarometer 224, 2005).

Algumas das principais preocupações sociais encontram-se actualmente ligadas à problemática da sustentabilidade da biosfera (as alterações climáticas, o esgotamento das fontes energéticas tradicionais, a poluição, a desertificação dos solos, etc.). Uma fatia considerável do problema da sustentabilidade resulta das quantidades de resíduos que o Homem liberta na natureza. A biotecnologia ambiental, nomeadamente a biorremediação, tem elevado potencial como estratégia de limpeza dos ecossistemas, actuando sobre um vasto leque de contaminantes orgânicos e inorgânicos. O conhecimento público desta problemática e a divulgação das vantagens da biorremediação torna-se determinante para o seu desenvolvimento e implementação.

Os cientistas têm de reconhecer que a aceitação cega do público do seu trabalho não é garantida. Como consequência, eles e os seus corpos representativos, devem examinar os seus papéis no campo político e social (Castelfranchi, 2002). A ciência como instituição parece ter compreendido que a comunicação interna entre cientistas é certamente fundamental para a ciência, mas a comunicação com o público também se tornou hoje uma necessidade, não apenas para o público mas para a própria ciência. (Castelfranchi, 2002).

Os profissionais da informação científica precisam de escolher qual o media que pretendem utilizar na sua comunicação com o público. A televisão e a Internet são os meios de comunicação que permitem alcançar maiores audiências fora do domínio da difusão científica formal, mas no campo da comunicação científica mais e mais atenção parece estar centrada no uso dos *media* mais recentes e interactivos, como a Internet (Koolstra *at al.* , 2006). As ferramentas interactivas têm várias vantagens: são acessíveis para a maioria da população (em países desenvolvidos), a informação fica disponível ao ritmo do

utilizador (ao contrário do que acontece com a televisão) e é o meio informativo preferido pela população jovem quando procura informação científica (Koolstra *at al.* , 2006).

No cenário europeu poucos estudos foram direccionados para a forma como os *media* transmitem a informação científica, tanto em quantidade como em qualidade. Parece ser opinião corrente que os *media* trivializam as notícias científicas podendo mesmo contribuir para um certo grau de desinformação. Esta situação tem consequências na imagem e compreensão do mundo científico, podendo explicar a opinião generalizada de que existe uma grande quantidade de informação disponível sobre ciência mas, paradoxalmente, o público sente-se pouco informado. O resultado pode ser a impressão que a ciência é um fenómeno interessante, curioso e irrelevante no nosso dia-a-dia. Talvez seja esta uma das razões para a falta de vocação científica que se regista na juventude europeia (Report from the Expert group Benchmarking the Promotion of RTD culture and Public Understanding of Science, 2002).

Este trabalho propôs-se divulgar as aplicações da biotecnologia ambiental, em particular na área da biorremediação, através de uma ferramenta interactiva com o objectivo de:

- Aumentar o número de jovens do ensino secundário que optam por uma carreira na área da biotecnologia ambiental, desenvolvendo o seu interesse pela formação/investigação em biorremediação. Deste modo seria possível colmatar a presente lacuna de recursos humanos especializados nesta área;

- Facilitar o acesso de informação aos alunos do ensino secundário sobre biorremediação na língua portuguesa (actualmente escassa), caracterizando o seu estado actual e as suas potencialidades enquanto tecnologia de remediação ambiental;

- Contribuir para a educação científica das populações, em particular dos jovens, na

temática da sustentabilidade e na premência de apostar em tecnologias que se enquadrem na busca dessa sustentabilidade, como é o caso da biorremediação.

O enquadramento teórico relativo às tecnologias de biorremediação foi estruturado em cinco capítulos. No capítulo II é discutida a importância da biorremediação no contexto actual; no capítulo III são referidos alguns conceitos básicos sobre os contaminantes e o seu destino nas superfícies ambientais; no capítulo IV salientam-se as potencialidades dos diversos grupos de organismos na biodegradação/biotransformação de contaminantes; no capítulo V são descritas as principais técnicas de biorremediação e as suas aplicações; e por fim, no capítulo VI, são discutidas as condicionantes científicas e não-científicas da tecnologia.

No final do trabalho são apresentadas as metodologias seguidas na sua execução, discutidos os seus resultados, a sua relevância e as perspectivas de desenvolvimento da biorremediação.

CAPÍTULO II: A BIORREMEDIAÇÃO NO CONTEXTO ACTUAL

O desenvolvimento tecnológico e industrial que caracteriza as sociedades actuais tem explorado exaustivamente os recursos naturais, lançando no ambiente uma panóplia crescente de resíduos e compostos sintéticos. Só na Europa são produzidos cerca de 5 biliões de toneladas de resíduos sólidos por ano (Thassitou e Arvanitoyannis, 2001). Portugal é um dos países com maiores taxas de produção de lixo da Europa, cerca de 400 kg per capita por ano (Quercus, 2006). A *Global Assessment of Soil Degradation* (GLASSOD) estimou que, entre 1940 e 1990, foram degradados em todo o Mundo $1,97 \times 10^9$ ha de solo, o que representa 15% da área terrestre (excluindo a Antártida). Actualmente 65% dos terrenos agrícolas têm solos degradados, especialmente nas zonas periféricas urbanas, o que significa que a sua produtividade poderá estar em causa (WorldResources, 2000-2001). Os resíduos lançados na atmosfera, por outro lado, são responsáveis por alterações climáticas a nível global e por cerca de 40% da poluição das águas costeiras europeias. Os ecossistemas de água doce são os mais afectados, com 20% das espécies de peixe extintas ou ameaçadas de extinção. A produtividade marinha também diminuiu devido ao aquecimento dos mares, alteração dos padrões de circulação das correntes oceânicas e alterações na concentração de CO_2 (WorldResources, 2000-2001).

A deslocação massiva dos compostos químicos dos seus reservatórios naturais e a introdução de compostos sintéticos, frequentemente recalcitrantes, põem em causa a capacidade de auto-regulação da Biosfera. Aparentemente, a quantidade de contaminantes

está a exceder os limites da capacidade de recuperação dos ecossistemas. A falta de água potável, factor limitante do desenvolvimento económico e social, é um dos principais desafios que, previsivelmente, se colocará às populações no século XXI. As populações humanas apropriam-se actualmente de mais de metade do total de água doce disponível nos rios e aquíferos e estima-se que em 2025 as necessidades aumentem para mais de 70% (WorldResources, 2000-2001). A água que regressa aos rios está carregada com resíduos humanos, químicos agrícolas e industriais, frequentemente tóxicos, que se dispersam pelos ecossistemas.

Na resolução deste problema ambiental, a biotecnologia desempenha um papel fundamental, nomeadamente a biorremediação, que preconiza a limpeza do meio ambiente por processos biológicos. Esta tecnologia tem a vantagem de ser: ambientalmente segura, (uma vez que simula processos naturais); ser aplicável a uma vasta gama de contaminantes; ser aplicável a contaminantes muito diluídos; poder ser acoplada a outros métodos de tratamento físicos e químicos; ser aplicável *in situ*; e ser económica (1Kg de resíduos custa, em termos de incineração, aproximadamente 0,5 €; a mineralização biológica custa, geralmente, 10 vezes menos) (Grommen e Verstraete, 2002).

A aplicação e desenvolvimento deste ramo da biotecnologia estão dependentes da resolução de condicionantes científicas e não-científicas. As principais condicionantes científicas são as condições de biodegradação/biotransformação *em campo* (especialmente a biodisponibilidade dos contaminantes) e as dificuldades de controlo do processo. As condicionantes não-científicas resultam do carácter social da ciência enquanto instituição, nomeadamente, a regulamentação, a investigação, os recursos humanos e os factores económicos.

CAPITULO III: OS CONTAMINANTES E O SEU DESTINO AMBIENTAL

Antes de nos debruçarmos sobre a descrição das tecnologias e das aplicações ambientais da biorremediação vamos explicitar alguns conceitos básicos relativos aos contaminantes.

Contaminante é qualquer substância, natural ou sintética, introduzida pelo Homem que, pela sua localização e níveis de concentração, prejudica o ambiente e os seres vivos (Mason, 1996). A importância atribuída a uma substância particular está, no entanto, ligada à sua toxicidade para o próprio Homem (princípio que tem presidido à elaboração das listagens de substâncias perigosas por parte das entidades competentes em todo o Mundo).

As propriedades intrínsecas de um contaminante que o tornam perigoso para a biosfera são a toxicidade, a baixa degradabilidade, a reactividade, a tendência para bioacumulação, a tendência para bioampliação e a capacidade de dispersão no meio (Alloway, 1993; Mason, 1996). A taxa de concentração, a dimensão da área contaminada e o grau de exposição do organismo alvo são factores, igualmente importantes, que dependem das características das fontes de contaminação.

As fontes de contaminantes são muito diversificadas. Algumas são acidentais, como os derrames petrolíferos, a ruptura de condutas, acidentes em centrais nucleares ou fogos florestais, mas a sua maioria resulta de descargas intencionais que envolvem o consumo dos combustíveis fósseis, a agricultura industrializada e o modo de vida urbano.

No caso da fonte ser localizada, o impacte do contaminante está inicialmente

restrito às imediações da descarga. Forma-se uma pluma de dispersão, no sentido do fluxo,

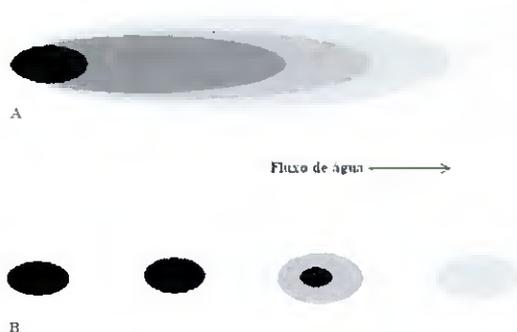


Fig.1- Pluma de migração de fontes localizadas de contaminantes.

Apresenta uma configuração diferente no caso da fonte ser contínua (A) ou descontínua (B) (adaptado de LaGrega *at al.*, 2001)

com uma configuração que depende da descarga ser contínua ou descontínua no tempo (fig. 1). Neste tipo de fontes há um padrão de descarga médio, o que facilita o controlo e o tratamento do meio contaminado.

As estações de tratamento de esgotos e de resíduos industriais são

exemplos de fontes localizadas de contaminantes.

Nas fontes móveis ou difusas os contaminantes são descarregados no ambiente em concentrações extremamente baixas. Os seus efeitos só surgem depois de se concentrarem no ambiente, o que implica a sua persistência ao longo do tempo (McEldowney *at al.*, 1993). Os contaminantes atingem a biosfera de modo aleatório e não é possível estabelecer qualquer padrão de descarga, seja em termos de quantidade, frequência ou composição dessas descargas. O controlo é mais difícil.

A deposição atmosférica é a principal fonte difusa. As substâncias encontram-se na atmosfera na forma de gases, aerossóis ou adsorvidas em partículas e são depositadas pela acção das chuvas (deposição húmida), e do vento (deposição seca). Outros exemplos são o escoamento da água das chuvas sobre campos agrícolas e os acidentes com produtos químicos ou combustíveis (Rocha *at al.*, 2004).

1. Destino ambiental dos contaminantes

O percurso de um contaminante desde a fonte até ao alvo está condicionado pela taxa de emissão na fonte, pelo tipo de fonte, pelos mecanismos de transporte através das superfícies ambientais e pelos mecanismos de retardação e/ou de atenuação (LaGrega *et al.*, 2001; Mason, 1996).

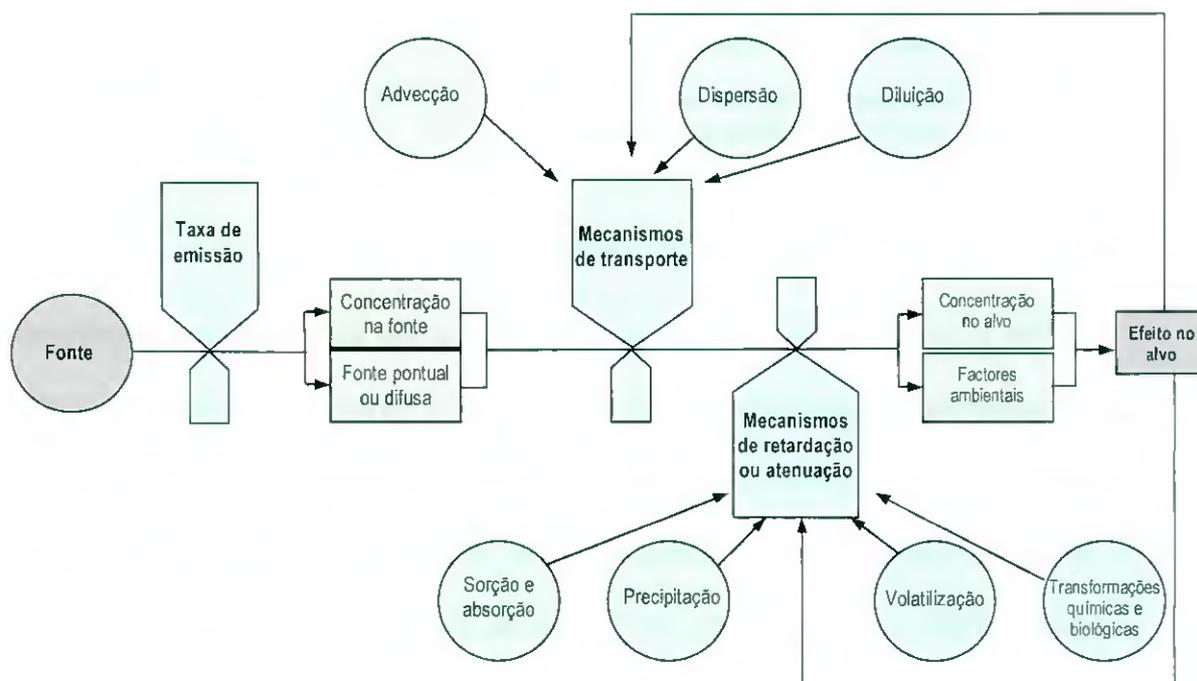


Fig.2 – Condicionantes do destino ambiental dos contaminantes (adaptado de LaGrega *et al.*, 2001 e Mason, 1996)

1.1. Mecanismos de transporte de contaminantes

Os mecanismos de transporte que predominam na zona superficial da Terra, no caso dos contaminantes solúveis e/ou voláteis, são a adveção, a dispersão e a difusão. O transporte dos contaminantes em fase líquida não aquosa tem características distintas e particulares que serão consideradas mais adiante.

Advecção

A advecção é o transporte de solutos dissolvidos ao longo das linhas de corrente através de um meio poroso. O fluxo de água, de acordo com a *Lei de Darcy*, resulta da diferença na força hidráulica total (energia da água) de um ponto para outro:

$$q = kiA$$

q é a taxa do fluxo (cm³/s)

k é a condutividade hidráulica (cm/s)

i é o gradiente hidráulico (cm/cm)

A é a área da secção transversal, medida perpendicularmente à direcção do fluxo (cm²)

A *condutividade hidráulica* (ou permeabilidade) é uma constante que representa a capacidade de um material transmitir água. O *gradiente hidráulico*, i , descreve a taxa de perda de força (ou energia) do fluxo de água através do material poroso e é definido algebricamente como:

$$i = (h_1 - h_2) / l$$

h_1 é a força no local 1 (cm)

h_2 é a força no local 2 (cm)

l distância no meio poroso (cm)

A velocidade linear média das águas subterrâneas é normalmente muito baixa (alguns metros por ano), o que significa que os nutrientes e aceitadores de electrões, essenciais para a biorremediação, são, para todos os efeitos, utilizados instantaneamente. Este conceito é importante para a modelação de processos naturais de biorremediação (LaGrega *at al.*, 2001; Lima e Mota, 2003).

Dispersão

O fluxo de água ao encontrar as partículas sólidas do meio poroso altera o seu curso para a direita ou esquerda. Este processo repete-se milhões de vezes e o resultado é a mistura de fluxos de água. Este mecanismo é conhecido por dispersão.

O efeito mais importante da dispersão é o aumento da massa de água contaminada.

Difusão

Os contaminantes, na água ou no ar, tendem a mover-se das áreas de elevada concentração para áreas de pequena concentração. A quantidade de contaminante que passa através da unidade de área por unidade de tempo é dada pela *Lei de Fick*:

$$J = -D(dC/dx)$$

<p>J é o fluxo (mol/cm².s);</p> <p>D é o coeficiente de difusão (cm²/s);</p> <p>C é a concentração (mol/cm³);</p> <p>x é o comprimento da direcção do movimento (cm)</p>

A difusão tem um papel importante na contaminação da atmosfera e na contaminação de aquíferos em camadas pouco permeáveis, como é o caso das argilas. Estas camadas constituem uma fonte de contaminação lenta do aquífero, a longo prazo, devido à difusão dos contaminantes retidos (LaGrega *at al.*, 2001; Lima e Mota, 2003; Thibodeaux, 1996).

Fase líquida não Aquosa

O movimento de líquidos imiscíveis na água através da zona vadose do solo e da zona abaixo do lençol freático é um aspecto importante da hidrologia dos contaminantes. Estes líquidos são frequentemente chamados líquidos de fase não aquosa (*nonaqueous phase liquids*) ou *NAPLs*. Eles podem ter densidades superiores à água, *DNAPLs* (*dense nonaqueous phase liquids*) (como por exemplo os solventes clorados), ou densidades menores do que a água *LNAPLs* (*light nonaqueous phase liquids*) (como por exemplo os combustíveis). Geralmente são parcialmente solúveis em água, originando uma fase solúvel e outra não solúvel, e componentes voláteis (Fetter, 1999; Divine, 2001). Uma parte da fase não solúvel é retida pelas partículas sólidas, numa fase residual (devido a fenómenos associados a forças capilares) na zona vadose do subsolo. Esta fase residual pode vir a

ocupar 10-20% do espaço poroso com preferência para os poros de maior diâmetro, onde a resistência capilar é menor (Lima e Mota, 2003). Por isso, a sua distribuição no subsolo quase nunca é uniforme. Desde que exista um fluxo suficiente da fase imiscível, a sua migração pode continuar até atingir a franja capilar. Aí, os líquidos imiscíveis podem dispersar-se lateralmente, acumulando-se até atingirem uma espessura que lhes permita vencer as forças capilares críticas, para depois migrarem até ao lençol freático. Os LNAPLs permanecem no lençol freático, os DNAPLs penetram no aquífero deixando um rasto de fase residual.

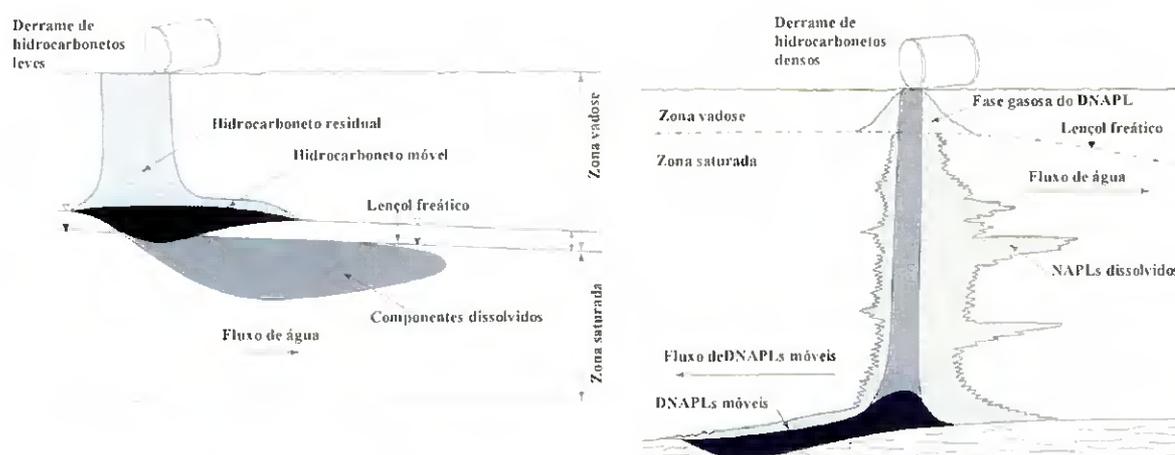


Fig.3- Distribuição dos LNAPLs e DNAPLs nas zonas saturadas e insaturadas do solo (adaptado de Fetter, 1999)

A solubilidade de um composto nos lípidos relativamente à sua solubilidade na água é designada *coeficiente octanol-água* (K_{ow}) e é determinada pela relação de equilíbrio da concentração do contaminante num sistema constituído por octanol e uma solução aquosa.

Um valor elevado de “lipofilicidade” facilita o transporte passivo através das membranas celulares e a bioacumulação em lípidos metabolicamente inertes no interior dos organismos. O factor de *bioconcentração* (BCF) é a razão entre a concentração de equilíbrio de uma substância no organismo e a sua concentração na água. Este factor representa a quantidade de contaminante que provavelmente se acumula nos organismos.

Substâncias com $K_{ow} < 500$ não são provavelmente bioacumulativas enquanto que

com valores ≥ 1000 são bioacumulativas, são adsorvidas nos solos e são persistentes ambientalmente (McEldowney *et al.*, 1993).

1.2. Mecanismos de retardação dos contaminantes

A retardação refere-se aos processos que impedem o transporte dos contaminantes removendo-os do estado livre ou imobilizando-os. É importante notar que os contaminantes imobilizados não são transformados e o processo é reversível quando a concentração declina acentuadamente.

Sorção

A sorção engloba mecanismos de adsorção e de absorção. A adsorção é o mecanismo de sorção predominante e pode revestir-se de diferentes formas, adsorção física ou química, troca iónica ou efeito hidrofóbico.

Adsorção física ou química

Na adsorção química (adsorção forte e *específica*), a substância adsorvida reage com a superfície do adsorvente havendo a formação de ligações químicas. Neste tipo de adsorção forma-se uma única camada de substância adsorvida na superfície do adsorvente. Por sua vez, na adsorção física (adsorção mais fraca e *não específica*) não há a formação de ligações químicas. As moléculas são adsorvidas através de forças de van der Waals. Para este tipo de adsorção podemos ter várias camadas de moléculas adsorvidas (Fetter, 1999; Alexander, 1999).

Troca iónica

A troca iónica refere-se à troca entre os contra-íons que balanceiam a carga superficial, nos colóides do solo, e os contaminantes iónicos, na solução do solo.

Os minerais argilosos e os colóides húmicos têm carga negativa, e portanto atraem cátions como o H^+ , Ca^{++} , K^+ ou Mg^{++} na sua superfície. Uma molécula contaminante carregada positivamente pode deslocar um destes iões da superfície da argila ficando retida pelo mineral- *troca catiónica* (Alexander, 1999). A *troca aniónica* ocorre quando os aniões estão ligados a colóides do solo carregados positivamente. De modo geral, quando o pH aumenta, aumentam as cargas negativas e diminuem as cargas positivas do complexo coloidal do solo, verificando-se o contrário quando o pH diminui.

Em geral, a maioria dos solos tende a ter, de longe, maior capacidade de troca catiónica do que de troca aniónica.

Efeito hidrofóbico

A solubilidade dos compostos orgânicos na água é função da sua atracção pelas moléculas polares da água. Esta atracção depende sobretudo da polaridade das próprias moléculas orgânicas. Os compostos hidrofóbicos existem como espécies electricamente neutras com diferentes graus de polaridade. Podem estar dissolvidos em muitos solventes orgânicos não polares mas ter uma pequena solubilidade na água. Quando dissolvidas na água estas moléculas tendem a ligar-se a superfícies que são menos polares do que a água, geralmente a superfícies de minerais ou sólidos orgânicos (Fetter, 1999).

A capacidade de sorção de um solo, ou *coeficiente (Ka)*, pode ser avaliada experimentalmente pela determinação da concentração de equilíbrio do contaminante na fase sólida e na fase líquida. Nos aquíferos, a adsorção inibe a lexiviação dos contaminantes para os lençóis de água. O *potencial de lexiviação* de um contaminante, uma vez sorvido, pode ser avaliado pela simples extracção experimental numa fina camada de cromatografia.

Entre os *modelos* existentes para descrever a adsorção, a equação mais utilizada é a **Equação de Langmüir** sendo a sua forma mais comum a seguinte (Araújo, 2000):

$$X/M = \frac{K_L C_e b}{1 + K_L C_e}$$

X/M é a massa de contaminante adsorvido por unidade de massa do adsorvente (mg kg^{-1});
 C_e é a concentração de equilíbrio do contaminante (mg L^{-1});
 K_L é uma constante relacionada a energia de ligação contaminante-adsorvente, e
 b é a quantidade máxima de contaminante que pode ser adsorvida. (mg kg^{-1}).

Precipitação

Quando a concentração de um contaminante solúvel (soluto) excede a sua solubilidade este precipita sob a forma sólida. A precipitação também pode ocorrer quando uma reacção química transforma o soluto numa forma menos solúvel. Estas reacções resultam frequentemente da adição de substâncias precipitantes que alteram o estado de oxidação/redução ou o pH.

A precipitação é particularmente aplicável a metais pesados como o níquel, o mercúrio, o crómio e o chumbo (LaGrega *at al.*, 2001).

1.3. Mecanismos de atenuação dos contaminantes

Os mecanismos de atenuação referem-se à remoção ou transformação irreversível do contaminante por processos físico-químicos ou biológicos.

Volatilização

A volatilidade de um contaminante (tendência de passar à fase de vapor) pode ser avaliada, simplesmente, pela sua pressão parcial em condições padrão. Compostos com altas pressões de vapor ($> 0,01\text{mmHg}$), isto é, compostos voláteis, são removidos dos solo

mais rapidamente e acumulados na componente atmosférica.

Quando uma substância volátil está dissolvida em água, a condição de equilíbrio pode ser descrita pela *Lei de Henry* (que é uma forma especial da Lei de Raoult), ou seja, a pressão parcial do gás sobre o líquido é proporcional à sua concentração no líquido (LaGrega *et al.*, 2001):

$$X = KP$$

X = fracção molar de equilíbrio do gás em solução (sua solubilidade);
P = pressão parcial na fase gasosa;
K = constante de proporcionalidade, ou constante da lei de Henry.

Transformações bióticas vs abióticas

As transformações abióticas dos contaminantes orgânicos são geralmente desprezáveis e o produto resultante é similar, na estrutura e toxicidade, ao seu composto precursor. Pelo contrário os processos biológicos, que envolvem enzimas como catalizadores, provocam modificações extensivas que, frequentemente, levam à mineralização dos contaminantes. São também economicamente mais favoráveis porque ocorrem em atmosfera e temperatura próximas das ambientais (Alexander, 1999; Zehnder, 1994; Lima e Mota, 2003).

As transformações biológicas geralmente têm lugar no interior dos organismos, após a sua captação do meio ambiente. Em alguns casos, no entanto, o organismo sintetiza enzimas que liberta no meio ambiente para degradação dos substratos.

Os principais processos de transformação incluem a hidrólise química ou biológica e as reacções de oxirredução.

Hidrólise

Os contaminantes podem reagir com a água resultando na clivagem de ligações

químicas. Este processo é frequentemente descrito como uma troca entre OH⁻ e um grupo aniónico X do composto contaminante, resultando na sua decomposição:



A hidrólise permite quebrar ou alterar alguns grupos característicos que conferem perigosidade aos contaminantes. É especialmente importante no caso dos compostos clorados (desalogenação) uma vez que não são transformados por outros processos, nomeadamente por biodegradação.

A taxa de hidrólise pode ser usada como medida da persistência de um composto. É definida como o espaço de tempo necessário para hidrolisar metade do composto inicial (t_{50}). É afectada por muitos factores incluindo temperatura, pH, solubilidade e volatilidade, sendo geralmente determinada experimentalmente. Compostos com t_{50} inferior a 30 dias não colocam perigo ambiental significativo (McEldowney *et al.*, 1993).

Oxirredução

As reacções químicas de oxirredução podem ocorrer com substâncias orgânicas e inorgânicas e envolvem a troca de electrões. As reacções de oxirredução não envolvem necessariamente o oxigénio uma vez que existem muitos outros transportadores de electrões.

A maior parte das substâncias orgânicas são degradadas por oxirredução biológica (correntemente conhecida como biodegradação), induzida pela actividade metabólica dos microrganismos nativos.

A biodegradabilidade de uma substância depende em grande parte da sua estrutura molecular. Uma degradabilidade lenta está associada à presença de substituintes halogenados, elevada ramificação, baixa solubilidade na água e variação de cargas

atómicas (LaGrega *et al.*, 2001).

Os compostos resistentes a biodegradação são referidos como recalcitrantes ou persistentes. A recalcitrância é a resistência de uma substância a qualquer grau de biodegradação em quaisquer condições. A persistência é definida como a resistência da substância a biodegradação em condições definidas.

A oxirredução de solutos inorgânicos interfere com as suas propriedades de solubilidade, mobilidade, toxicidade, etc., alterando o seu destino ambiental (tabela 1).

Tabela 1: Estados de oxidação e destino ambiental em compostos inorgânicos (LaGrega *et al.*, 2001).

Elemento	Ião	Características
Ferro	Fe ³⁺	Baixa solubilidade; O precipitado hidróxido pode adsorver outros metais
	Fe ²⁺	Muito solúvel
Crómio	Cr ⁶⁺	Tóxico; Relativamente móvel
	Cr ³⁺	Precipita como Cr(OH) ₃ ou outra substancia relativamente insolúvel; fortemente adsorvido.
Selénio	Se ⁶⁺	Mais móvel mas menos tóxico
	Se ⁴⁺	Mais tóxico mas menos móvel

2. Reacções de detoxicação de alguns contaminantes

A *detoxicação* refere-se às transformações das moléculas contaminantes que as tornam inócuas, ou menos perigosas, para uma ou mais espécies susceptíveis. A hidrólise e a oxidação estão entre as reacções de detoxicação, no entanto, este termo inclui qualquer reacção que permita a remoção ou inactivação de grupos reactivos das moléculas contaminantes. Na tabela 2 estão representadas algumas das principais reacções de detoxicação.

Tabela 2: Principais reacções de detoxicação (adaptado de Alexander, 1999).

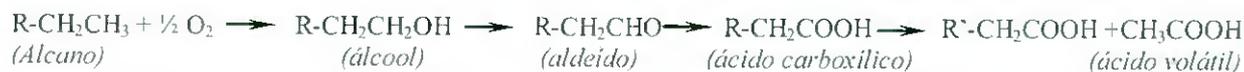
Reacção de detoxicação	Descrição
Hidrólise	Clivagem de ligações químicas em contaminantes devido à acção de moléculas de água.
Hidroxilação	A adição de grupos OH a uma molécula aromática ou alifática.
Desalogenação	A remoção de um grupo halogéneo por enzimas designadas desalogenases em contaminantes. Estas desalogenações podem envolver substituição do halogéneo por H (desalogenação redutiva) ou por OH (desalogenação hidrolítica) ou pode resultar na remoção do halogéneo e de um H adjacente (desidrodesalogenação). O halogéneo é libertado como cloreto, fluoreto, brometo ou iodeto inorgânico.
Desmetilação (ou outras dealquilações)	Muitos pesticidas contêm grupos metilo, ou outros alquilo. Estes podem estar ligados a N ou O. Uma desalquilação N- ou O- frequentemente resulta na perda da actividade do pesticida.
Metilação	A adição de grupos metilo (reacção inversa da desmetilação) pode inactivar fenóis tóxicos.
Nitroredução	Os compostos azotados são perigosos para muitos tipos de organismos, tanto superiores como inferiores. Estes tomam-se menos tóxicos por redução do grupo nitro a grupo amina.
Desaminação	A perda do grupo amina pelo herbicida metanitron origina um produto que não é tóxico para as plantas.
Clivagem éter	A clivagem das ligações éter (C-O-C) em alguns herbicidas fenoxil retira a fitotoxicidade da molécula.
Conversão de nitrilo a amida	A conversão do 2,6-diclorobenzonitrilo (um potente inibidor do crescimento de certas plantas) em 2,6-diclorobenzoamida torna a molécula inactiva.
Conjugação	A conjugação envolve uma reacção entre um intermediário vulgar de uma via metabólica natural e uma molécula sintética contaminante.

O mesmo tipo de reacção pode ocasionalmente originar produtos mais tóxicos do que os substratos originais, processo designado *activação*. Pode também suceder que o produto se torne inócuo para uma espécie mas prejudicial para uma segunda espécie.

Seguem-se exemplos de reacções de detoxicação de alguns dos principais contaminantes.

a. Detoxicação de Hidrocarbonetos Alcanos

A degradação de alcanos é conduzida por enzimas, monoxigenases, que atacam o grupo metilo para formar um álcool. Este, por sua vez, é oxidado a aldeído e, posteriormente, a ácido carboxílico.



O ácido carboxílico é degradado em seguida por uma β -oxidação da cadeia alifática a um ácido orgânico volátil que, por sua vez, é degradado a CO_2 (Lima e Mota, 2004; Walsh, 1999).

b. Detoxicação de Hidrocarbonetos Aromáticos não Halogenados

A biodegradação dos hidrocarbonetos aromáticos não halogenados ocorre em duas etapas: activação do anel e quebra do anel. A activação envolve a incorporação de uma molécula de oxigénio no anel, designada por hidroxilação do núcleo aromático, levada a cabo por enzimas oxigenases, dando origem à formação de um diol. Este diol é, posteriormente, oxidado a catecol. O catecol é oxidado, ocorrendo a quebra do anel com formação de intermediários que são degradados em ácidos. Estes ácidos são posteriormente utilizados pelo microrganismo no seu metabolismo celular (Lima e Mota, 2004; Walsh, 1999).

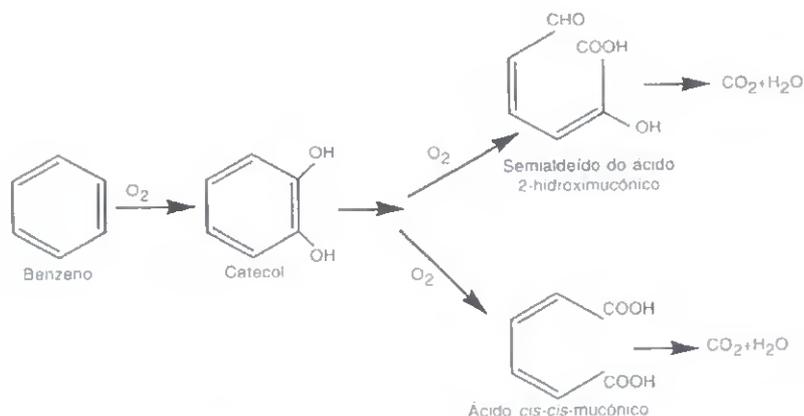


Fig.4- Degradação do benzeno (adaptado de Lima e Mota, 2004).

c. Detoxicação de Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (*Polycyclic Aromatic Hydrocarbons-PAHs*) são degradados por um mecanismo idêntico ao referido para os hidrocarbonetos aromáticos, sendo que o processo se repete em cada um dos anéis.

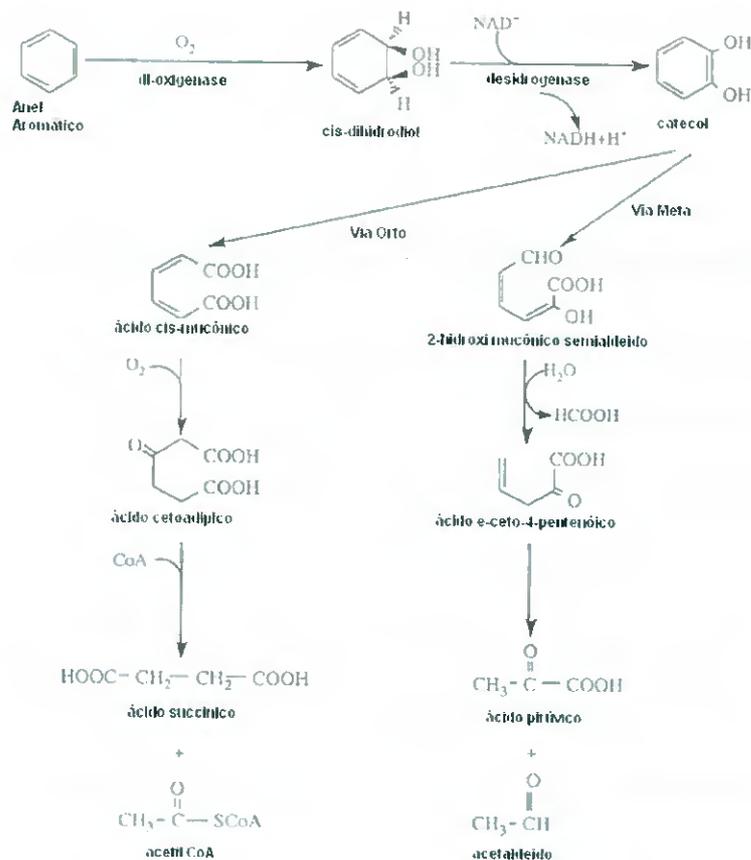


Fig.5- Degradação de PAHs por clivagem, meta e orta, do anel aromático (adaptado de Juhasz e Naidu, 2000).

O catecol formado pode ser oxidado por duas vias. A via *orto* envolve a quebra das ligações entre os átomos de carbono dos dois grupos hidroxilo originando ácido mucônico. Por outro lado, a via *meta* envolve a quebra das ligações entre os átomos de carbono com grupo hidroxilo e o átomo de carbono adjacente. A quebra dos anéis aromáticos origina ácidos e aldeídos que são utilizados pelos microrganismos no seu metabolismo primário. No caso da degradação do Benzo - [a] - pireno, um PAHs com cinco anéis, os produtos resultantes em vez de serem utilizados no metabolismo primário das bactérias intervêm no seu metabolismo secundário (Juhasz e Naidu, 2000).

As enzimas envolvidas na degradação de PAHs podem ser induzidas pela presença de compostos aromáticos de baixo peso molecular (por exemplo, naftaleno). Por esta razão, os PAHs são mais resistentes à degradação microbiana quando não estão presentes

outros compostos aromáticos de baixo peso molecular (Juhász e Naidu, 2000; Singh e Ward, 2004; Lima e Mota, 2004; Walsh, 1999).

d. Detoxicação de Compostos Alifáticos Halogenados

Os compostos alifáticos halogenados, especialmente os clorados, são resistentes a ataques microbianos e têm tendência a persistir no ambiente. Na sua degradação podem ocorrer oxidações, reduções e substituições.

No caso de compostos com cadeias alquila longas, o primeiro passo de degradação é a oxidação do grupo metilo resultando um álcool alifático halogenado. No caso de compostos com cadeias alquila pequenas, o primeiro passo é geralmente uma desalogenação da molécula. O halogéneo (X) pode ser substituído por um grupo hidroxilo (desalogenação hidrolítica):



A presença de halogéneos aumenta o estado de oxidação do átomo de carbono. Quando o número de átomos de halogéneo é elevado, o processo aeróbio torna-se energeticamente menos favorável do que o processo anaeróbio, ocorrendo nesse caso uma desalogenação redutiva. Algumas transformações anaeróbias formam produtos mais voláteis e mais tóxicos que o composto que lhes deu origem. São exemplos a desalogenação redutiva do tricloroeteno (TCE) e tetracloroeteno (PCE) em cloreto de vinilo e vinilideno (Lima e Mota, 2004; Walsh, 1999).

e. Detoxicação de Compostos Aromáticos Halogenados

A degradação de compostos aromáticos halogenados, tal como acontece com os compostos alifáticos halogenados, depende do número e da posição dos halogéneos. Quanto maior o número de halogéneos mais favorável é a desalogenação redutiva. A

biodegradação destes compostos pode iniciar-se pela desalogenação do anel (por oxidação, redução ou substituição) ou pode iniciar-se pela quebra do anel, formando-se compostos alifáticos halogenados.

A desalogenação redutiva foi demonstrada sob condições anaeróbias por bactérias desnitrificantes que utilizam o nitrato, em vez do oxigénio, como aceitador de electrões (Lima e Mota, 2004; Singh e Ward, 2004; Walsh, 1999).

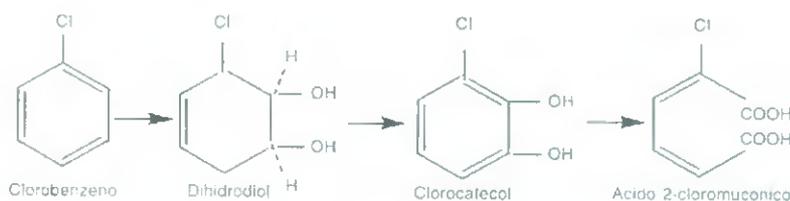


Fig.6- Biodegradação anaeróbia de anéis aromáticos de clorobenzeno (A quebra do anel precede a desalogenação)(adaptado de Lima e Mota, 2004)

f. Detoxicação de Compostos Nitroaromáticos

A reactividade dos compostos nitroaromáticos é determinada pela presença de grupos $-NO_2$ e pelo carácter aromático do anel de benzeno.

Devido à pronunciada deficiência em electrões, os grupos $-NO_2$ são geralmente objecto de transformação redutora originando intermediários altamente reactivos. Esta redução sequencial ocorre em condições aeróbias ou anaeróbias e envolve a acção de oxigenases que removem o oxigénio. Por vezes, os intermediários são resistentes a degradação mas podem ser adsorvidos nas substâncias húmicas do solo.

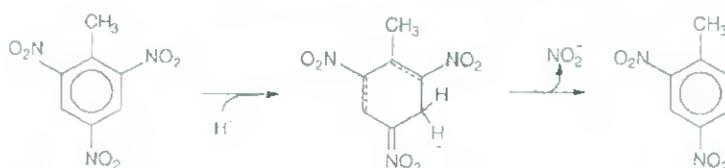


Fig.7- Formação do complexo de Meisenheimer (adaptado de Lewis *at al.*, 2004)

O anel de benzeno pode ser reduzido por bactérias aeróbias pela adição de iões hidrogénio ao anel aromático com a consequente formação de um composto designado *complexo de Meisenheimer* (fig.7).

Os compostos nitroaromáticos podem também sofrer hidrogenação redutora inicial seguida de mineralização do composto. Em alguns casos podem formar-se derivados bifenílicos (Heiss e Knackmuss, 2002; Lewis *at al.*, 2004; Singh e Ward, 2004).

g. Detoxicação de Compostos Inorgânicos Azotados

O amoníaco (NH_3), forma mais reduzida do azoto, é biologicamente oxidado a nitrato através de duas reacções sequenciais que envolvem diferentes espécies de microrganismos aeróbios autotróficos: a oxidação a nitrito (NO_2) (pelos microrganismos *Nitrosomonas* e *Nitrosospira*); e a oxidação deste a nitrato (NO_3) (pelos microrganismos *Nitrobacter* e *Nitrospira*).

Neste processo, designado por **nitrificação**, o NO_2 e NH_3 são usados como fonte de energia e o CO_2 é usado como fonte de carbono (autotrofismo).

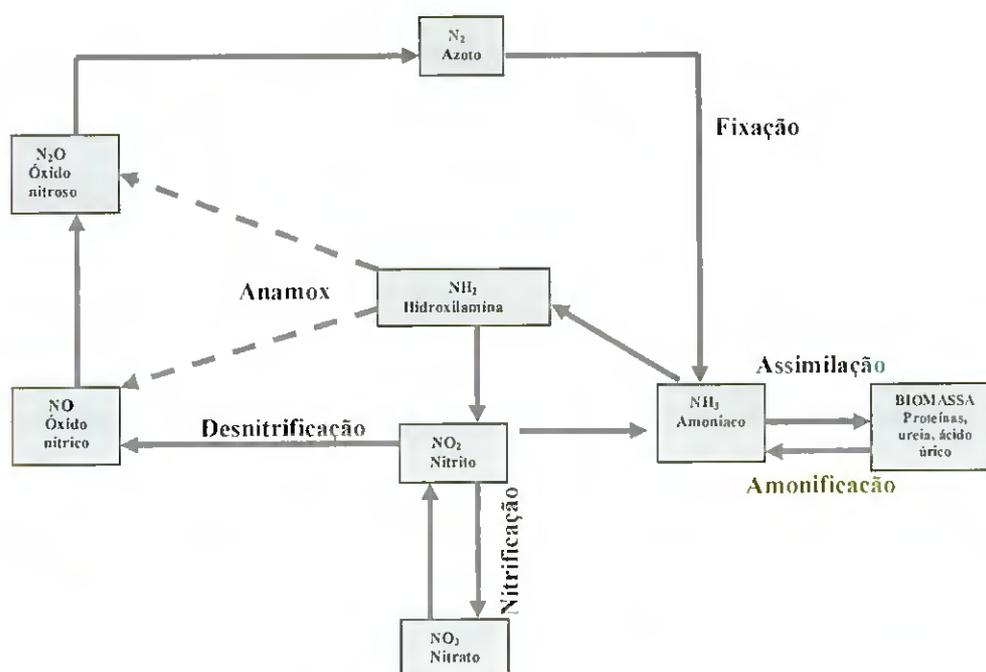
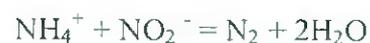


Fig.8- Ciclo do azoto (de acordo com Rick e Stuart, 2001)

O nitrato pode também ser reduzido a azoto molecular (redução dissimilativa de nitrato), por bactérias desnitrificantes que usam uma fonte de carbono orgânico como dador de electrões, processo designado por **desnitrificação**. O nitrito é o intermediário que se acumula com maior frequência nesta série de reacções consecutivas, em resultado da velocidade de redução de nitrato ser superior à de redução de nitrito. O óxido nitroso (N₂O) pode também ser produzido durante a desnitrificação incompleta de nitrato, constituindo uma fonte de poluição gasosa. A maioria das bactérias desnitrificantes são heterotróficas mas algumas espécies, como por exemplo, *Paracoccus*, *Thiobacillus* e *Thiospher*, são autotróficas (Lima e Mota, 2004; Rick e Stuart, 2001).

O amoníaco em condições anaeróbias, é oxidado a hidroxilamina e convertido em azoto molecular, usando o nitrito como aceitador de electrões. Este processo autotrófico é designado por **Anammox** (*anaerobic ammonium oxidation*) e a enzima chave, a hidroxilamina oxidorreductase, está localizada numa estrutura parecida com um organelo

celular designada anamoxosoma (fig. 9). A reacção geral pode ser representada da seguinte forma:



Esta reacção é levada a cabo por um grupo de bactérias, as *Planctomycete*. Duas espécies foram já identificadas, *Candidatus "Brocadia anammoxidans"* e *Candidatus "Kuenenia stuttgartiensis"* (Rick e Stuart, 2001; The online anammox resource, 2006). Estas bactérias constituem um método eficaz de remoção de azoto com elevado potencial no tratamento de águas residuais urbanas.

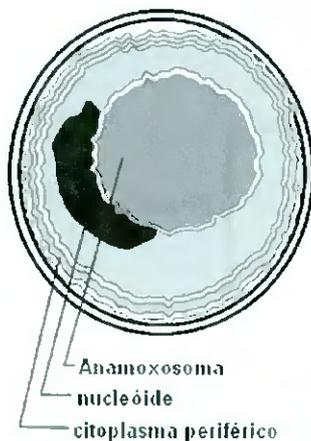


Fig.9- Bactéria com anamoxosoma
(www.anammox.com)

h. Detoxicação de Metais pesados

Os metais e metalóides não podem ser destruídos pelos processos biológicos mas podem ser modificados, mobilizados e detoxicados. Os mecanismos envolvidos incluem a biosorção, a bioacumulação, a redução, a solubilização/oxidação, a precipitação e a metilação.

Biosorção

A biosorção é o processo de captação passiva de metais pela superfície das células, vivas ou mortas, ou por biopolímeros. A biomassa pode ser regenerada no final usando um eluente. A biosorção é um processo caracteristicamente rápido capaz de remover uma elevada percentagem de iões metálicos e outros compostos inorgânicos. (Valls e Lorenzo, 2002; Malik, 2004; Alexander, 1999).

Bioacumulação

A bioacumulação refere-se à captação de metais do meio por um processo activo que requer, portanto, energia metabólica. A captação activa verifica-se em metais como o mercúrio, o níquel, o chumbo o cobre, etc., e depende da actividade de proteínas de membrana. Os metais difundidos para a célula durante o processo de detoxicação ficam ligados a proteínas intracelulares sendo posteriormente incorporados em vacúolos ou outro local intracelular. A bioacumulação é levada a cabo por células activas (Alexander, 1999; Malik, 2004; Cervantes *at al.*, 2001).

Redução

Algumas reacções de redução são catalizadas por enzimas de membrana enquanto que outras resultam da excreção de compostos redutores. A redução pode alterar a toxicidade, a solubilidade na água e/ou a mobilidade do metal. Em alguns casos a forma reduzida é volátil (Valls e Lorenzo, 2002; Johnson e Hallberg, 2005).

Solubilização/oxidação

As oxidações mais interessantes são as dos sulfuretos, ferro (II) e enxofre elementar. As bactérias do género *Thiobacillus* usam o sulfureto e o ferro como fonte de energia libertando H_2SO_4 e ferro (III) que acidificam as águas. Estas e outras reacções de acidificação solubilizam metais como Cd, Hg, Ni, Pb, Al, etc, e tornam-nos mais fáceis de lexiviar (Valls e Lorenzo, 2002; Alexander, 1999).

Precipitação

A precipitação resulta da reacção de um ião metálico solúvel com um produto metabólico. A precipitação dos sulfatos e dos fosfatos são das mais relevantes. Em condições favoráveis, os organismos originam H_2S a partir do sulfato e fosfato inorgânico a partir de compostos fosfatados orgânicos. Por seu lado, o H_2S e o fosfato inorgânico formam derivados insolúveis com muitos iões metálicos (Alexander, 1999).

Metilação

Os produtos da metilação dependem do elemento metálico que aceita os grupos metilo. A maioria das reacções de metilação originam metais mais tóxicos verificando-se, no entanto, algumas que originam formas menos tóxicas (Alexander, 1999).

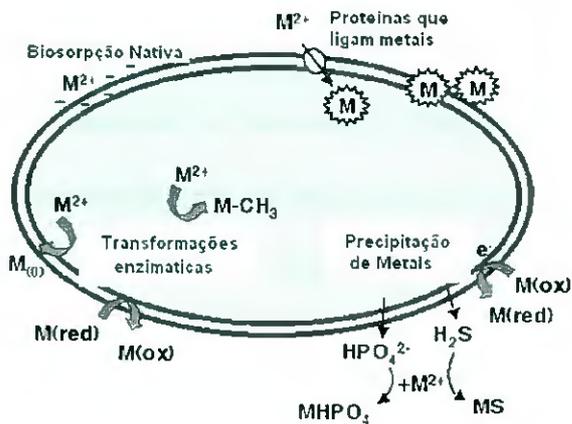


Fig.10- Mecanismos de detoxicação de metais em bactérias como resposta ao elevado stress de iões metálicos (M^{2+}) (de acordo com Valls e Lorenzo, 2002)

3. Factores ambientais

Temperatura

A temperatura influencia o estado físico-químico dos contaminantes, a taxa das reacções químicas, o metabolismo dos organismos e o seu comportamento.

A elevada temperatura favorece a volatilização dos gases e a solubilização dos líquidos sendo excepção o caso de alguns hidrocarbonetos que são mais solúveis a baixa temperatura.

As baixas temperaturas estão associadas com um decréscimo na taxa de biodegradação devido à diminuição da taxa metabólica dos organismos e da taxa de absorção dos contaminantes.

A temperatura é um dos factores mais importantes no crescimento bacteriano. Os microrganismos têm gamas de temperatura óptimas acima e abaixo das quais a actividade microbiana cessa. As bactérias dos solos apresentam actividade a temperaturas situadas entre 5 e 40°C. Nas águas subterrâneas as temperatura são mais constantes do que no solo (Mason, 1996; Lima e Mota, 2003).

Água

A quantidade de água de um solo influencia o transporte de contaminantes, nutrientes, oxigénio e outros aceitadores de electrões através do meio ambiente e do meio para as células. A humidade afecta também a solubilidade e o pH.

A humidade que permite uma biodegradação satisfatória nos solos geralmente encontra-se entre 20% a 80%. Muita água pode ser prejudicial porque dificulta a passagem de oxigénio. Para bactérias aeróbias, obtêm-se valores óptimos de degradação com

humidades entre 50 a 75% (Lima e Mota, 2003; EPA seminars, 1996).

pH

O pH afecta a solubilidade interferindo com a disponibilidade de nutrientes e contaminantes no meio. Como exemplo, os metais solubilizam em meio ácido, enquanto que o fósforo precipita com o ferro e o alumínio nas mesmas condições, precipitando com o cálcio em meio alcalinas. O máximo de disponibilidade é a pH 7.

Os fosfatos, os aminoácidos, os bicarbonatos e a matéria orgânica funcionam como tampões naturais. Estes componentes são mais abundantes nos solos do que na superfície das águas, sendo os solos mais tolerantes aos ácidos do que as águas.

O pH também afecta o crescimento dos organismos remediadores. A maioria dos organismos e microrganismos desenvolve-se bem entre pH 6 e 9 (Lima e Mota, 2003; EPA seminars, 1996), mas existem excepções. É o caso dos microrganismos extremófilos, como por exemplo o *Thiobacillus*, que podem ser isolados de águas com pH 2.

Oxigénio e outros aceitadores de electrões

A disponibilidade de oxigénio influencia o estado de *oxirredução* dos contaminantes, aumentando as taxas metabólicas dos organismos aeróbios e diminuindo a dos anaeróbios. Alguns contaminantes são mais tóxicos com concentrações de oxigénio baixas devido ao aumento da taxa respiratória dos organismos alvo e conseqüente aumento da exposição à tóxina.

Nos aquíferos a heterogeneidade e a baixa solubilidade do oxigénio na água (cerca de 8mg/l) limitam o seu transporte através das zonas contaminadas dificultando a biodegradação. Se as concentrações forem tão baixas que o metabolismo aeróbio esteja limitado o meio é considerado anóxico e, neste caso, outros aceitadores de electrões são

usados na biodegradação, por exemplo, o nitrato, o ferro férrico, o sulfato e o dióxido de carbono (Singh e Ward, 2004; Alexander, 1999; EPA seminars, 1996).

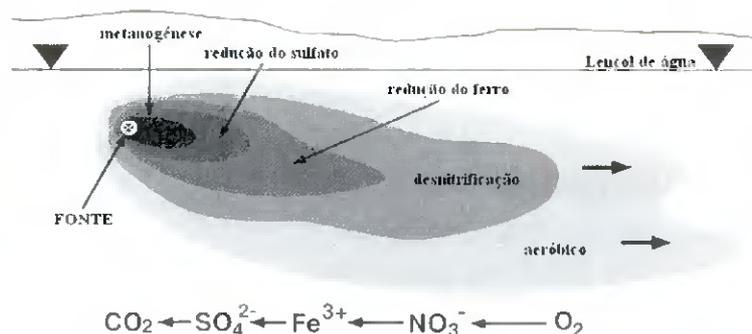


Fig.11- Aceitadores de electrões identificados numa pluma de contaminação (adaptado de Singh e Ward, 2004).

Nutrientes

Os nutrientes são compostos químicos necessários para o crescimento celular mas que não fornecem energia ou carbono aos organismos. Os mais importantes são:

- Azoto, por ser o principal constituinte das proteínas e dos ácidos nucleicos;
- Fósforo, necessário à síntese de ATP, ácidos nucleicos e fosfolípidos;
- Enxofre, que entra na composição dos aminoácidos cisteína e metionina.
- Potássio, necessário a várias enzimas, incluindo algumas envolvidas na síntese proteica;
- Magnésio, que estabiliza os ribossomas, as membranas celulares e os ácidos nucleicos;
- Ferro, devido ao seu papel na respiração celular: é o componente chave dos citocromos e das proteínas de ferro-enxofre envolvidas no transporte de electrões

Os nutrientes determinantes para os microrganismos são o fósforo (P) e o azoto (N), que frequentemente se encontram em condições deficitárias nos locais de biorremediação. As quantidades de P e N necessárias ao metabolismo microbiano são função da

concentração de carbono (C) existente no sistema. De forma geral a razão mássica utilizada é de 100:10:1. (EPA seminars, 1996; Chapelle, 1993). É importante que os nutrientes sejam fornecidos em formas assimiláveis pelos organismos, como é o caso da amónia, ureia, ortofosfato e fosforite.

Concentração do substrato

O substrato é o composto que fornece carbono e energia ao organismo. Pode consistir em carbono orgânico (biótico ou xenobiótico) ou carbono inorgânico.

A disponibilidade do substrato depende, entre outros factores, da sua solubilidade na água e da sua tendência para ser adsorvido na matriz sólida do solo. Se a disponibilidade for muito baixa (concentrações na ordem dos mg/L ou µg/L) pode não suportar o crescimento e o contaminante vai persistir no tempo (Lima e Mota, 2003).

Compostos tóxicos

A presença de compostos tóxicos no meio, por exemplo metais pesados, pode inibir o metabolismo e o crescimento dos organismos num sistema de biorremediação.

Outras características ambientais que influenciam o destino dos contaminantes são a *salinidade* e a presença de *matrizes adsorventes*. Estas últimas condicionam a dimensão da fase residual adsorvida (EPA seminars, 1996).

Modelação do destino ambiental

Os termos “modelação do destino ambiental” ou “simulação do destino ambiental” referem-se ao uso de métodos numéricos para obter soluções de equações diferenciais de transporte dos contaminantes nas superfícies ambientais.

Os processos de transporte ambiental são, por vezes, simulados como um complexo de sistemas individuais de geometria simples, controlados por parâmetros uniformes. Em

problemas de campo, no entanto, a interacção destes processos é mais importante dos que os seus efeitos individuais. O domínio do problema é a três dimensões, as condições fronteira são complexas e os parâmetros críticos podem variar, quer espacialmente, quer temporalmente. A simulação requer conhecimentos de hidráulica de fluidos em matriz heterogénea (solo), dos mecanismos químicos e físico-químicos de interacção com a matriz sólida e, finalmente, da cinética das reacções biológicas. A combinação destes processos num modelo único, mesmo quando simplificado, resulta em formulações numéricas muito complexas e só resolúveis com o apoio da informática. Desta forma, os computadores têm-se transformado numa ferramenta obrigatória na compreensão e gestão da biorremediação.

Alguns exemplos de programas que permitem modelar o destino ambiental dos contaminantes são **MODFLOW**, **MODPATH** e **MT3D**, para contaminantes inorgânicos, **BIOCHLOR**, **BIOSCREEN** e **BIOPLUME**, para compostos orgânicos em solos e aquíferos. (Norris *at al.*, 1993; Zheng *at al.*, 1995; Cordazzo, 2000).

A construção de um modelo matemático de biorremediação desenvolve-se em torno de três componentes (Lima e Mota, 2003):

- a) O primeiro diz respeito às *variáveis de estado* (concentração de contaminantes, de nutrientes, de massa celular, temperatura, etc.).
- b) O segundo refere-se aos *compartimentos* em que essas variáveis são medidas (águas subterrâneas *versus* águas superficiais, águas correntes *versus* águas intersticiais, compartimento intracelular *versus* extracelular, etc.).
- c) O terceiro componente é o conjunto de *fluxos* que descrevem a mudança de compartimento (transporte) e/ou de estado (reacção) das variáveis de estado consideradas.

CAPITULO IV: FISILOGIA E METABOLISMO DOS ORGANISMOS REMEDIADORES

Os ambientes naturais são sistemas complexos de populações em que cada espécie preenche um nicho particular. Estes nichos ambientais constituem a principal fonte de organismos com potencial interesse em biorremediação.

A superfície do solo tem um conteúdo elevado de matéria orgânica devido à produção constante de biomassa pelas plantas e à deposição de resíduos provenientes das plantas, animais, fungos e microrganismos. A matéria orgânica serve de depósito de carbono e energia e como fonte de nutrientes. Assim, a superfície do solo tende a apresentar um elevado número e diversidade de populações de organismos e microrganismos. Cerca de 80% dos contaminantes encontram-se localizados nesta camada dos solos, entre os 0 os 20 metros de profundidade (Susarla *et al.*, 2002), sendo as plantas, os fungos e os microrganismos remediadores eficazes nestas condições. Nos solos sub-superficiais e nos sedimentos dos aquíferos os níveis de matéria orgânica são menores encontrado-se aí menor diversidade de populações do que na superfície do solo. Por outro lado, o aumento da profundidade num perfil de solo continental reduz a disponibilidade de oxigénio. Consequentemente, os organismos aeróbios, como os fungos, tendem a desaparecer e as bactérias que têm capacidade de usar aceitadores alternativos de electrões tornam-se predominantes (Boopathy, 2000).

Em ecossistemas aquáticos, as bactérias e as leveduras parecem ser os

mineralizadores dominantes.

A dinâmica de inter-relação entre as populações reveste-se de elevado interesse porque algumas biodegradações requerem a cooperação de mais do que uma espécie, fenómeno conhecido como sinergismo. Muitos factores de crescimento, como vitaminas, aminoácidos e bases azotadas, essenciais para algumas bactérias (designadas auxotróficas) são excretados pelos heterotróficos dos solos, das águas e dos sedimentos. Duas espécies melindrosas podem coexistir verificando-se que as excreções e produtos de uma estão associados com as necessidades de factores de crescimento da outra, fenómeno conhecido como *sintrofia*. Determinadas reacções verificam-se em misturas de espécies mas não em culturas puras (Alexander, 1999).

O conhecimento da diversidade trófica dos organismos é fundamental para a sua aplicação nos processos de biorremediação. Na base desta biodiversidade metabólica estão subjacentes diferentes estratégias da célula em termos de:

Fontes de energia:

- Fototrofismo (luz como fonte energética)
- Quimiotrofismo (ligações químicas como fonte energética)

Fontes de electrões

- Organotrofismo (fonte de electrões de origem orgânica)
- Litotrofismo (fonte de electrões de origem inorgânica)

Fontes de carbono

- Heterotrofismo (fonte de carbono de origem orgânica)
- Autotrofismo (fonte de carbono de origem inorgânica, CO₂ ou CO)

Os organismos quimioheterotróficos são os mais comumente usados nos sistemas de tratamento biológico de resíduos perigosos porque são capazes de usar compostos xenobióticos orgânicos como fonte de carbono e de energia durante o metabolismo.

Os microrganismos têm sido usados tradicionalmente na biorremediação, pela sua ubiquidade a degradar substâncias, versatilidade e facilidade de manejo, no entanto, actualmente também os fungos, as plantas, as algas e mesmo os animais, estão a ser estudados e usados para esse fim. Qualquer organismo capaz de crescer no ambiente contaminado, acumular e/ou degradar o contaminante e actuar no prazo estabelecido como meta pode ser um organismo remediador.

Os contaminantes são geralmente usados na manutenção e crescimento dos organismos durante o seu metabolismo primário. Em alguns casos, no entanto, a população activa não tira nenhum benefício nutricional dos contaminantes crescendo à custa de um outro substrato. Esta situação, conhecida por cometabolismo, acontece porque o processo de transformação do contaminante num substrato metabólico não foi completado ou por falta ou inibição de alguma enzima intermédia. Pode também suceder que o organismo possua enzimas que, não sendo absolutamente específicas, actuam sobre substratos estruturalmente próximos, transformando substâncias que não são intermediários das suas vias metabólicas. O cometabolismo foi demonstrado na degradação de uma variedade de compostos contaminantes tais como tricloroeteno (TCE), policlorobifenilos (PCBs) e herbicidas clorados (Alexander, 1999; Lima e Mota, 2004; King *et al.*, 1992; Haimi, 2000).

1. Bactérias

As bactérias desempenham o papel principal na biorremediação de solos e águas subterrâneas. Os géneros mais comuns de bactérias em aquíferos são: *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Acinetobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Vibrio* e *Flavobactérium* (Lima e Mota, 2003; Moat, 1995)

1.1. Caracterização de ecossistemas e separação de estirpes

Uma das principais dificuldades de caracterização de ecossistemas bacterianos resulta do número elevadíssimo de indivíduos e de diversidade quando se faz a amostragem¹ de um determinado local. Para a separação de estirpes, numa primeira etapa, é usado um meio selectivo que encoraja, o crescimento de um tipo particular de microrganismo de interesse. De seguida, uma vez que múltiplas estirpes podem crescer neste meio, é usado um procedimento de diluição para separar as estirpes (Alexander, 1999; Franco *at al.*, 2002; Ueta *at al.*, 1999).

A composição do meio de cultura é um dos aspectos mais importantes do cultivo de microrganismos. Os ambientes abaixo da superfície são tipicamente oligotróficos comparados com a superfície. Muitos investigadores têm sugerido que os meios diluídos são mais efectivos para o crescimento de microrganismos indígenas do que os meios ricos, frequentemente usados nos laboratórios (Chapelle, 1993). Outras dificuldades de cultivo de microrganismos em laboratório resultam de (Chapelle, 1993; Lima e Mota, 2003):

- Necessidades nutritivas desconhecidas ou muito específicas (microrganismos
-

¹ Estima-se que existam cerca de 10^9 organismos por grama de solo fértil (Lima e Mota, 2003).

fastidiosos);

- Dependência de outros membros da comunidade;
- Características peculiares do *habitat*;
- Estado fisiológico dos microrganismos (*non-culturable state*).

O reconhecimento de potencial remediativo numa estirpe de bactéria cultivada em laboratório não garante a sua eficácia em meio natural. Deve ser tida em conta a sua capacidade competitiva em meio natural e a possibilidade de aí existirem outros substratos mais favoráveis ao metabolismo da bactéria.

A capacidade de degradação pode resultar da actividade de diversas estirpes que actuam em etapas sucessivas de degradação. Nesse caso, pode ser mais interessante caracterizar o ecossistema sem isolar as estirpes. Os métodos que permitem caracterizar os ecossistemas microbianos, contornando os problemas de isolamento dos organismos (*culture-independent approaches*), ficam a dever-se aos avanços da biologia molecular. Destes métodos destacam-se:

- O uso de sondas oligonucleotídicas ou sondas génicas na detecção directa de microrganismos; estas técnicas têm sido utilizadas, por exemplo, para analisar as comunidades presentes nos biofilmes em sistemas de tratamento de afluentes ou na rizosfera de plantas cultivadas;

- A extracção directa de ácidos nucleicos (DNA ou RNA) a partir de amostras naturais, seguida de amplificação de regiões específicas e sequenciação (antecedida, ou não, por um passo intermédio de clonagem); esta abordagem permite classificar microrganismos não cultivados por comparação com bases de dados;

- A extracção directa de ácidos nucleicos (DNA ou RNA) a partir de amostras

naturais, seguida de amplificação de regiões homólogas por PCR usando primers universais e culminando com uma separação electroforética.

Estas técnicas permitem avaliar a variação temporal e espacial da diversidade mesmo sem identificar cada membro da comunidade (Lima e Mota, 2003; Stapleton, 1998).

1.2. Aclimação

Quando microrganismos colectados de qualquer ambiente natural são levados para o laboratório e colocados em meios nutritivos verifica-se um *período lag* característico antes de começarem a crescer e reproduzir-se activamente. A extensão deste período depende de muitos factores. Se as condições oferecidas forem razoavelmente similares às do ambiente, a fase lag vai ser geralmente muito curta, se há significativas diferenças entre o meio e o ambiente, a fase *lag* poderá ser muito extensa. Quando os microrganismos aclimados são re-inoculados em meio fresco, o crescimento prossegue de forma exponencial, sem fase *lag* (Alexander, 1999; King *at al.*, 1992). Assim, tecnologias que providenciam a aclimação de microrganismos indígenas para um composto específico são potencialmente poderosas para a remediação de ambientes contaminados.

A existência da fase *lag* fica a dever-se a três mecanismos distintos:

Indução de enzimas específicas

Envolve a activação de regiões do genoma bacteriano de tal forma que as enzimas específicas para a degradação de um substrato particular só são produzidas quando este substrato se encontra presente. Se dois substratos utilizáveis estão presentes, A e B, mas o substrato B fornece mais energia, o microrganismo é beneficiado se suspender as enzimas degradadoras de A e produzir as enzimas degradadoras de B. De facto, os microrganismos têm mecanismos para distinguir entre substratos disponíveis. Um destes mecanismos é

chamado “repressão catabólica” em que a presença de um substrato actua inactivando a síntese das enzimas degradadoras do outro substrato. Quando o primeiro substrato é consumido o segundo substrato passa a ser utilizado dando origem a uma curva de crescimento bifásica, fenómeno designado *diauxia*. Como exemplo, a presença de glicose origina a repressão catabólica das enzimas degradadoras de compostos xenobióticos levando a que estes só sejam oxidados na falta do substrato de glicose (Alexander, 1999).

Seleção de novas capacidades metabólicas produzidas por alterações genéticas

As mutações ocorrem por sistema nos organismos mas, na maioria das vezes, resultam numa diminuição da eficiência metabólica. Porém, se o microrganismo está sujeito a novos substratos, as alterações genéticas fortuitas podem aumentar a sua eficiência metabólica. Por este processo, os microrganismos podem vir a adquirir a capacidade de degradar qualquer composto xenobiótico, mesmo o mais recalcitrante (Alexander, 1999).

Número de organismos

O número de organismos capazes de metabolizar o contaminante pode ser pequeno e só algum tempo depois, quando a população cresce suficientemente, é que a degradação se torna detectável (Chapelle, 1993; Alexander, 1999).

O terceiro tipo de situação é geralmente antecedido por um dos dois primeiros.

1.3. Transporte/Crescimento

A biomassa bacteriana em *fase aquosa* é geralmente considerada como uma suspensão de células livres matematicamente representada como um soluto diluído reactivo. As células bacterianas estão sujeitas aos mesmos fenómenos físico-químicos que os colóides mas também a processos estritamente biológicos. Os fenómenos físico-

químicos incluem a advecção, a dispersão, a filtração pelo meio poroso, a influência electrostática e as interacções químicas com as superfícies sólidas. Os processos biológicos incluem a adesão activa, o crescimento e a quimotaxia (movimento em resposta a um gradiente químico) (Ginn *et al.*, 2002).

Em *meios porosos saturados* três modelos podem descrever o transporte e crescimento de bactérias: o modelo de biofilme; o modelo de microcolónias; e o modelo estritamente macroscópico. O modelo de biofilme assume que a biomassa forma uma fina camada sobre as partículas sólidas. O modelo de microcolónias assume que as bactérias se agrupam no solo em colónias discretas, cada uma com uma área superficial efectiva. O modelo macroscópico admite que as bactérias se ligam e crescem no meio poroso, mas não assume nenhuma distribuição espacial da biomassa (Rockhold *et al.*, 2002). As ligações estabelecidas entre as células e o meio poroso são reversíveis quando se devem a forças electrostáticas de van der Waals e interacções hidrofóbicas, mas podem ser irreversíveis quando há processos activos de adesão, como acontece com os exopolímeros (Ginn *et al.*, 2002).

1.4. Cinética de biodegradação

A cinética de biodegradação depende de vários factores: o tamanho inicial e a taxa de crescimento máxima da população de microrganismos; a concentração inicial do contaminante (substrato); a afinidade dos microrganismos para o contaminante; o limiar de toxicidade do contaminante; e a acessibilidade ao contaminante.

As populações bacterianas crescem exponencialmente como resultado da sua estratégia reprodutiva, a divisão binária. A curva aproxima-se a uma função do tipo:

$$A(t) = A_0 \exp(kt)$$

Em que $A(t)$ é o número de células no tempo t , A_0 é o número de células inicial e k é a constante de crescimento de primeira ordem.

O tempo de duplicação é geralmente muito curto e a biomassa acumula-se à medida que o contaminante (substrato) é consumido. A taxa à qual as células se dividem é chamada taxa específica de crescimento, μ .

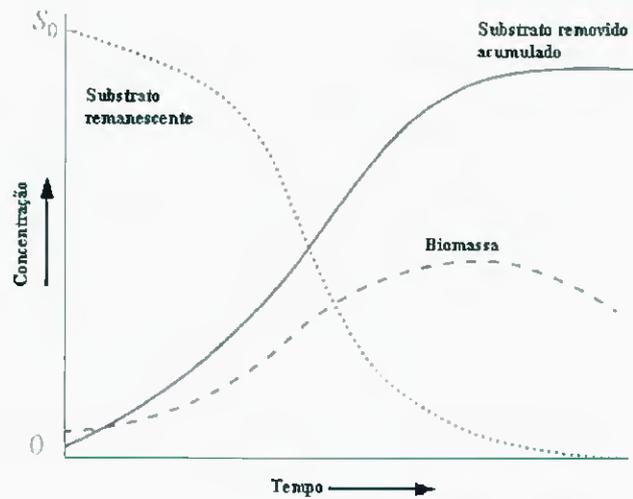


Fig.12- Degradação de contaminantes orgânicos e correspondente aumento de biomassa bacteriana (adaptado de LaGrega *at al.*, 2001).

Concentrações muito baixas do substrato limitam a taxa específica de crescimento. Concentrações muito elevadas podem inibir o crescimento se o substrato for um contaminante tóxico. Para substrato não tóxicos a relação entre a concentração do substrato e a taxa específica de crescimento é dada pela cinética de crescimento de Monod (Alexander, 1999):

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S}$$

<p>μ é a taxa específica de crescimento (tempo⁻¹)</p> <p>μ_{\max} é a taxa específica de crescimento máxima (tempo⁻¹)</p> <p>S é a concentração do substrato (massa/volume unitário)</p> <p>K_s é a constante de velocidade média (concentração do substrato à qual a taxa específica é metade da taxa específica máxima) (massa/volume unitário)</p>

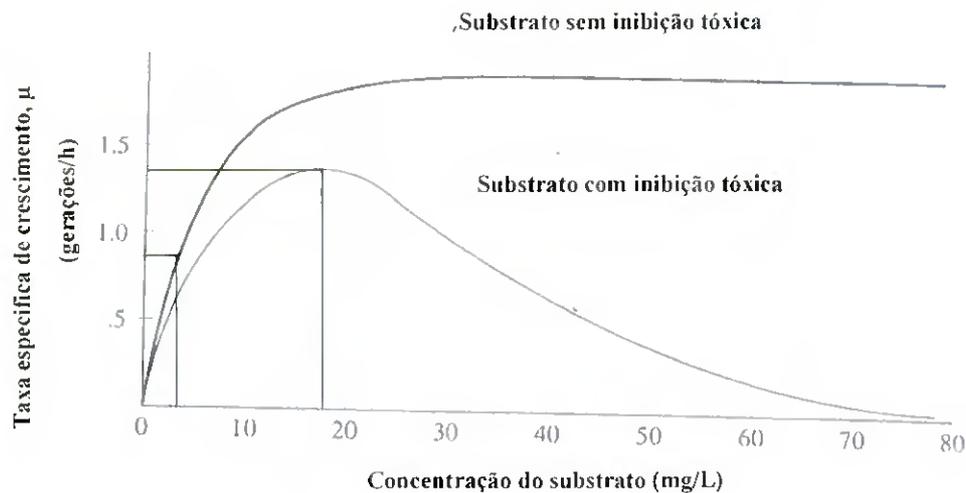


Fig.13- Efeito da concentração do substrato e da sua toxicidade na taxa de crescimento. S^* é a concentração crítica para uma substância inibidora (adaptado de LaGrega *at al.*, 2001).

As bactérias não podem degradar uma substância se a sua concentração estiver abaixo do mínimo necessário para manter a população activa, como tal, um substrato simples não pode ser reduzido por longos períodos de tempo. No entanto, as bactérias podem usar mais de um substrato para o crescimento (Fetter, 1999).

Curvas cinéticas de degradação do substrato

Baixa densidade da população bacteriana

Quando a população inicial de bactérias apresenta uma densidade populacional baixa ela vai crescer à custa do substrato aumentando a sua biomassa. A curva cinética de degradação do substrato vai depender da concentração inicial do substrato (S_0):

Cinética logarítmica (quando $S_0 \gg K_s$): Neste caso, a taxa de degradação do substrato praticamente não é influenciada pela sua concentração até que quase todo o substrato tenha desaparecido. A taxa de crescimento específico das bactérias, μ , é máxima e independente

do substrato;

Cinética logística (quando $S_0 \ll K_s$): Nestas circunstâncias a taxa específica de crescimento vai depender directamente da concentração do substrato que é limitante. O progressivo consumo do substrato leva a uma taxa específica de crescimento das bactérias cada vez menor e um tempo de geração cada vez maior;

Monod com crescimento (quando $S_0 \approx K_s$): Verifica-se que a taxa específica de crescimento não é totalmente independente da concentração do substrato mas não depende directamente dele. É uma situação mais complexa que é descrita matematicamente pela cinética de Monod para uma dada taxa de crescimento específico.

Elevada densidade da população bacteriana

Se a densidade da população inicial de bactérias for muito elevada não é possível o aumento do número de células bacterianas e não se irá registar aumento de biomassa nem crescimento. O substrato é usado apenas para manter as células vivas. Esta concentração do substrato representa o limiar. As curvas cinéticas de degradação do substrato, neste caso, lembram as cinéticas enzimáticas uma vez que a quantidade de “material reactivo” não se altera:

Cinética de ordem zero (quando $S_0 \gg K_s$): Na cinética de ordem zero a taxa de degradação do substrato é constante ou linear;

Cinética de primeira ordem (quando $S_0 \ll K_s$): Na cinética de primeira ordem a taxa de degradação é directamente proporcional ao consumo do substrato;

Monod sem crescimento (quando $S_0 \approx K_s$): Neste caso, a taxa de degradação acompanha o consumo do substrato mas não é directamente proporcional. A cinética de degradação é descrita matematicamente pela cinética de Monod para um crescimento nulo.

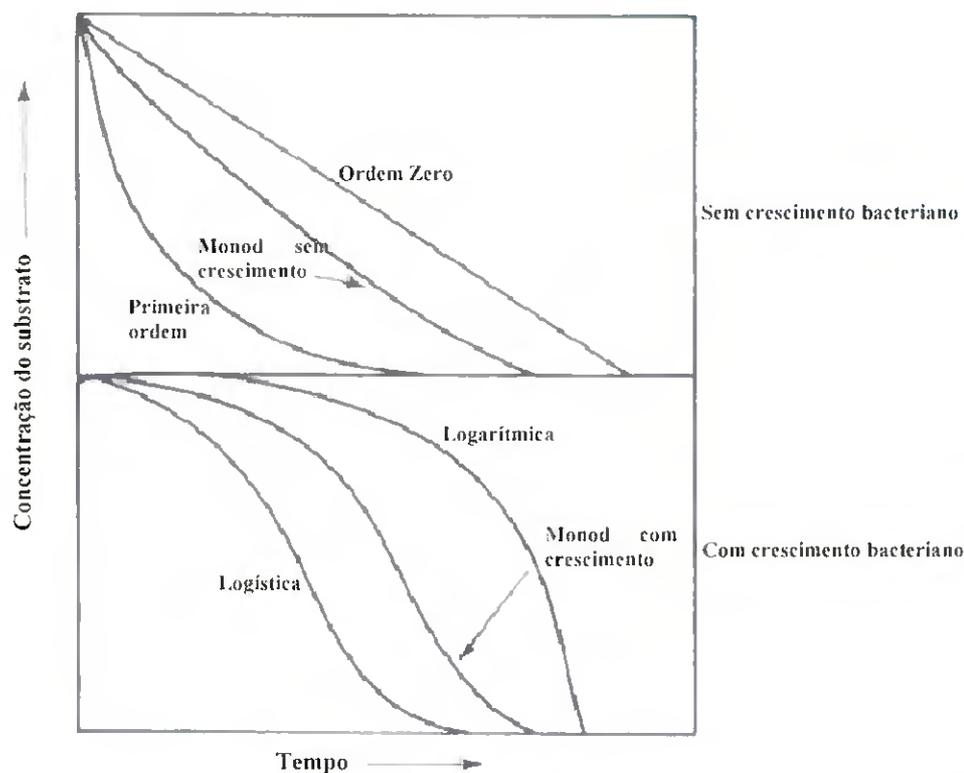


Fig.14- Curvas cinéticas de degradação de substâncias metabolizadas por bactérias (adaptado de Alexander, 1999).

As cinéticas de primeira ordem são usadas para descrever a biodegradação em modelação ambiental devido à facilidade de apresentação e análise de dados e à simplicidade dos gráficos logarítmicos.

2. Fungos

Os fungos são conhecidos geralmente pela sua capacidade de decomposição da matéria orgânica (são quimioeterotróficos), no entanto eles são muito mais importantes do que isso: certas espécies formam ligações simbióticas com os sistemas radiculares das plantas (micorrizas), permitindo a transferência e redistribuição de nutrientes e minerais numa área alargada, e outras espécies têm elevado potencial nas áreas do biocontrolo e da biorremediação.

2.1. Metabolismo e Crescimento

Na maioria dos habitats naturais, especialmente nos solos, a distribuição de nutrientes e minerais está desigualmente distribuído. Os fungos filamentosos estão bem adaptados ao crescimento nestes ambientes, proliferando em superfícies, poros e através de espaços de ar. Esta habilidade deve-se à capacidade de redistribuição interna de material através da rede miceliana, fenómeno conhecido como translocação. Usando a translocação muitos fungos são capazes de crescer em habitats com baixos nutrientes e poluídos, explorando as fontes disponíveis noutras partes do micélio. A translocação consiste em dois mecanismos distintos: translocação passiva (por difusão) e translocação activa (com gasto de energia metabólica). O micélio cresce adquirindo e redistribuindo nutrientes por toda a rede. Uma parte dos nutrientes encontra-se no interior das hifas (substrato interno), outra encontra-se no ambiente (substrato externo).

A distinção entre substrato interno e externo permite modelar a translocação. Os modelos consistem em sistemas de equações parciais onde as variáveis representam a densidade do micélio e a concentração do substrato limitante (o interno e o externo) (Boswell *at al.*, 2002). Alguns modelos admitem que micélio tem uma distribuição contínua de três componentes: hifas activas (envolvidas na translocação de metabolitos internos), hifas inactivas e hifas terminais em crescimento.

A cinética de crescimento dos fungos é diferente da das bactérias porque a biomassa dos fungos aumenta por crescimento hifal e ramificação (não por fissão binária) e os organismos experimentam alterações morfológicas durante o seu ciclo de vida. O crescimento de grande parte das espécies está restrito às pontas dos segmentos que se desenvolvem-se linearmente e a taxa constante. Se tem lugar a três dimensões, a massa hifal dos fungos pode ser vista como esferas com um raio que aumenta a taxa constante.

Este padrão de crescimento pode ser descrito por uma cinética cúbica. Na superfície de um meio como o agar a taxa de crescimento vai ser linear. Numa matriz porosa e heterogénea, como o solo, a cinética é mais complexa. Em culturas líquidas o crescimento não limitado dos fungos pode ser descrito por uma cinética logarítmica, mas em concentrações baixas os modelos que se mostram mais adequados são os logísticos (Alexander, 1999). A competição com as bactérias e a toxicidade dos contaminantes são factores que podem reduzir o crescimento dos fungos (Meysami e Baheri, 2003; Novotny *et al.*, 2004)

2.2. Biodegradação

A habilidade dos fungos para degradar uma ampla variedade de compostos tem sido em parte atribuída à acção de enzimas lenholíticas.

A fonte primária de carbono dos fungos é a celulose de árvores e plantas, que está protegida por um biopolímero complexo conhecido como lenhina. As enzimas que degradam a lenhina (lenhina peroxidases, *LiP*, manganase peroxidases, *MnP*, e lacases, *Lac*) são, assim, essenciais para a sobrevivência dos fungos. Os fungos crescem nas fibras da madeira após secreção de enzimas lenholíticas, que despolimerizam a lenhina.

A utilização dos fungos ou das suas enzimas é uma alternativa biológica interessante na remediação de efluentes industriais visto que este sistema enzimático complexo pode ser usado, não só para situações que contenham o seu substrato habitual, mas também numa grande variedade de compostos contaminantes com estrutura similar à da lenhina. As *MnP* podem despolimerizar compostos xenobióticos recalcitrantes, como o nitroaminotolueno e vários corantes têxteis. A sua actividade é potenciada pela presença de cooxidantes, como os tióis e os ácidos gordos insaturados. As *LiP* catalizam a oxidação de compostos aromáticos não fenólicos e outros compostos similares, provocando a ruptura da

estrutura dos anéis. As lacases catalizam a oxidação de uma variedade de compostos aromáticos doadores de hidrogénio, com a concomitante formação de água. As lacases também oxidam os ácidos fenólicos e metoxifenólicos e descarboxilam e atacam os seus grupos metilo (desmetilação). As lacases oxidam muitas outras substâncias recalcitrantes como os clorofenóis, os PAHs, os compostos organofosforados, os fenóis e os corantes aromáticos (Brito *at al.*, 2003; Bending *at al.*, 2002; Leonowicz *at al.*, 1999; Potin *at al.*, 2004; Garon *at al.*, 2004; Wesenberg *at al.*, 2003).

Os fungos com maior actividade lenhólica são os fungos brancos. Estes fungos, para se desenvolverem em solos contaminados têm que crescer, pelo menos durante 10 dias, em materiais de madeira ou agentes de enchimento para estabilizar o micélio. As enzimas lenhícolas são produzidas durante o seu metabolismo secundário, uma vez que a oxidação da lenhina não fornece energia.

A síntese das enzimas é induzida por níveis limitantes de nutrientes (como C e N). A produção de lenhina peroxidase e manganase peroxidase é elevada com tensões altas de oxigénio e é reprimida pela agitação das culturas. A produção das lacases, pelo contrário, é aumentada pela agitação. O conteúdo de humidade óptimo para o crescimento de fungos brancos situa-se em 30 a 50% (Wesenberg *at al.*, 2003).

As enzimas lenhícolas são codificadas por famílias de genes, com regulação complexa, produzindo múltiplas isoformas. A transcrição dos genes é afectada pela concentração de nutrientes, compostos mediadores e iões metálicos (Mn^{2+} para MnP, Cu^{2+} para Lac) (Wesenberg *at al.*, 2003). Manipulações cuidadosas do ambiente químico podem permitir a produção de uma adequada mistura de enzimas. A amplificação dos genes e a expressão em hospedeiros apropriados pode ser uma tecnologia promissora para produção abundante de enzimas lenhícolas com baixo custo.

2.3. Imobilização/mobilização de metais pesados

Os fungos castanhos produzem ácido oxálico que actua sobre os metais pesados tornando-os mais solúveis e facilitando a sua lexiviação. O ácido oxálico pode reagir com o crómio insolúvel e formar oxalato de crómio solúvel que posteriormente pode ser lexiviado, ou então pode reagir com o cobre formando oxalato de cobre, que é insolúvel mas pode ser lexiviado com soluções de amónia (Humar *at al.*, 2004).

Por outro lado, os componentes das paredes dos fungos, com grupos livres de amino, hidroxil, carboxil, e outros, podem ser excelentes ligantes de metais pesados funcionando como matriz de adsorção. As proteínas, devido às suas interações com o cobre e outros metais, são um dos principais ligantes celulares. Os fungos filamentosos do solo, *Aspergillus niger*, *Mucor rouxxi*, *Rhizopus arrhizus* e *Trichoderma viridae* são usados comercialmente como biosorbentes de metais pesados (Chávez *at al.*, 2004). Processos similares ocorrem com outros fungos, nomeadamente os fungos das micorrizas. A globulina é uma proteína, copiosamente produzida pelos fungos das micorrizas, que pode estabilizar os metais pesados, reduzindo a sua biodisponibilidade e diminuindo o risco de toxicidade para outros organismos e plantas do solo. A produção de hifas e globulina deve ser tida em conta quando são usadas tecnologias de fitoestabilização em solos contaminados.

2.4. Neutralização de ácidos

Estirpes de fungos filamentosos de *Mucor* sp., *Aspergillus fumigatus* e *Aureobasidium pullulans* que crescem em pH 4 são capazes de secretar materiais básicos, como a amónia, aumentando o pH até aproximadamente 8 (Shiomi *at al.*, 2004). Estas células

microbianas podem neutralizar não só o ácido nítrico como o ácido sulfúrico e o ácido clorídrico. Algumas estirpes podem utilizar o ácido nítrico como fonte de azoto. Em solos com estas estirpes o pH mantém-se neutro pela acção tampão dos materiais básicos que elas secretam. Podem ser usados para protecção contra a acidificação das chuvas ácidas.

3. Plantas superiores

Ao longo do tempo, algumas plantas desenvolveram resistência a herbicidas e tolerância a muitos contaminantes, nomeadamente metais. As estratégias empregues são variadas e podem ser direccionadas para a biorremediação de solos e aquíferos. As plantas mais promissoras são as que crescem rapidamente e durante longos períodos, acumulam muita biomassa, têm raízes que se aprofundam no solo, produzem exsudatos radiculares e são tolerantes a elevadas concentrações de contaminantes.

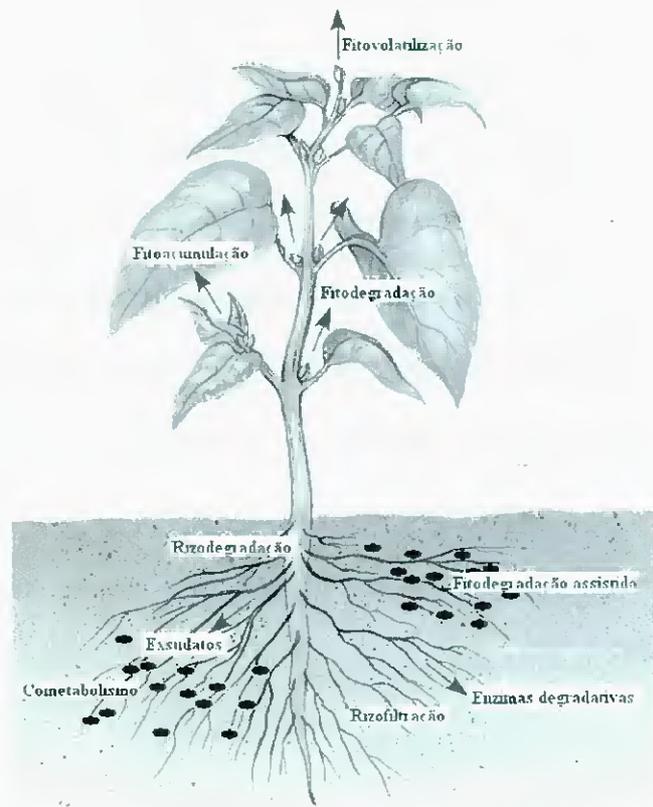


Fig. 15- Mecanismos de fitorremediação: degradação, retenção ou transferência.

As raízes favorecem o contacto entre a planta, os microrganismos, os nutrientes e os contaminantes dos solos. Os contaminantes hidrofóbicos, podem ligar-se à superfície radicular ou depositar-se em compartimentos nas plantas, mas não podem depois ser

translocados pela planta. Os contaminantes moderadamente hidrofóbicos, podem ser captados e translocados pela planta (Singh e Ward, 2004; Hopkins et al., 2004; Dietz e Schnoor, 2001).

As plantas actuam sobre os contaminantes através de três mecanismos principais: degradação, retenção e transferência.

3.1. Degradação

Em alguns casos os contaminantes orgânicos são degradados directamente pelas raízes, caules e folhas – *fitodegradação* – e incorporados nos tecidos das plantas. Os *n*-alcanos, o benzeno, o tolueno, o xileno, os PAHs e outros compostos orgânicos, são exemplos de contaminantes metabolizados pelas plantas (Frick, 1999; Singh e Ward, 2004; Dietz e Schnoor, 2001). Estes contaminantes são degradados ou mineralizados dentro das células vegetais por enzimas específicas. Entre essas enzimas destacam-se as nitroreductases (degradação de nitroaromáticos), desalogenases (degradação de solventes halogenados e pesticidas) e lacases (degradação de corantes). *Populus* sp. e *Myriophyllum spicatum* são exemplos de plantas que possuem estes sistemas enzimáticos (Dinardi et al., 2003).

As plantas desempenham, também, um papel indirecto na degradação dos contaminantes da zona envolvente, devido (Frick, 1999; Pletsch, 1999; Singh e Ward, 2004; Susarla, 2002):

- a) ao fornecimento de exsudatos radiculares, que causam o efeito rizosfera;
- b) à libertação de enzimas, associadas às raízes, capazes de transformar contaminantes orgânicos e;
- c) aos efeitos químicos e físicos das plantas e dos seus sistemas de raízes nas

condições do solo, nomeadamente na permeabilidade e arejamento.

Exsudatos radiculares

Ao nível da raiz, a interacção entre as plantas e os microrganismos do solo, designado efeito rizosfera, é o principal mecanismo responsável pela biodegradação – *fitodegradação assistida*.

A comunidade microbiana na rizosfera é heterogénea, predominando as *Pseudomonas*, e tem uma actividade 5 a 100 vezes superior ao restante solo. Isto deve-se à libertação de exsudatos radiculares, que fornecem carbono, energia, nutrientes, enzimas e, por vezes, oxigénio às populações de microrganismos da rizosfera (Frick, 1999; Dinardi *et al.*, 2003). Os exsudatos radiculares podem sustentar populações de microrganismos capazes de metabolizar ou de cometabolizar os contaminantes.

O tipo de exsudado radicular pode influenciar as interacções entre as plantas e os microrganismos do solo. Quando o exsudado é um composto específico, sintetizado em resposta à presença de um dado contaminante, vai promover o crescimento selectivo de certos microrganismos. Neste caso, a interacção é específica. As interacções dizem-se “não-específicas” quando os exsudatos são quimicamente similares para qualquer contaminante orgânico, resultando no aumento da actividade microbiana em geral.

Alguns exsudatos são ácidos orgânicos de baixo peso molecular (como o oxalato, citrato, acetato e formato) e favorecem a solubilidade dos nutrientes, a detoxicação dos metais e a formação de associações simbióticas (Hees *et al.*, 2005).

Libertação de enzimas

As raízes libertam enzimas capazes de transformar os contaminantes orgânicos dos solos, actuando à volta da própria planta e mesmo após a sua morte. Foram já identificadas dehalogenases, nitroreductases, peroxidases, lacases e nitrilases (Frick, 1999; Dietz e Schnoor,

2001).

Papel dos microrganismos na redução da fitotoxicidade

Alguns microrganismos têm a capacidade de reduzir a fitotoxicidade dos contaminantes, permitindo às plantas crescer em condições de solo adversas. As defesas das plantas podem, assim, ser reforçadas pelos microrganismos. Isto quer dizer que os microrganismos co-evoluíram numa estratégia onde estes beneficiam dos exsudatos das plantas e as plantas beneficiam da habilidade dos microrganismos para degradar substâncias químicas tóxicas.

3.2. Retenção

As plantas possuem mecanismos directos de retenção, como por exemplo:

- a acumulação de compostos no interior das plantas, conhecida como *fitoacumulação*;
- a adsorção dos contaminantes na superfície das raízes.
- o uso de plantas como filtros – *rizofiltração* – para reter o contaminante na zona das raízes, reduzindo assim a sua dispersão.²

As plantas podem favorecer indirectamente a retenção dos contaminantes através de enzimas que catalizam a ligação dos contaminantes à matéria orgânica do solo.

A capacidade de uma planta para captar contaminantes orgânicos, por exemplo PAHs, é influenciado pelo tamanho e peso do contaminante e pelo grau de conteúdo

² As plantas transpiram quantidades consideráveis de água funcionando como “bombas” naturais.

lipídico da planta (Frick, 1999; Susarla, 2002; Dietz e Schnoor, 2001).

Retenção de metais

As metalófitas são plantas, características de áreas mineralizadas, que suportam solos muito ricos em metais pesados. Ao longo dos anos, estas plantas desenvolveram mecanismos biológicos que as tornaram tolerantes a concentrações de metais tóxicas para outras plantas (Dietz e Schnoor, 2001; Dinardi *et al.*, 2003; Susarla, 2002). Algumas destas espécies impedem a captação dos metais devido à selectividade das membranas das células das raízes. Outras captam os metais e acumulam-nos em concentrações que seriam letais para espécies não tolerantes (Mejäre e Bulow, 2001).

Há duas estratégias principais de acumulação de metais nos tecidos das plantas, ambas envolvendo a combinação do elemento tóxico com uma molécula orgânica:

- Algumas espécies sequestram os metais na forma de compostos organometálicos de baixo peso molecular (metalotioneínas). Estes compostos formam-se por combinação do metal com aminoácidos com enxofre (como a cisteína ou a metionina), ou com ácidos orgânicos (como o acetato, malato, ou citrato) (Cervantes *et al.*, 2001; Mejäre e Bulow, 2001).

- Outras espécies sintetizam pequenos polipéptidos ricos em enxofre chamados fitoquelatinas. As fitoquelatinas são péptidos pouco comuns, de forma geral $(\gamma\text{-ácido glutâmico-cisteína})_n\text{-X}$, onde $n= 2$ a 8 e X pode ser glicina alanina, serina ou glutamina. O papel exacto das fitoquelatinas não é claro. Pensa-se que servem como transportadores, ligando os metais no citoplasma e transportando-os até ao vacúolo. Uma vez no vacúolo, o pH ácido poderia deslocar o metal, permitindo ao péptido voltar ao citoplasma. O metal seria então sequestrado pelos ácidos orgânicos, presentes em altas concentrações no vacúolo (Hopkins *et al.*, 2004; Kramer, 1994 ; Mejäre e Bulow, 2001).

As plantas podem ainda diminuir a taxa de lixiviação de metais—*fitoestabilização*—

através de processos químicos, como o controlo de pH, ou através de processos físicos, como o aumento da adsorção ou a redução da infiltração das chuvas por aumento da evapotranspiração (LaGrega *at al.*, 2001; Susarla, 2002).

3.3. Transferência

As plantas podem ser usadas para transferir compostos orgânicos voláteis do solo para a atmosfera. Este processo é conhecido como *fitovolatilização*. Os compostos são translocados pela planta e transpirados. Este é o caso, por exemplo, do naftaleno (Frick, 1999). Alguns iões metálicos, como o mercúrio, o selénio e o arsénio, são também absorvidos pelas raízes, convertidos em formas não tóxicas e depois liberados na atmosfera (Dinardi *at al.*, 2003; Susarla, 2002).

3.4. Selecção de plantas

As espécies de plantas usadas na fitorremediação podem ser seleccionadas pela sua capacidade de captação dos contaminantes de interesse. Em geral, plantas terrestres são mais efectivas que as plantas aquáticas, porque os seus sistemas radiculares são maiores. As árvores têm crescimento rápido e distribuição geográfica alargada. Além disso, podem captar quantidades grandes de água do solo, reduzindo a quantidade de contaminante que se dispersa no ambiente.

No caso das plantas aquáticas, o sucesso do tratamento tem a ver com o baixo custo e as possibilidades de reciclagem da biomassa produzida. A biomassa pode ser utilizada como fertilizante, ração animal, produção de energia (biogás ou queima directa), fabrico de papel, extracção de proteínas e extracção de substâncias activas. A utilização de plantas

aquáticas como “agente biorremediador” em hidroponia justifica-se, não só pelas amplas possibilidades de aproveitamento da biomassa, como pela intensa absorção de contaminantes, pelo rápido crescimento e pela facilidade de eliminação do local no final do tratamento. Exemplos de tipos de vegetação herbácea usados em fitorremediação incluem o girassol, a mostarda da Índia, e poáceas (Singh e Ward, 2004; Dinardi *et al.*, 2003).

Algumas espécies são especialmente interessantes pela sua capacidade acumular metais pesados. Destaca-se a herbácea *Pfaffia* (nome comum Calaminácea) que é uma planta selvagem, rara, hiperacumuladora de cádmio. As espécies *Brassica juncea*, *Aeolanthus biformifolius*, *Alyssum bertolonii*, *Thlaspi caerulescens* e *Herniaria hirsuta* são exemplos de plantas acumuladoras de Pb, Cu/Co, Ni, Zn e Cr, respectivamente. Exemplos de plantas cultivadas com o fim de reter os metais no solo são as *Haumaniastrum*, *Eragrostis*, *Ascolepis*, *Gladiolus* e *Alyssum* (Dinardi *et al.*, 2003; Cervantes *et al.*, 2001).

4. Algas

As algas são de especial interesse em biorremediação devido à resistência a condições ambientais extremas e à capacidade de sequestrar diversos contaminantes. As microalgas acumulam metais pesados e radionuclídeos, compostos orgânicos clorados e contaminantes atmosféricos, como o óxido nítrico. As algas macrófitas têm sido usadas como acumuladoras de metais pesados (Phillips e Rainbow, 1994; Kalin *et al.*, 2005; Yoshihara *et al.*, 1996; Peña-Castro *et al.*, 2004; Matsunaga *et al.*, 1999).

A acumulação de metais ocorre em duas etapas: captação a curto prazo e captação a longo prazo. A captação a curto prazo envolve mecanismos de bioadsorção na superfície das células e em polissacarídeos extracelulares ou mecanismos de precipitação na superfície e no interior da célula.

A bioadsorção resulta essencialmente de mecanismos similares à troca iónica. As paredes celulares são compostas principalmente por polissacarídeos, isto é, celulose, xilano e manano, com cargas superficiais negativas que atraem catiões como Zn, Cu, Al, e U. Existem também grupos ligandos laterais, como aminas, grupos carboxilo, hidroxilo e grupos sulfato com um conjunto de cargas negativas que contribuem para complexar catiões metálicos. Alguns destes grupos ligandos têm carga positiva e podem complexar aniões metálicos. A mistura destes grupos (carregados positiva e negativamente), numa dada superfície celular, determina o número de catiões e aniões que pode complexar. A biosorção pode ser levada a cabo por células activas ou inactivas. A vantagem de usar material vivo é que está em crescimento constante, fornecendo novo material para sequestração (Kalin *et al.*, 2005; Matsunaga *et al.*, 1999; Sternberg e Dorn, 2002; Terry e Stone, 2002; Peña-Castro *et al.*, 2004; Kramer, 1994).

A captação de metais a longo prazo refere-se a um mecanismo activo realizado através das membranas celulares, que depende da temperatura e está acoplado a mecanismos fotossintéticos. Deve-se, por vezes, à mimetização de metais essenciais à célula, que são captados contra gradiente. Uma vez no interior da célula, os metais são concentrados em vacúolos e precipitados.

A eficiência de captação por mecanismos de curto e longo prazo é muito elevada (muitas vezes na ordem dos 90%), especialmente em sistemas de cultura contínuos. No caso das algas macrófitas, as bactérias e outros organismos presentes nas suas superfícies (como diatomáceas e protozoários), contribuem significativamente para a concentração total de metais (Kalin *et al.*, 2005; Matsunaga *et al.*, 1999; Sternberg e Dorn, 2002).

A acumulação de contaminantes pode ser diferenciada ao longo do ano devido ao crescimento da alga não ser constante. Certas variáveis podem afectar significativamente a

acumulação: a salinidade; a temperatura da água; a intensidade luminosa; o pH e a abundância de nutrientes. Estes factores interagem com a biodisponibilidade dos contaminantes e com os mecanismos de captação e bioacumulação da alga. Outro factor é a própria concentração do contaminante que pode ser tóxica para a alga. Nesse caso o afluente pode precisar de uma diluição prévia.

5. Animais

Os estudos com animais foram inicialmente direccionados para programas de biomonitorização. Os biomonitorizadores são organismos que acumulam contaminantes sem impactes letais, são fáceis de amostrar e resistentes em condições laboratoriais, produzem tecido contaminado suficiente para análise, são sedentários e abundantes na área de amostragem e têm ciclos de vida suficientemente longos. Estas características fazem de algumas das espécies exemplares interessantes em sistemas de biorremediação.

Os bivalves são os animais biomonitorizadores mais promissores porque são fáceis de cultivar, resistentes, apresentam elevadas taxas de filtração e têm capacidade de acumular um vasto leque de contaminantes. As taxas de filtração de água podem atingir os 25 l/h/g de peso seco e os contaminantes são captados quer como material particulado quer em solução (Phillips e Rainbow, 1994; Gifford *at al.*, 2003). As quantidades de contaminantes acumulados nos seus tecidos são muito significativas, nomeadamente, metais pesados, radionuclídeos e compostos xenobióticos persistentes. Para além disso, os moluscos facilitam a circulação de nutrientes aliviando as pressões de eutrofização dos ecossistemas costeiros.

Detoxicação de metais

O grau de captação e acumulação de metais pesados pode diferir significativamente entre espécies do mesmo Filo reflectindo a evolução de estratégias de detoxicação diferenciadas.

A *captação de metais dissolvidos* pode ocorrer em todo o corpo do organismo (em organismos pequenos) ou em locais particulares de alta permeabilidade, como as brânquias ou o tracto alimentar. É um processo passivo, não requerendo o dispêndio de energia, ao contrário do que acontece com os metais alcalinos, como o sódio, o potássio e o cálcio. Os iões metálicos têm altas afinidades para ligandos com enxofre e azoto e ligam-se, portanto, facilmente a proteínas e outras macromoléculas transportadoras da membrana nas superfícies permeáveis dos organismos aquáticos. No interior da célula, os iões metálicos são transferidos para ligandos com maior afinidade, num processo aparentemente contra gradiente mas, no entanto, passivo e irreversível (Phillips e Rainbow, 1994; Gifford *et al.*, 2003; Mason, 1996).

A *captação dos metais em partículas* ocorre por ingestão das partículas, e subsequente captação dos metais no tracto digestivo, ou por pinocitose ao nível das brânquias.

A *sequestração de metais* nas células pode ocorrer por ligação dos metais a metalotioneínas, ou outras proteínas solúveis, encontradas no citoplasma. Estas proteínas, geralmente, acumulam-se em grandes quantidades nos lisossomas terciários em tecidos específicos (hepatopâncreas ou rim). Os metais podem também ser sequestrados em depósitos insolúveis, não associados com lisossomas, ou podem ser incorporados na matriz da concha durante o processo de mineralização (Phillips e Rainbow, 1994; Gifford *et al.*, 2003; Mason, 1996; Ansai, 2004).

Detoxicação de contaminantes orgânicos

No caso dos contaminantes hidrofóbicos, tais como pesticidas clorados e muitos hidrocarbonetos, a captação e a acumulação nos tecidos moles dos bivalves são feitas por processos passivos. O grau de acumulação e retenção depende do conteúdo e distribuição de lípidos no organismo. Os compostos não degradados podem, posteriormente, ser excretados no fluido do manto e incorporados na matriz da concha. A concha funciona assim como acumuladora de resíduos. Os bivalves acumulam grandes quantidades de hidrocarbonetos e PAHs e quantidades menores de compostos clorados. (Phillips e Rainbow, 1994; Gifford *et al.*, 2003; Mason, 1996).

6. Melhoramento de Estirpes

As estirpes nativas têm a vantagem de estarem pré-adaptadas ao clima e às condições da área de interesse. No entanto, a introdução de organismos “não nativos”, mais resistentes e com maiores capacidades metabólicas, proporciona muitas vantagens. O processo torna-se mais rápido, mais económico e com melhores resultados.

A decisão de introduzir “organismos não nativos” num ecossistema não deve ser tomada de ânimo leve uma vez que os organismos introduzidos podem ter efeitos adversos no ambiente e na economia. É importante identificar o risco associados a cada caso particular, estimar a possibilidade de ocorrência e a gravidade desse risco, no caso de se verificar.

Actualmente tem sido dada maior ênfase à aplicação de populações indígenas em detrimento das geneticamente manipuladas devido às reacções adversas do público e às limitações legais que enquadram a libertação no ambiente de organismos geneticamente

modificados (OGMs) (Garbisu e Alkorta, 1999). Porém as taxas de degradação natural são por vezes demasiado lentas, e por conseguinte, não são eficientes na remediação de ambientes poluídos em tempo útil. Noutros casos os contaminantes são recalcitrantes, o que sugere que as populações naturais ainda não desenvolveram os padrões metabólicos apropriados para lidar com alguns compostos xenobióticos introduzidos nas últimas décadas (Garbisu e Alkorta, 1999; Pieper e Reineke, 2000). Nestes casos, a utilização de OGMs deve ser considerada.

A esse respeito a biotecnologia ambiental está a investigar no sentido de desenhar microrganismos geneticamente modificados portadores de vectores “suicidas”. Estes vectores provocam a autodestruição dos microrganismos em circunstâncias predeterminadas pelo investigador, por exemplo, na ausência do contaminante (Garbisu e Alkorta, 1999; Saylor e Ripp, 2000). As indústrias ligadas às tecnologias de produção comercial de OGMs para biorremediação estão interessadas nesta tecnologia, uma vez que, a autodestruição tornaria os OGMs ambientalmente aceitáveis e economicamente rentáveis.

Técnicas clássicas

O melhoramento de estirpes é conseguido, tradicionalmente, através de variabilidade no genoma seguida de rastreio e selecção dos espécimes mais vantajosos. Este método conduz a resultados rápidos e sustentáveis ao longo do tempo.

A variabilidade do genoma do organismo pode ser conseguida através de mutagénese ou de métodos naturais de recombinação genética.

A ocorrência de mutação espontânea é um fenómeno raro mas que pode ser ampliado recorrendo a agentes mutagénicos químicos (etilmetanossulfonato - *EMS* ou N-metil-N-nitro-nitrosoguanidina - *NG*) ou físicos (radiação ultravioleta ou raios X). A mutagénese pode ainda ser induzida por transposões que geram mutantes de inserção ao

interromperem a sequência nucleotídica de um gene.

A recombinação genética natural verifica-se, nos eucariontes, durante a reprodução sexuada. Em consequência de fenómenos de entrecruzamento (crossing-over), que têm lugar durante a meiose, surgem novos genótipos da combinação dos cromossomas parentais. Alguns fungos filamentosos de relevância industrial, como o *Penicillium* e o *Aspergillus*, não possuem uma verdadeira fase sexuada no seu ciclo de vida. No entanto, a existência de fenómenos de parassexualidade que envolvem a formação de um micélio dicariótico, por fusão de hifas de duas estirpes haplóides geneticamente diferentes, permite a produção de novos genótipos. No caso das bactérias, embora estas não se reproduzam sexuadamente, podem trocar material genético por processos de conjugação, transdução e transformação.

Engenharia genética

Durante os últimos vinte anos o desenvolvimento da tecnologia do DNA recombinante tem tido um grande impacto na microbiologia industrial e ambiental. As técnicas de engenharia genética projectaram o mundo da investigação biológica para além dos limites tradicionais, estudando a expressão genética ao nível mais fundamental. Actualmente torna-se possível a manipulação da expressão genética de uma determinada célula ou levá-la a expressar propriedades de outras células.

Muitas técnicas de engenharia genética usadas para transferir genes em microrganismos e outros organismos são baseadas na manipulação de DNA plasmídeo da bactéria. O DNA plasmídeo tem a vantagem de ser facilmente isolado das células, facilmente manipulado e facilmente reintroduzido noutras células.

Na transformação de plantas são usados plasmídeos da bactéria *Agrobacterium tumefaciens*. Esta bactéria infecta plantas dicotiledóneas, provocando tumores, devido à

transferência de genes contidos nos plasmídeos da bactéria que se inserem de modo estável no genoma da planta. Este sistema natural de transferência de genes entre a bactéria e a planta foi aproveitado para transferir genes de interesse.

Para além dos plasmídeos, outros vectores de transferência de genes podem ser usados como por exemplo os vírus.

A electroporação é outra técnica que permite incorporar DNA exógeno em protoplastos vegetais por exposição a um campo eléctrico. Também pode ser usada para a fusão de protoplastos de espécies, relacionadas ou não. Esta é uma ferramenta útil na manipulação de genes em mono e dicotiledóneas.

Outra abordagem para transferir genes inclui o método de balística, ou “canhão de genes”, que utiliza pequenas partículas aceleradas, de ouro ou tungsténio, revestidas com material genético. As partículas são disparadas contra as células e o seu DNA acaba por ser incluído no DNA da célula (Salema, 1999; Lima e Mota, 2003).

A construção de organismos mais eficientes não se resume a transferir genes estruturais de enzimas ou a interromper genes indesejáveis. É necessário que as novas reacções funcionem num padrão metabólico já estabelecido.

CAPITULO V: PRINCIPAIS METODOLOGIAS E APLICAÇÕES DA BIORREMEDIAÇÃO

As tecnologias de biorremediação pretendem otimizar, para cada situação concreta, a actividade metabólica dos organismos e a degradação/biotransformação dos contaminantes.

Algumas técnicas limitam-se a fazer a monitorização e a quantificar a actividade dos organismos indígenas. São conhecidas genericamente como “biorremediação intrínseca” ou “atenuação natural” (Adriano *et al.*, 2004). Noutros casos, o homem intervém no meio acelerando os processos naturais pela mitigação dos factores limitadores da actividade dos organismos. Esta mitigação pode ser levada a cabo através de bioestimulação, de bioampliação das populações indígenas ou controle dos parâmetros físico-químicos.

A bioestimulação refere-se à introdução de oxigénio, água e nutrientes minerais (geralmente combinações de azoto, fósforo e metais vestigiais) que vão estimular a actividade dos organismos presentes. A bioampliação é uma estratégia em que se aumenta o número de organismos indígenas, previamente aclimatados, ou se introduzem organismos fisiologicamente seleccionados e/ou geneticamente modificados no sentido aumentar a sua capacidade de degradação ou de resistência às condições do meio.

Os processos de biorremediação podem desenvolver-se *in situ* (no próprio local) ou

ex situ (com extracção e transporte). A linha de demarcação entre procedimentos *in situ* e *ex situ* nem sempre é clara, como no caso dos métodos de bombagem de águas subterrâneas, em que o tratamento é realizado imediatamente adjacente ou acima do local de contaminação.

1. Sistemas *in situ*

Na biodegradação *in situ* a própria superfície contaminada funciona como um biorreactor. A principal vantagem deste processo é que permite o tratamento do solo, sem ser escavado ou transportado, ou o tratamento da água subterrânea, sem a trazer à superfície. A perturbação da actividade local é, assim, minimizada e os custos significativamente reduzidos.

Os processos *in situ*, por outro lado, requerem períodos de tempo relativamente longos e não há certeza sobre a uniformidade de tratamento, por causa da inerente variabilidade dos factores ambientais e das características do solo ou aquíferos. O sucesso dos tratamentos requer amostragem e monitorização cuidadosas e a eventual utilização de modelos ambientais para estimar o tempo de remediação e a deslocação da pluma de contaminação. O processo pode ser aplicado a solos contaminados (na zona vadose e na zona saturada), a águas subterrâneas e a lagoas.

A remediação *in situ* dos solos é dificultada pela lenta circulação dos fluidos. Não é adequada para contaminantes não voláteis se os valores de condutividade hidráulica (K) forem inferiores a 10^{-8} m/s (Leitão *et al.*, 2003). Nesses casos, é recomendada a utilização de processos de contenção. Para valores de condutividade hidráulica superiores a 10^{-8} m/s mas

inferiores a 10^{-6} m/s, a reabilitação *in situ* só é viável para compostos voláteis (Leitão *at al.*, 2003) que poderão ser eliminados por processos de injeção de ar na zona saturada. A partir de valores de condutividade hidráulica superiores a 10^{-6} m/s é possível a remediação *in situ* de compostos não voláteis (Leitão *at al.*, 2003).

1.1. Atenuação natural monitorizada

A atenuação natural monitorizada, ou biorremediação intrínseca, envolve a quantificação, avaliação e monitorização dos processos de biodegradação naturais que actuam nos contaminantes do solo e da água subterrânea.

Os programas informáticos de modelação ambiental podem ser uma ferramenta valiosa uma vez que permitem, a partir de dados reais (obtidos em poços de monitorização), estimar a deslocação da pluma, a concentração e o tempo de degradação dos contaminantes. Deve ser tido em conta que a degradação abiótica, a sorção, a diluição e a volatilização também contribuem para o desaparecimento dos contaminantes.

A atenuação natural monitorizada é um processo de tratamento a longo-prazo cujo sucesso depende das características do local, da complexidade da hidrologia dos solos e da avaliação adequada dos riscos envolvidos na contaminação. A sua vantagem mais atractiva é o baixo custo dos projectos. A principal desvantagem é o longo tempo de remediação.

A atenuação natural tem sido usada em locais contaminados com solventes clorados, benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, fenóis, bifenis policlorados, pesticidas e compostos inorgânicos (Alexander, 1999; Norris *at al.*, 1993; EPA, 2004a; Sing e Ward, 2004).

1.2. Bioventilação

A bioventilação é uma tecnologia de remediação *in situ* que cria um fluxo de ar lento na zona vadose, suficiente para fornecer oxigénio às populações de microrganismos indígenas e estimular a biodegradação dos contaminantes.

O fluxo de ar pode ser conseguido por injeção (fluxo positivo) ou por extracção a vácuo (fluxo negativo)³. Os resíduos adsorvidos e os compostos voláteis são degradados facilmente, porém, os compostos com elevada pressão de vapor podem volatilizar tão rapidamente que não chegam a ser degradados. Sendo assim, é aconselhável a monitorização de gases-off na superfície do solo.

O sucesso da bioventilação depende da caracterização adequada do local e do conhecimento da natureza dos contaminantes. No caso da permeabilidade dos solos ser muito baixa, ou do lençol freático ser muito profundo, ou ainda, se existirem câmaras de solos saturadas, a bioventilação pode não ser a opção mais adequada.

Na maior parte dos casos, no entanto, esta tecnologia tem sido o método de tratamento preferido da zona vadose, devido à sua performance e aos baixos custos da operação. Tem sido aplicado, com sucesso, em locais contaminados por hidrocarbonetos de petróleo, hidrocarbonetos aromáticos e poliaromáticos, fenóis, alguns compostos alifáticos clorados, solventes não clorados e alguns pesticidas (Noris *et al.*, 1993; Fetter, 1999, Alexander, 1999; EPA, 2004a, Khan *et al.*, 2004).

³ Não deve ser confundido com a extracção de vapores do solo (Soil Vapor Extraction, SVE), uma vez que, as taxas de fluxo são muito mais baixas.

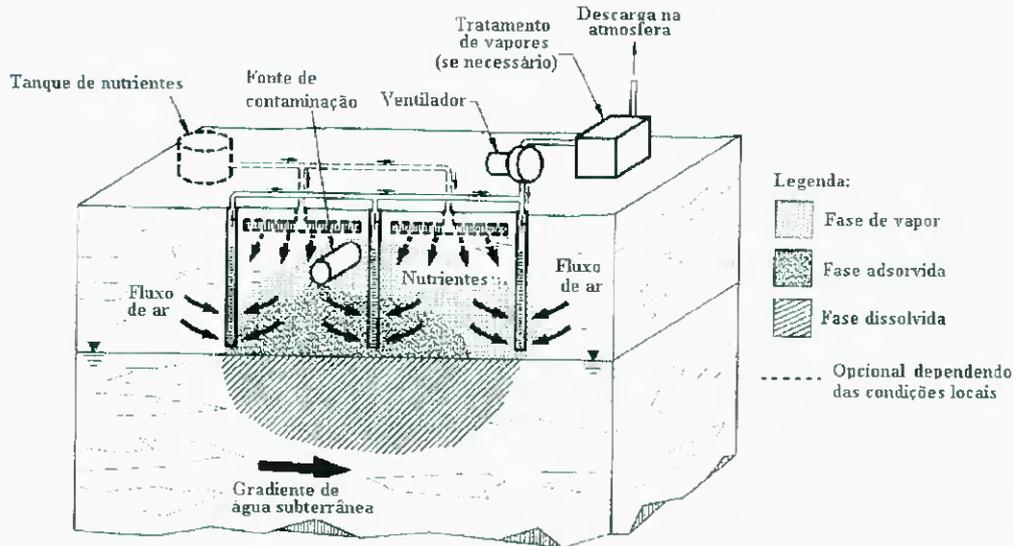


Fig.16- Sistema de bioventilação típico conseguido pela extracção lenta de vapores (adaptado de www.tecnohidro.com.br).

1.3. Extracção de vapores do solo (*Soil Vapor Extraction–SVE*)

O sistema de extracção de vapores do solo remove os contaminantes voláteis da zona vadose do solo através da aplicação de uma pressão negativa (vácuo) que produz uma corrente de ar com elevada taxa de fluxo.

O procedimento de extracção de vapores do solo, não tendo o intuito de ser biorremediativo, resulta em alguma biodegradação devido aos movimentos de ar associados. É frequentemente usado em conjunto com a técnica biosparging (Noris *et al.*, 1993; Fetter, 1999; Alexander, 1999; EPA, 2004a; Khan *et al.*, 2004).

1.4. Biosparging

O biosparging refere-se à injeccção de ar sob pressão na zona saturada do solo, isto é, abaixo do lençol freático. O objectivo é promover a degradação no aquífero e, ao mesmo tempo, transferir os contaminantes voláteis para a zona superior não saturada, que

geralmente contem uma população de organismos capaz de degradar estes compostos.

Devido aos movimentos ascendentes e laterais dos contaminantes volatilizados, o biosparging é frequentemente usado em conjunto com sistemas de extração de vapores, SVE, para remover os contaminantes volatilizados não degradados da zona vadose. Neste caso é necessário o tratamento dos vapores extraídos.

Variantes deste método usam O_3 em lugar de ar atmosférico (Noris *et al.*, 1993; Alexander, 1999; EPA, 2004a; Greg, 2001; Khan *et al.*, 2004).

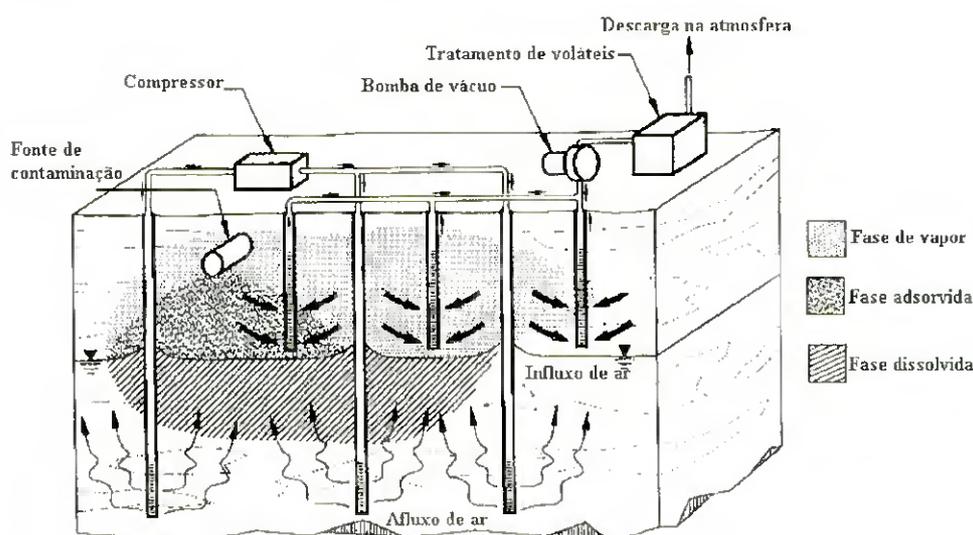


Fig.17- Unidade de biosparging com extração de vapores, SVE (adaptado de www.tecnohidro.com.br)

1.5. Fitorremediação

O termo fitorremediação aplica-se à utilização de sistemas vegetais (árvores, arbustos, plantas rasteiras e aquáticas) e os microrganismos associados, para remover, degradar ou isolar substâncias tóxicas do ambiente.

Esta tecnologia depende das relações sinérgicas estabelecidas entre os organismos vegetais, os microrganismos e o ambiente. Não requer técnicas de engenharia complexas

mas requer o estabelecimento de uma comunidade apropriada e a aplicação de técnicas agronómicas para potenciar os processos naturais.

As substâncias “alvo” da fitorremediação incluem metais pesados (Pb, Zn, Cu, Ni, Hg, Se), compostos inorgânicos (NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-}), elementos químicos radioativos (U, Cs, Sr), hidrocarbonetos derivados de petróleo, pesticidas e herbicidas (atrazina, bentazona, compostos clorados e nitroaromáticos), explosivos (TNT, DNT), solventes clorados (TCE, PCE) e resíduos orgânicos industriais (PCPs, PAHs), entre outros (Pletsch, 1999; EPA seminars, 1996; Qadir e Oster, 2004).

A fitorremediação permite tratar grandes áreas a baixo custo e ao mesmo tempo embelezar o ambiente. O tempo para se obterem resultados satisfatórios pode ser longo e a concentração dos contaminantes e de toxinas tem de estar dentro dos limites de tolerância da planta (Dinardi *at al.*, 2003) É necessário, também, impedir que as plantas entrem nas cadeias alimentares. O sucesso de um projecto de fitorremediação requer estratégias multidisciplinares, nomeadamente, fisiologia das plantas, química dos solos, microbiologia dos solos, ecotoxicologia e técnicas laboratoriais específicas.

Cobertura vegetal

A cobertura vegetal é um sistema de plantas auto sustentável a longo prazo que requer manutenção mínima. A cobertura vegetal reduz a um nível aceitável o risco colocado pelos contaminantes locais. Para além de minimizar a infiltração, isolar os resíduos, controlar os gases e aumentar a degradação, os sistemas de coberturas vegetais são também usados para restaurar ecossistemas florestais. Há dois tipos básicos de cobertura vegetal: a cobertura de evapotranspiração e a cobertura de fitorremediação.

A *cobertura de evapotranspiração* é projectada para maximizar a taxa de evapotranspiração das plantas e a capacidade de retenção de contaminantes no solo,

minimizando a infiltração e a migração da pluma de contaminantes. Representa uma forma de *controlo hidráulico* pelas plantas e requer plantas com sistemas de raízes profundos, como os choupos, salgueiros e álamos (Singh e Ward, 2004; Dinardi *et al.*, 2003). Esta tecnologia é usada no tratamento de águas subterrâneas, águas superficiais e águas do solo contaminadas por contaminantes solúveis não tóxicos para as plantas.

A cobertura de fitorremediação é projectada para potenciar a biodegradação de contaminantes numa determinada camada de resíduos, prevenindo a exposição e reduzindo os leixivados. Neste caso verifica-se uma redução efectiva da quantidade de contaminantes nos solos e aquíferos (Singh e Ward, 2004; Dinardi *et al.*, 2003).

Barreiras Vegetais

As barreiras vegetais são um conceito similar às barreiras físicas e químicas reactivas permeáveis, no sentido em que tratam a água subterrânea sem a extrair ou reter. As barreiras biológicas incorporam certos aspectos do controlo hidráulico verificando-se também fitodegradação, rizodegradação, fitovolatilização e fitoextração. São geralmente aplicadas ao longo de linhas de água para controlar as escorrências superficiais e prevenir a percolação e a contaminação da água subterrânea.

Açudes Naturais e Artificiais⁴

São ecossistemas formados por solos orgânicos, microrganismos, algas e plantas aquáticas vasculares que trabalham conjuntamente no tratamento dos efluentes, através das acções combinadas de degradação, filtração, troca iónica, bioadsorção e precipitação. É o mais antigo método de tratamento dos esgotos municipais e industriais.

⁴ O açude artificial, embora seja referido aqui, é um sistema que geralmente funciona *ex situ*

Lagoas de Macrófitas⁵

As macrófitas aquáticas exercem importante papel na captação de substâncias dissolvidas, assimilando-as e incorporando-as à sua biomassa. O seu sistema radicular funciona como um filtro mecânico retendo material particulado (orgânico e mineral) e criando um ambiente rico em fungos e bactérias, que funciona como agente de descontaminação das águas.

A sedimentação, nestas lagoas, é muito eficiente porque a cobertura de macrófitas evita o movimento das águas. A espécie *Eichhornia crassipes*, o aguapé, tem sido uma planta hidrófita estudada para o tratamento de água com plantas (Dinardi *et al.*, 2003)

Diversos sistemas de lagoas para aplicação das macrófitas podem ser constituídos dependendo das características de cada planta ou do sistema de lagoa que se deseja empreender.

Sistemas baseados em macrófitas aquáticas flutuantes

Trata-se de plantas com tecidos fotossintéticos flutuantes e com raízes longas livres ou enraizadas, dependendo da profundidade do meio a ser tratado.

Sistemas baseados em macrófitas submersas.

Trata-se de plantas com os tecidos fotossintéticos completamente imersos. As principais espécies que integram este tipo são: *Elodea canadensis*, *Elodea nuttali*, *Egeria densa*, *Ceratophyllum demersum*, *Hydrilla verticillata*, *Cabomba caroliniana*, *Miriophyllum heterophyllum* e *Potamogeton* sp (Dinardi *et al.*, 2003):

⁵ As lagoas de macrófitas, embora sejam referidas aqui, são uma técnica *ex situ*.

Sistemas baseados em macrófitas aquáticas emergentes.

Neste sistema o fluxo de contaminantes pode ser superficial; sub-superficial horizontal ou sub-superficial vertical. Na concepção de um sistema de tratamento é possível optar por um destes tipos, isoladamente, ou combiná-los entre si, ou ainda combiná-los com sistemas convencionais de depuração.

Em todo o mundo já existem centenas de estações de tratamento de águas através de plantas, as chamadas ETAPs ou Fito-ETARs, que fazem o tratamento de efluentes líquidos domésticos e industriais. As plantas utilizadas são macrófitas aquáticas flutuantes, submersas ou emergentes.

1.6. Biobarreiras

As biobarreiras são barreiras físicas formadas por um meio poroso onde se desenvolve um biofilme bacteriano. A água subterrânea com contaminantes orgânicos/inorgânicos é activamente ou passivamente canalizada através da zona biológica activa para receber tratamento. A acumulação de substâncias pode causar o entupimento do meio poroso e influenciar o fluxo de água e o transporte de substâncias através deste meio poroso.

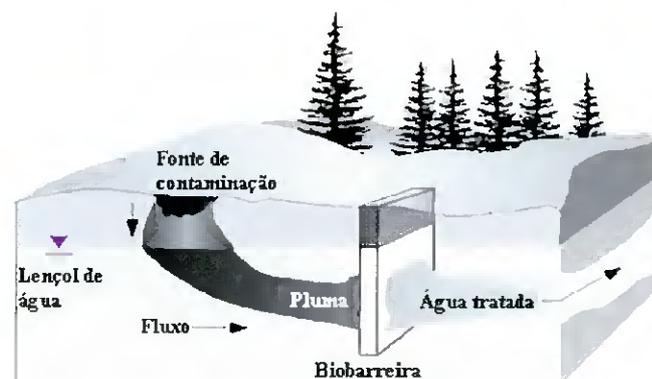


Fig.18- Biobarreira (adaptado de www.powellassociates.com)

As biobarreiras são importantes para minimizar danos ambientais após derrame de produtos perigosos, como derivados do petróleo e compostos xenobióticos, separando os produtos perigosos dos aquíferos e corpos de água (EPA, 2004a; Furtado, 2005; Nobre e Nobre, 2003; Grindstaff, 1998).

1.7. Lagoas de fase heterogénea (slurry)

É uma forma de tratamento de fase heterogénea *in situ*. As lagoas de armazenamento de solo e lamas podem ser transformadas em biorreatores aeróbios de fase heterogénea (slurry) *in situ* pela adição de sistemas de arejamento. O arejamento provoca fluxos de água e ressuspende as lamas sedimentadas, tornando-as mais disponíveis. Este processo pode, no entanto, resultar na libertação de componentes voláteis perigosos para a atmosfera. Os líquidos são posteriormente decantados para tratamento complementar. A adição de substratos facilmente degradáveis permite obter condições anaeróbias.

Processos lagunares *in situ* têm sido usados com sucesso, e com baixo custo, no tratamento de solo e lamas contaminadas com hidrocarbonetos de petróleo e de resíduos de conservantes da madeira com pentaclorofenol (PCP), creosoto, e PAHs. Mais recentemente, tratamentos anaeróbios de lagoas têm sido usados para processar solos e lamas contaminados com compostos nitroaromáticos (EPA seminars, 1996).

2. Sistemas *ex situ*

Os sistemas de tratamento *ex situ* requerem escavação do solo ou bombeamento de águas subterrâneas, o que conduz a custos acrescidos. A principal vantagem destes sistemas é que decorrem em períodos de tempo geralmente mais curtos do que os sistemas *in situ* e o tratamento é mais uniforme, por causa da possibilidade de homogeneizar, filtrar, e misturar continuamente. Além disso, os sistemas *ex situ* são mais fáceis de controlar, mais versáteis e os subprodutos ficam retidos na unidade de tratamento.

Os sistemas *ex situ* podem ser desenvolvidos para tratamento de contaminantes em fase líquida (em biorreactores diversos), em fase heterogénea (biorreactor slurry), em fase sólida (tratamento de terra/landfarming, compostagem e biopilhas) e em fase de vapor (biofiltros, biopercoladores e biossorvedores).

2.1. Sistemas *ex situ* para tratamento de líquidos

O tratamento biológico de fase líquida consiste na passagem dos contaminantes líquidos através de um reactor (tanque) contendo biomassa de organismos ou microrganismos aclimatados altamente activos, suspensa ou fixa a uma matriz. Os líquidos contaminados podem receber tratamento complementar físico/químico antes e depois do tratamento biológico, dependendo do tipo de resíduo.

O pré-tratamento geralmente inclui: *uniformização e armazenamento* (para regularização do fluxo), *tratamento químico* (precipitação de metais e desengorduramento), *separação física* (sedimentação e floculação) e *condicionamento* (fornecimento de nutrientes e ajuste de pH).

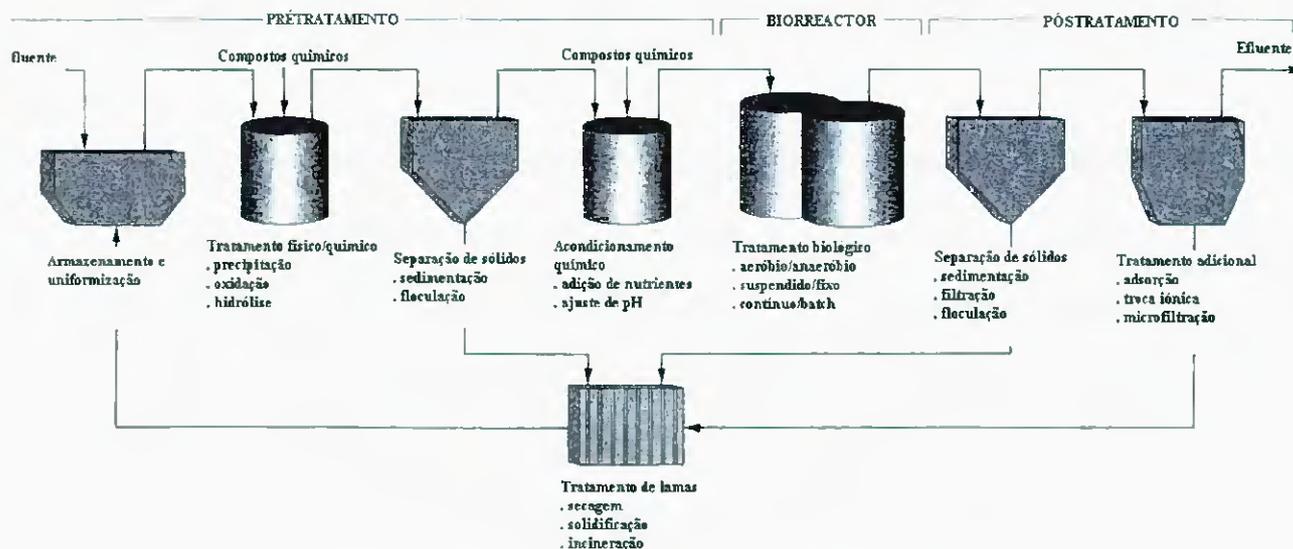


Fig.19-Tratamento biológico de líquidos com pré e pós tratamento (adaptado de LaGrega *et al.*, 2001)

No tratamento biológico podem ser usados diversos tipos de biorreatores. O fluxo de contaminantes pode ser contínuo ou descontínuo (batch), e o reactor pode ser operado em condições aeróbias ou anaeróbias. Para condições aeróbias, o oxigénio é adicionado por um difusor ou por uma superfície de arejamento. A mistura dos componentes do reactor pode ser conseguida por agitação mecânica ou por um *sistema pneumático* em que as bolhas de oxigénio são introduzidas na base da coluna do reactor e sobem até ao topo fornecendo oxigénio e provocando uma corrente de contaminantes líquidos.

Reactores batch (processo descontínuo)

Os sistemas batch permitem tratar pequenos volumes de líquidos e são adequados para contaminantes muito concentrados.

O *reactor batch sequenciado (SBR)* é uma variação dos processos batch, que permite a reciclagem da biomassa no final do processo. O SBR pode ser desenhado para remover matéria orgânica, azoto, fósforo e amónia. Os principais componentes são um tanque batch, sistemas de arejamento e agitação, mecanismos de decantação, bombas e sistemas de controlo. A simplicidade e flexibilidade do SBR tornam-no apropriado para

processos em pequena escala (EPA, 2004b; LaGrega *et al.*, 2001; Alexander, 1999; King *et al.*, 1992).

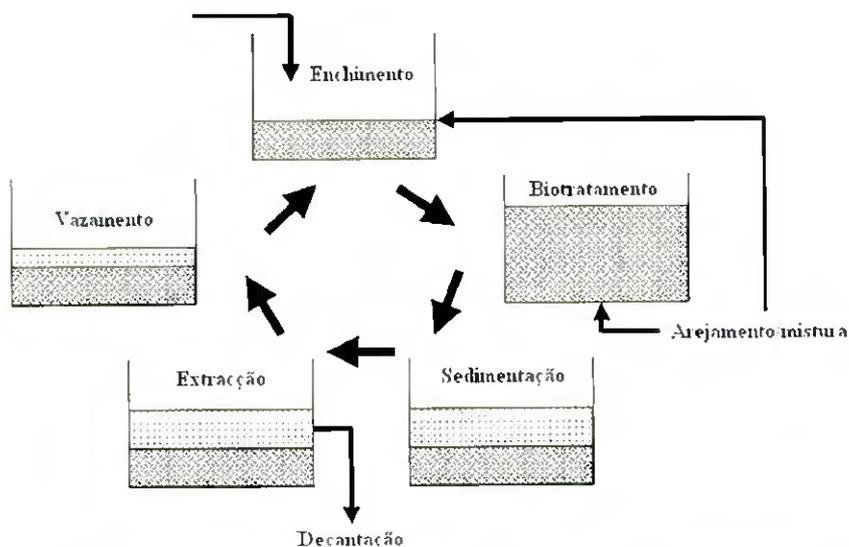


Fig.20- Operações num reactor batch sequenciado (SBR) (Adaptado de EPA, 2004b).

Reactores de fluxo contínuo e biomassa suspensa

Os reactores de fluxo contínuo e biomassa suspensa são usados para grandes volumes de águas com elevada concentração de contaminantes. Exemplos de biorreactores de biomassa suspensa são os usados nos sistemas de *lamas activadas* das ETARs (estações de tratamento de águas residuais). Nestes sistemas a biomassa tem elevada densidade e o arejamento é forçado através de ar comprimido (com difusores porosos, aspersores, tubos perfurados, etc.), ou por sistemas de mecânicos (turbinas ou arejadores de escovas) ou sistemas de hidroinjecção. O reactor pode ser um tanque único, de mistura completa, ou um reactor em pistão, com células sequenciais. O tratamento de lammas activadas pode ser usado como pré-tratamento de um biorreactor de leito fixo (LaGrega *et al.*, 2001; King *et al.*, 1992).

Nos sistemas *PACT* (*powdered activated carbon treatment*) é introduzido carbono activado no biorreactor para adsorver os compostos não metabolizados que, de outro modo, poderiam ser tóxicos para a biomassa (LaGrega *et al.*, 2001).

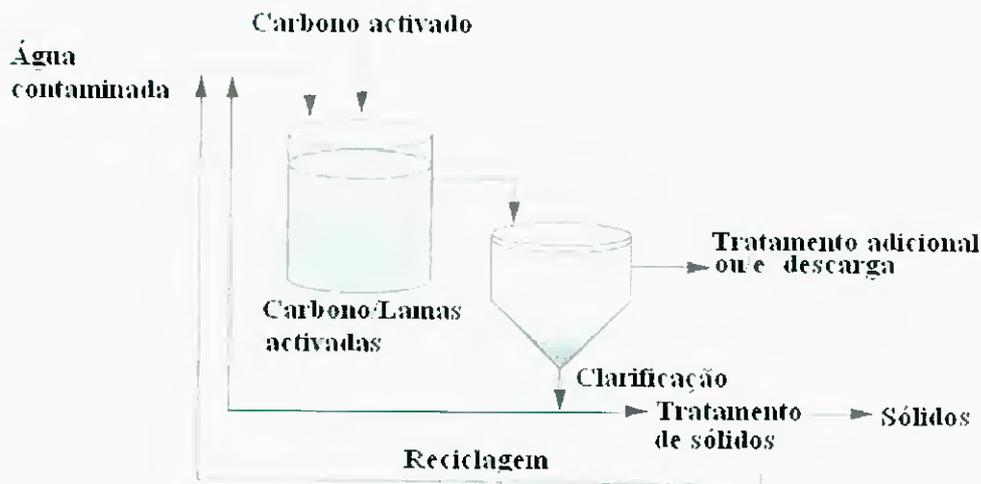


Fig.21- Processo PACT (adaptado de LaGrega *et al.*, 2001)

Nos sistemas de *biorreactores de membrana* o tanque de biomassa em suspensão é acoplado a um sistema de membranas de clarificação. As principais vantagens destes sistemas são a recuperação eficiente da biomassa e a implementação facilitada de sistemas avançados de controlo. Os sistemas de reactores de membrana têm sido usados no tratamento de resíduos de óleos, álcoois, e resíduos de indústrias alimentares (LaGrega *et al.*, 2001).

Reactores de fluxo contínuo e células imobilizadas

São reactores nos quais as células estão imobilizadas num suporte e portanto não são perdidas quando o efluente sai do reactor. O processo de tratamento é adequado para águas com baixa concentração de contaminantes em que o crescimento microbiano reduzido não reporiria as células perdidas no efluente.

Nos *biorreactores de leito fixo* existe um suporte, frequentemente carbono activado, ao qual as bactérias se ligam e crescem formando um biofilme muito activo. O suporte tem uma grande área de superfície para permitir o desenvolvimento de uma biomassa extensa. Os contaminantes formam uma camada fina sobre a massa celular e difundem-se do

líquido para o biofilme, onde são degradados.

Os filtros gotejantes (*trickling*) são uma forma de crescimento fixo em que a biomassa se desenvolve sobre um filtro e a solução contaminada é admitida por gotas sobre a fase sólida. Os microrganismos metabolizam os contaminantes durante o tempo de passagem pelo filtro. Os filtros mais comuns são de gravilha, escória ou de pedras roladas. Os componentes principais são um distribuidor rotativo, um sistema de drenagem e o material do filtro. O líquido contaminado é bombeado na vertical para o distribuidor rotativo e espalha-se uniformemente sobre a superfície do filtro (Hammer e Hammer, 2001).

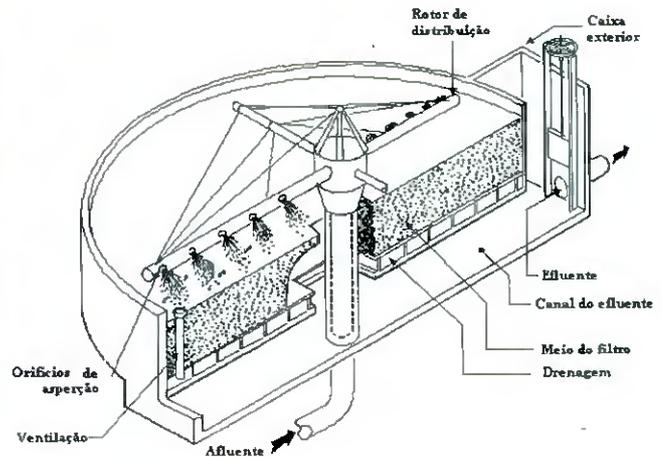


Fig.22- Filtro trickling com meio de gravilha e esquema dos seus componentes.

As torres biológicas são filtros gotejantes manufacturados com meios sintéticos em pequenos módulos. Os módulos são leves e podem ser empilhados aleatoriamente, formando um cilindro. As principais vantagens são a grande superfície por unidade de volume e a grande percentagem de espaços vazios, que permitem um crescimento biológico substancialmente maior e maior fornecimento de oxigénio do que os filtros gotejantes comuns (Hammer e Hammer, 2001).

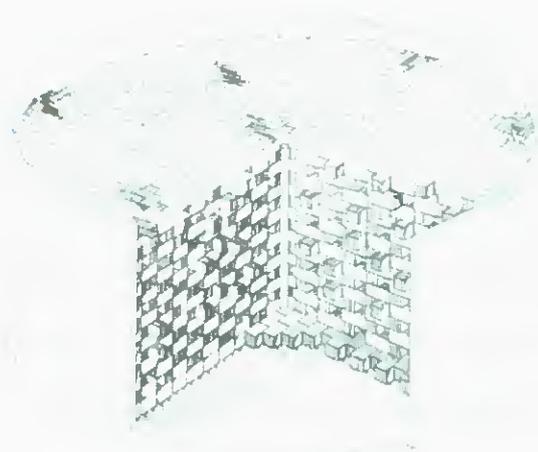


Fig.23- Construção de uma torre biológica (adaptado de Hammer e Hammer, 2001).

Nos biorreactores de leito fluidizado a biomassa desenvolve-se em partículas de areia, carbono activado, ou outro meio inerte formando um biofilme. O reactor é operado com uma velocidade de fluxo ascendente alta para manter as partículas em suspensão. No entanto, as partículas têm que ser suficientemente pesadas para não serem lavadas para fora do reactor com a corrente. A saída do efluente pelo topo do reactor mantém a velocidade da corrente ascendente. Os biorreactores de leito fluidizado têm sido usados no tratamento de resíduos BTEX e PAHs, nafetilamina, clorofenóis e PCP (LaGrega *at al.*, 2001, Alexander, 1999).

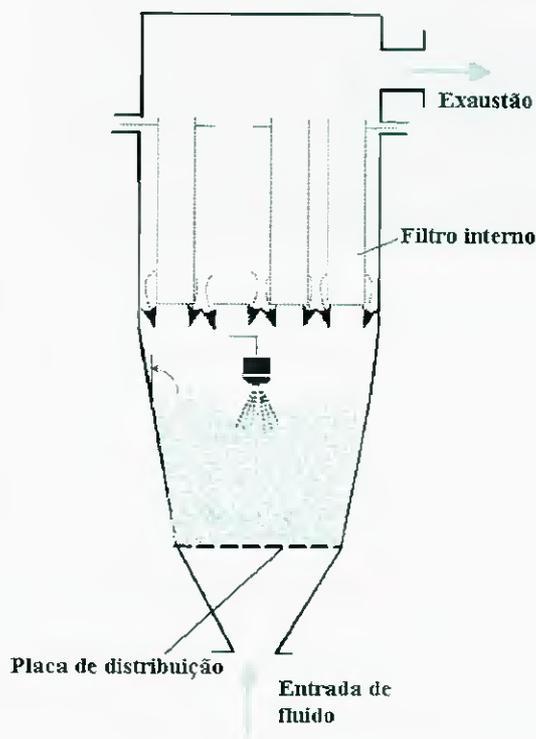


Fig.24- Biorreactor de Leito Fluidizado (adaptado de Hammer e Hammer, 2001).

Os biorreactores de disco rotativo (*contactores ou biodiscos*) são reactores que contêm vários discos (de 1,5 ou 3,5 m) ligados a uma coluna colocada horizontalmente, logo acima dos líquidos contaminados, que gira lentamente. Uma parte do biofilme que se desenvolve nos discos fica dentro da fase líquida. Uma vez que os discos giram, a porção fora da fase líquida é arejada e a biomassa mantém-se humedecida devido ao filme de água aderente. Os cilindros e a coluna horizontal estão num tanque alongado, ou numa série de tanques, através dos quais a água contaminada passa (Alexander, 1999; Hammer e Hammer, 2001; King *et al.*, 1992).

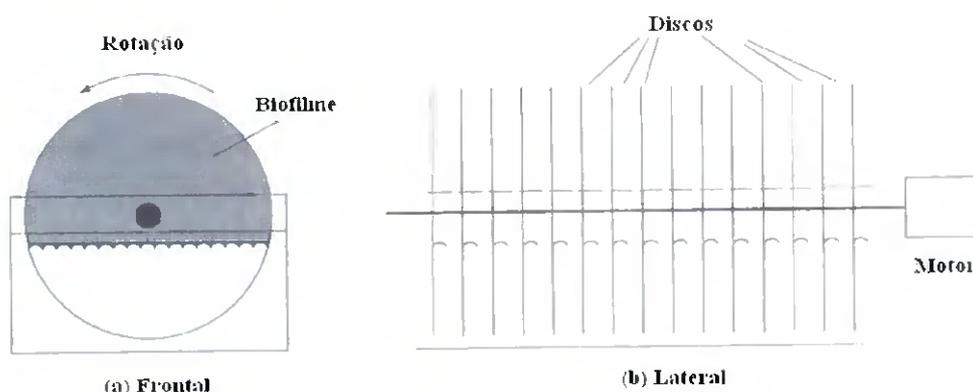


Fig.25- Biorreator de disco rotativo (adaptado de Alexander, 1999).

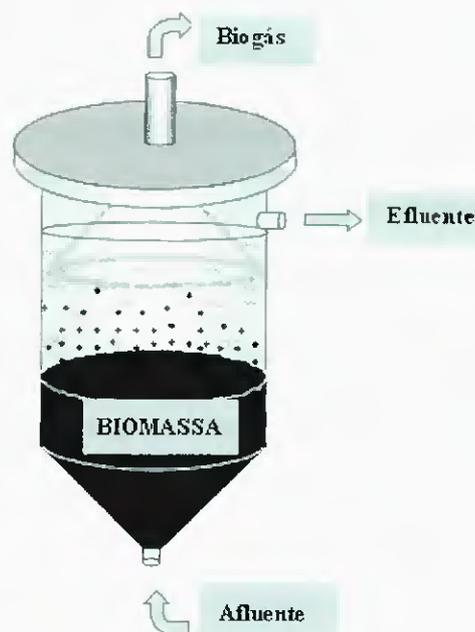
Reactores anaeróbios

Os sistemas contínuos de digestão anaeróbia envolvem ecossistemas complexos que incluem bactérias heterotróficas, sulfato-redutoras, sintróficas e metanogénicas. Os produtos finais principais são o dióxido de carbono e o metano (biogás) (Lima e Mota, 2003).

Estes sistemas gastam menos energia e produzem menos lamas do que os sistemas aeróbios. No entanto são muito menos eficazes na degradação da matéria orgânica.

Como exemplo de reactores anaeróbios temos as fossas sépticas e os digestores de mantos de lamas (Upflow Anaerobic Sludge Blanket- UASB). Estes últimos constituem os

sistemas mais sofisticados (fig.26). Funcionam com biomassa granulada, em que, cada grânulo é um ecossistema compacto que reúne, num pequeníssimo volume, as espécies envolvidas na digestão anaeróbia. A compactação e densidade dos grânulos permitem operar com elevados caudais e obter um alto rendimento (comparável aos sistemas aeróbios) (Lima e Mota, 2003; EPA seminars. 1996).



Os digestores anaeróbios são combinados com sistemas aeróbios para obter efluentes com elevada pureza. São usados,

Fig.26- Biorreator anaeróbio de tipo UASB (adaptado de http://www2.cbm.uam.es/uma/reactor_Elayn e.gif).

especialmente, no tratamento de resíduos municipais (lamas) e industriais concentrados e facilmente degradáveis (por exemplo, indústrias de produtos alimentares, farmacêuticos, conservas, papel, e químicas).

Sistemas lagunares

Nos *sistemas lagunares* a biomassa encontra-se em suspensão e o arejamento é gerado localmente pelas populações de organismos fotossintéticos residentes.

As lagoas anaeróbias são tanques de grande profundidade (4,0 a 5,0m). A profundidade é importante no sentido de reduzir a possibilidade de penetração do oxigénio produzido na superfície para as demais camadas. A carga orgânica aplicada deverá ser alta de maneira que a taxa de consumo de oxigénio seja várias vezes superior a taxa de produção, criando condições estritamente anaeróbias. As lagoas anaeróbias removem apenas de 50 a 60% da carga orgânica do afluente (Serafim *et al.*, 2003).

As lagoas facultativas são tanques de menor profundidade (1,5 a 3,0m). O esgoto afluente entra numa extremidade da lagoa e sai na extremidade oposta. Ao longo desse percurso, que demora vários dias, uma série de mecanismos actuam nas três zonas das lagoas, denominadas: zona anaeróbia; zona aeróbia; zona facultativa. A matéria orgânica em suspensão tende a sedimentar, vindo a constituir o lodo de fundo (zona anaeróbia). Este lodo sofre o processo de decomposição por microrganismos anaeróbios, sendo convertido lentamente em dióxido de carbono, metano e gás sulfídrico. Após um certo período de tempo, apenas a fracção inerte (não biodegradável) permanece na camada do fundo. O gás sulfídrico gerado não causa problemas de mau cheiro, pelo facto de ser oxidado, por processos químicos e bioquímicos na camada aeróbia superior. A matéria orgânica dissolvida e em suspensão não sedimentam permanecendo dispersas na massa líquida. Na camada mais superficial, tem-se a zona aeróbia. O oxigénio é fornecido ao meio pela fotossíntese realizada pelas algas. Tem-se, assim, um perfeito equilíbrio entre o consumo e a produção de oxigénio e dióxido de carbono (Zoratto *et al.*, 2003; Serafim *et al.*, 2003).

O sistema de lagoas facultativas pode ser projectado para ter mais de uma lagoa, o que confere uma maior flexibilidade operacional. As células podem ser colocadas em série (fluxo em pistão, com maior eficiência) ou em paralelo (maior flexibilidade e garantia, no



Fig.27- Sistema lagunar com células em série.

caso de se ter de interromper o fluxo numa das lagoas, devido a algum problema ou para manutenção). No caso das lagoas em série, deve-se levar em consideração o facto da primeira célula trabalhar sobrecarregada, por receber toda a

carga do afluente, com possibilidade de ter condições de anaerobiose. Para contornar esta situação, podem adoptar-se sistemas de células de diferentes tamanhos, tendo a primeira unidade uma área maior (Zoratto *et al.*, 2003).

Os custos das lagoas de estabilização são bastante competitivos, desde que os custos do terreno não sejam excessivos. A construção é simples, envolvendo principalmente movimento de terra, e os custos operacionais são desprezíveis, em comparação com outros métodos de tratamento. A eficiência é geralmente satisfatória, podendo chegar a níveis comparáveis aos da maior parte dos outros tratamentos secundários (LaGrega *et al.*, 2001; Zoratto *et al.*, 2003).

2.2. Sistemas *ex situ* para tratamento de fase heterogénea

O tratamento biológico de fase heterogénea (slurry) refere-se ao tratamento do solo escavado num biorreactor.

O solo escavado é sujeito a um pré-tratamento onde são separadas as partículas de maiores dimensões, como as pedras e o cascalho, e adicionados surfactantes. O solo é, então, misturado e agitado, para remover os contaminantes superficiais e libertar os contaminantes adsorvidos. Por fim, é acrescentada água até se obter uma concentração predeterminada, que depende da concentração dos contaminantes, da taxa de biodegradação e da natureza física dos solos. O slurry contém cerca de 10 a 30% de sólidos por peso.

Os passos fundamentais do tratamento são a mistura/arejamento, a desorção e a biodegradação. O tratamento pode ocorrer num só tanque ou num sistema de vários tanques. No final o slurry é desidratado em clarificadores, filtros de pressão, filtros de

vácuo, camadas de areia de secagem ou centrífugas (LaGrega *at al.*, 2001; King *at al.*, 1992; Alexander, 1999).

Os reactores de fase heterogénea são adequados para solos de difícil tratamento, especialmente contaminados com níveis elevados de óleos densos, PAHs, pesticidas, e clorofenóis. Para compostos clorados e pesticidas podem ser usados biorreactores de fase heterogénea sequenciais aeróbio/anaeróbio

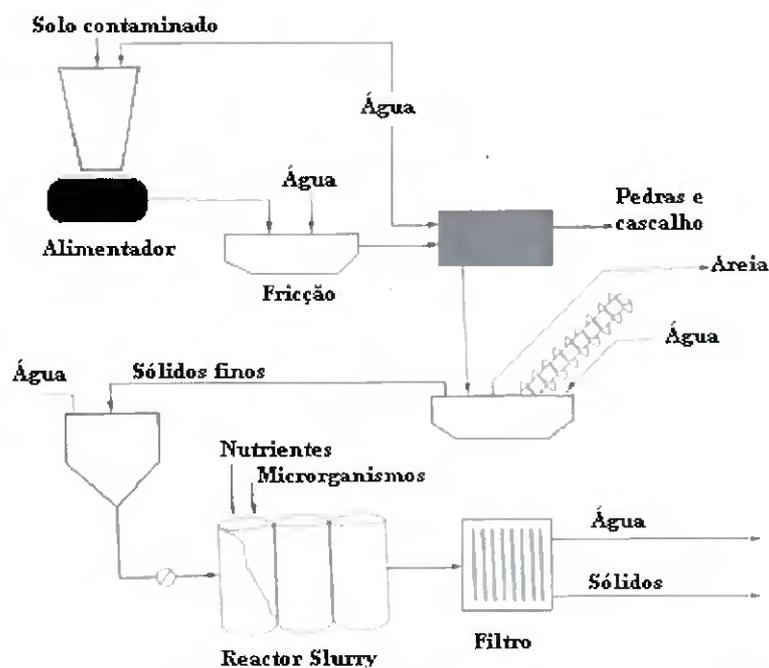


Fig.28- Sistema de tratamento em reactor de fase heterogénea (slurry) (adaptado de LaGrega *at al.*, 2001).

O tratamento de fase heterogénea *ex situ* tem sido menos usado do que o tratamento *in situ* em lagoas devido ao alto custo associado com a escavação e a manipulação de materiais e resíduos.

2.3. Sistemas *ex situ* para tratamento de fase sólida

O tratamento de fase sólida inclui os métodos biológicos clássicos usados no

tratamento de solos e lamas com pouca humidade.

Cultivo de Terra (landfarming)

Uma forma simples de destruir os contaminantes é adicioná-los ao solo e contar com a microflora indígena para a sua degradação ou imobilização. A profundidade à qual os resíduos são cultivados, tipicamente entre 10 e 30 cm, representa a zona de incorporação. O solo constitui o meio de tratamento. A área onde o tratamento ocorre é referida como a zona de tratamento, e pode estender-se por até 1,5m abaixo da superfície do solo (LaGrega *et al.*, 2001; EPA, 2004a).



Fig.29- Tratamento de Terra (landfarming)
(www.ftr.gov/matrix2/section4/D01-4-13.html)

Esta é uma tecnologia em grande escala na qual os solos contaminados, sedimentos ou lamas são revolvidos (isto é cultivados) permitindo a interação entre os microrganismos, o solo e o clima local.

Nenhum tipo particular de solo é ideal. Os solos mais permeáveis tendem a arejar e drenar melhor mas os solos finos, de baixa permeabilidade, geralmente têm uma capacidade de adsorção para metais mais alta. Os metais colocam um problema especial nas operações contínuas de cultivo de terra. O controlo do pH do solo leva à imobilização destes no solo e, com o tempo, as concentrações atingem valores tóxicos para a comunidade microbiana. Nessa ocasião a biodegradação vai abrandar ou parar, sendo necessário fechar o local ou substituir o solo por solo não contaminado.

O cultivo de terra é usado há muitos anos no tratamento de resíduos petrolíferos. Pode também ser usado na biodegradação de lamas, solos com creosoto, resíduos de

indústrias alimentares, de papel e cabedais e no tratamento de contaminantes inorgânicos (Alexander, 1999; EPA seminars, 1996; Duggan, 2005).

A principal vantagem do cultivo de terra é o baixo custo do equipamento e operação. Porém, é um processo lento e requer uma área de tratamento razoável. Além disso, os contaminantes orgânicos (e metais tóxicos, se presentes) podem ser lexiviados para os lençóis de água subterrâneos e as emissões voláteis podem colocar perigo para as zonas vizinhas.

Versão melhorada do Cultivo de Terra

É um sistema similar ao cultivo de terra mas incorpora o controlo da migração de contaminantes. O tratamento tem lugar em unidades onde o solo contaminado é aplicado em camadas e periodicamente revolvido. Quando o nível desejado de tratamento é alcançado, a camada é removida e é colocada uma nova camada. Uma parte da camada é mantida para inocular o material fresco com a cultura microbiana anterior, já aclimatada, o que reduz o tempo de tratamento.

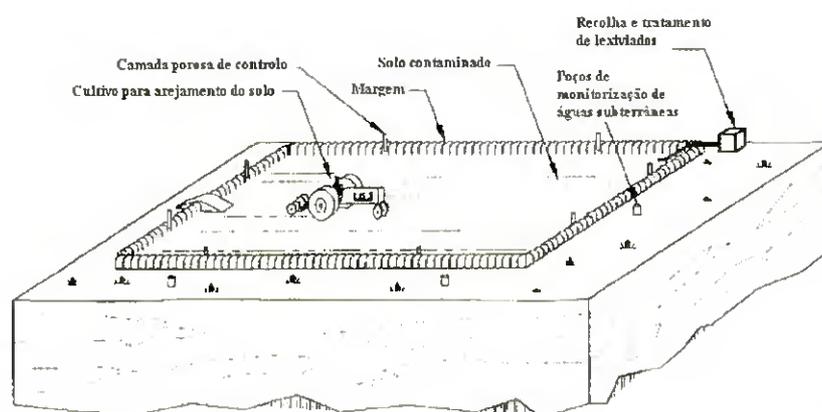


Fig.30- Construção de um sistema de Landfarming com recolha de lexiviados (adaptado de <http://www.nmenv.state.nm.us/ust/remed-4.html>).

Os processos de controlo de migração de contaminantes podem incluir:

- Uma barreira impermeável no fundo das células de tratamento;

- Sistema de recolha de leixivados abaixo da zona de incorporação;
- Sistema de recolha de água de escorrência superficial;
- Cobertura da superfície das células, para controlo da poluição do ar (opcional).

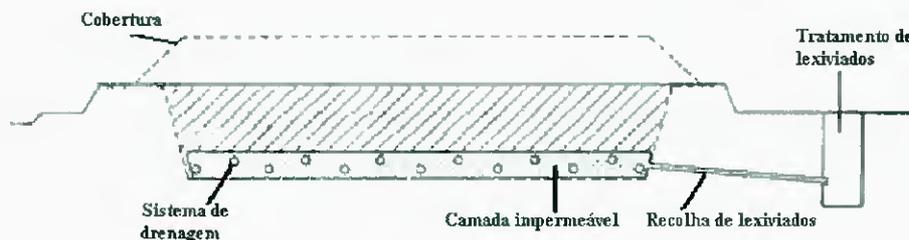


Fig.31- Perfil de operação de Landfarming típica com recolha de leixivados e voláteis (adaptado de <http://www.waterbodem.nl/images/artikelen/landfarming01.gif>)

A barreira impermeável pode ser uma membrana sintética ou uma camada de argila compactada. A argila impede a infiltração de água formando uma barreira à contaminação da água subterrânea. A cobertura, para além do controlo de emissões voláteis, previne a infiltração da água da chuva e ajuda a elevar a temperatura do solo em regiões frias. O ar contaminado da cobertura pode ser tratado com carbono activado, ou outra tecnologia de tratamento de voláteis.

Os custos e aplicabilidade desta técnica dependem da área de espaço necessária, dos factores climáticos não controláveis; da necessidade de monitorização e da necessidade de instalações de sistemas de recolha de águas circulantes e de voláteis.

Compostagem

O processo de compostagem decorre em quatro estádios microbiológicos relativamente à temperatura: mesofílico, termofílico (45 a 65°C), arrefecimento e maturação. A elevação da temperatura resulta do calor produzido pelos microrganismos durante a degradação do material orgânico. A manutenção do estágio termofílico pode ser conseguido pela mistura do solo com sólidos facilmente biodegradáveis (palha, feno e

restos de plantas), agentes de enchimento (raspas de madeira), e um inóculo microbiano termofílico. Os agentes de enchimento criam espaços vazios para a passagem do ar necessário ao fornecimento do oxigénio (Semple *et al.*, 2001; EPA, 2004a).

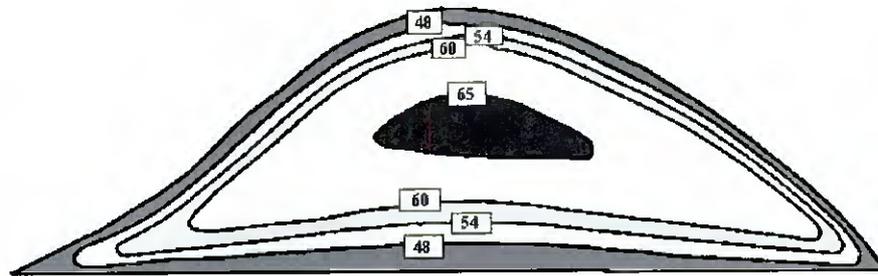


Fig.32- Variação de temperatura, em °C, no interior de uma pilha de compostagem (adaptado de <http://www.msstate.edu/dept/poultry/pics/comp2.gif>).

O arejamento é o factor mais importante para o controlo dos diversos parâmetros da compostagem. Tem como função o fornecimento de oxigénio e o controlo da temperatura. Níveis inadequados de oxigenação podem levar ao crescimento de microrganismos anaeróbios, causando emissão de gases de cheiro desagradável, nomeadamente a amónia. Podem ser colocados filtros biológicos para a recolha de odores.

A compostagem pode ser alterada sequencialmente de condições anaeróbias para aeróbias através do uso de aditivos orgânicos e arejamento controlado, permitindo remover também compostos mais susceptíveis à degradação anaeróbia.

As elevadas temperaturas são importantes no caso dos resíduos sólidos e lamas municipais, porque esterilizam os resíduos de microrganismos patogénicos. Esta esterilização não é importante no tratamento de resíduos perigosos e, portanto, podem ser suficientes bactérias mesofílicas, dependendo da sua capacidade de degradar os resíduos. Há três técnicas básicas de compostagem (Russo, 2003; La Grega *et al.* 2001):

Compostagem Windrows: Nesta técnica a mistura de resíduos orgânicos é empilhada em longas fileiras e revirada uma a duas vezes por semana, senão diariamente.



Fig.33- Pilha de compostagem windrows (<http://organic.tfrec.wsu.edu/compost/ImagesWeb/CompSys.html>)

Pilhas estáticas de compostagem: Esta técnica é similar ao windrows, excepto que a fileira não é revirada. O ar pode ser forçado através dos tubos perfurados ou pode ser extraído mecanicamente por vácuo. O sistema de extracção por vácuo, aplicado na base das fileiras, permite tratar o ar antes da sua exaustão para a atmosfera. O arejamento pode também ser passivo, com a construção das fileiras em cima de grelhas ou tubos de respiração.

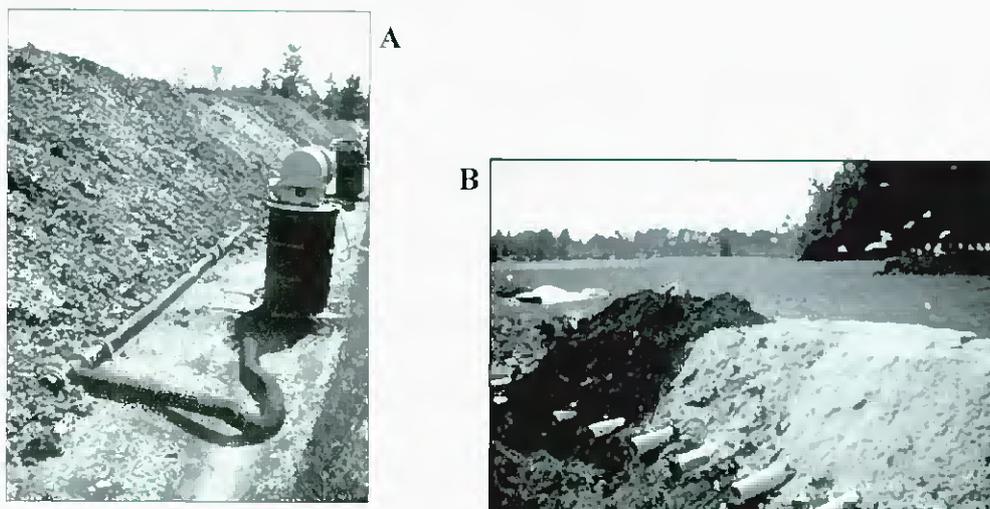


Fig.34- Pilha estática de compostagem. A- Sistema de arejamento forçado; B- Sistema de arejamento passivo (<http://organic.tfrec.wsu.edu/compost/ImagesWeb/CompSys.html>).

A compostagem windrows e as pilhas estáticas de compostagem quando são

construídas no exterior constituem um perigo potencial de contaminação. A construção de coberturas resistentes evita muitos dos problemas da migração dos contaminantes no solo, e para a atmosfera.

Reactor de Compostagem fechado: Um reactor fechado permite otimizar a operação de compostagem e completar o processo num tempo muito mais curto. Facilita também o controlo das emissões voláteis e a monitorização e controlo dos vários parâmetros como a humidade, temperatura e pH. O reactor pode ser operado de modo batch ou contínuo, com ou sem agitação.



Fig.35- Reactores de compostagem (http://www.compostsystems.com/cv_composter.html; http://www.compostsystems.com/pics/pic_hutchinson2.jpg).

A compostagem é adequada para o tratamento de solos com explosivos, com resíduos de petróleo, clorofenóis, pesticidas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) (Semple *et al.*, 2001)

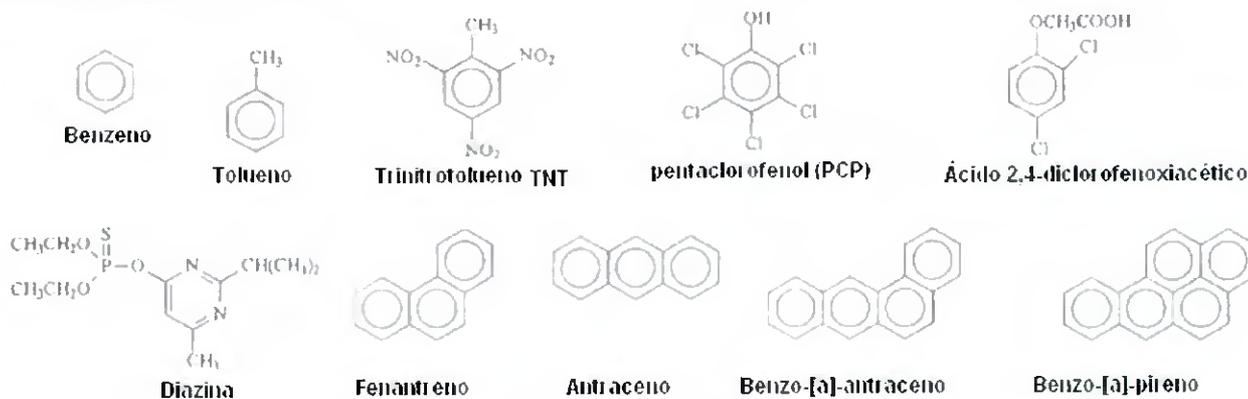


Fig.36- Alguns contaminantes que podem ser degradados pela compostagem. (adaptado de Semple *et al.*, 2001).

Biopilhas

As biopilhas são um método de tratamento de grandes volumes de solo particularmente vantajoso quando a área de terra disponível é limitada. As biopilhas são construídas em camadas de forma semelhante a uma pilha de compostagem estática mas diferem destas em diversos aspectos:

- Os solos contêm pequena concentração de contaminantes orgânicos e não são adicionados suplementos orgânicos;
- O processo é conduzido a temperaturas mesofílicas;
- As pilhas podem ser mais altas (entre 1m e 3 m de altura) maximizando o espaço;
- Só é utilizada a biodegradação aeróbia.

O tratamento de biopilhas envolve a construção de camadas de solo contaminado, em grandes quantidades, sobre um sistema de canalização de ar e uma base impermeável. O sistema de canalização faz circular o ar por vácuo ou por pressão. A emissão de voláteis é controlada por uma cobertura e/ou pelo vácuo e há um sistema de tratamento de vapores. Os leixados são controlados pela cobertura da pilha, que evita o excesso de infiltrações, e pela remoção da água colectada pela base impermeável. A água de drenagem pode ser tratada num biorreactor e adicionada à pilha, se necessário, para manter os níveis de humidade adequados. Podem ser adicionados agentes inertes, como fatias de madeira, para assegurar o fluxo adequado de ar e líquido através do solo.

As biopilhas degradam resíduos a uma taxa relativamente lenta e a duração da operação pode durar de algumas semanas a vários meses. No entanto, o processo é pouco dispendioso para volumes grandes de solo, em parte devido à reduzida área de tratamento.

A tecnologia de biopilhas tem sido usada em solos contaminados com

hidrocarbonetos de petróleo de fácil degradação, como a gasolina e o gasóleo (EPA, 2004a; LaGrega *at al.* 2001; EPA seminars, 1996).

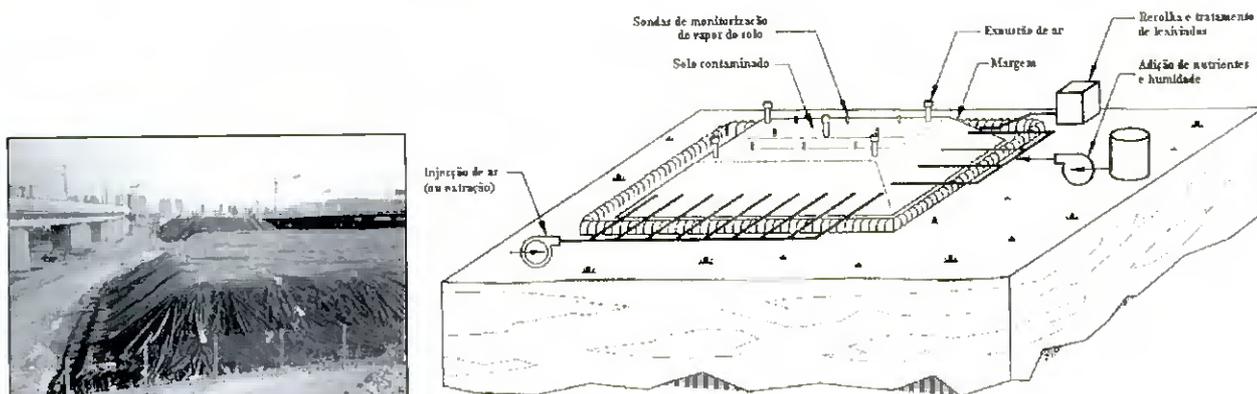


Fig. 37- Sistema de biopilhas típico (adaptado de <http://www.nmenv.state.nm.us/ust/remed-4.html>).

2.4. Sistemas de tratamento de fase de vapor

Os processos biológicos podem ser usados no tratamento do ar contaminado com contaminantes voláteis perigosos ou compostos causadores de odores. Estes contaminantes resultam frequentemente de emissões de sistemas *ex situ* ou *in situ* usados no tratamento de resíduos perigosos líquidos ou sólidos.

Biofiltros

Nos biofiltros os microrganismos são levados a crescer num suporte sólido e uma corrente de gás, ascendente ou descendente, contendo as moléculas indesejáveis passa através do suporte sólido. O suporte sólido pode ser uma mistura de agentes de enchimento, um meio inorgânico sintético ou o próprio solo. Em alguns biofiltros o meio encontra-se ao ar livre, noutros está fechado num reactor. Quando o ar contaminado passa através do meio os contaminantes e nutrientes são transferidos para a biomassa e degradados.

Os reactores de biofiltro são caracterizados pela falta de uma fase líquida e pela existência de um filtro com leito com uma altura de 1 m ou menos. O meio deve ser mantido arejado e húmedecido para a população de microrganismos se manter activa (Singh e Ward, 2004; Alexander, 1999; Lima e Mota, 2003).



Fig.38- Imagem e esquema de um biofiltro a descoberto em que o meio sólido é o solo (adaptado de www.odornet.pt).

Filtros biopercoladores

Nos biopercoladores é recirculada água sobre um suporte sólido, plástico ou cerâmico, para ajudar a transferência de massa e a manutenção das condições de crescimento microbiano. A população de microrganismos activa desenvolve-se sobre o suporte sólido. O sistema de recirculação de água permite ajustar o pH e fornecer nutrientes. A corrente de ar contaminado pode ser introduzida a favor ou contracorrente no líquido recirculante (Singh e Ward, 2004; Alexander, 1999; Lima e Mota, 2003).

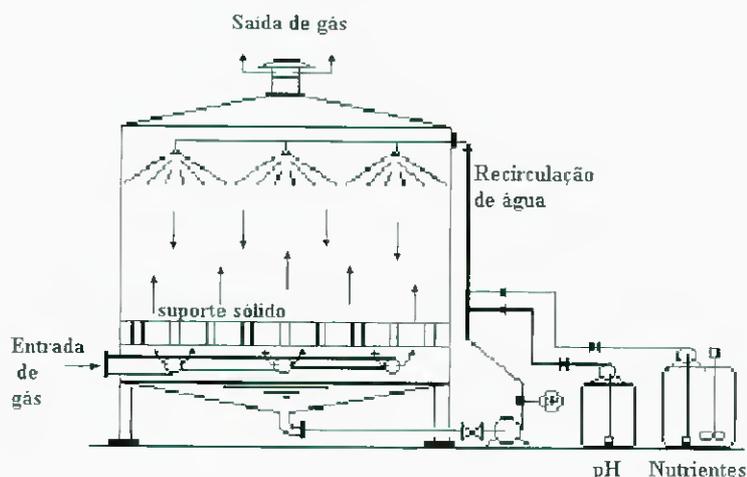


Fig.39-

Filtro biopercolador típico (adaptado de <http://www.hiberniaeth.com>).

Biossorvedores ou Bioscrubbers

Os biossorvedores são reactores em torre nos quais os contaminantes em fase de vapor são, numa primeira fase, dissolvidos no líquido recirculante. Este líquido pode então experimentar tratamento biológico subsequente na própria câmara ou num reactor separado. A população de microrganismos activos encontra-se em meio líquido, sem qualquer suporte sólido. Estes sistemas de tratamento são atractivos devido aos baixos gastos energéticos, o baixo custo, a simplicidade de operação e a capacidade de degradar compostos em baixas concentrações (Singh e Ward, 2004; Alexander, 1999; Lima e Mota, 2003).

CAPÍTULO VI: FACTORES CONTROLADORES DA APLICAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DA TECNOLOGIA

1. Factores científicos

As comunidades naturais de organismos têm uma versatilidade fisiológica extraordinária, no entanto, algumas condições têm de ser satisfeitas para que a biodegradação/biotransformação possa ocorrer:

- a. O organismo tem de estar presente no ambiente que contém o contaminante e fornecer as enzimas necessárias para provocar a biodegradação/biotransformação.
- b. Os contaminantes devem ter características para serem usados como fonte de energia (excepto no caso de serem cometabolizados). Os microrganismos aeróbios têm tendência para degradar primeiro os compostos orgânicos que têm um estado de oxidação mais baixo, uma vez que a sua oxidação potencia um rendimento energético mais elevado (Boopathy, 2000). Se no meio a tratar existirem substratos com estados de oxidação mais baixos do que o contaminante, esses substratos vão ser degradados primeiro, originando um período de aclimação longo do ponto de vista do, ou dos, compostos alvo.
- c. O contaminante deve estar acessível para o organismo que tem as enzimas requeridas. A biodisponibilidade de um contaminante é controlada por vários processos físico-

químicos tais como a sorção/desorção, a difusão e a dissolução (solubilidade) (Boopathy, 2000; Alexander, 1999; Singh e Ward, 2004). Os tratamentos que envolvem a mistura vigorosa e homogeneização das partículas do solo estimulam a biodegradação porque libertam os contaminantes adsorvidos e facilitam a transferência de massa entre o meio e os organismos degradadores. Os compostos hidrofóbicos têm uma taxa de transferência especialmente baixa devido à elevada tendência para adsorção às partículas do meio e pequena solubilidade em água. Neste caso, o uso de surfactantes, que reduzem a tensão superficial dos lípidos, pode resultar num aumento de biodisponibilidade dos compostos hidrofóbicos em meio aquoso.

- d. Se as enzimas que provocam a biodegradação inicial forem extracelulares, os centros activos destas enzimas têm de ser expostos para que a catálise funcione. Se as enzimas que provocam a biodegradação inicial forem intracelulares, a molécula deve penetrar a superfície da célula até ao local interno onde a enzima actua.
- e. As condições do ambiente devem permitir a proliferação e/ou o crescimento dos organismos remediadores potenciais activos. As populações iniciais de microrganismos, por exemplo, são geralmente muito pequenas.

Se não se reúnem todas as condições mencionadas, o contaminante terá uma vida longa e vai persistir no ambiente (Alexander, 1999; EPA seminars, 1996; Boopathy, 2000).

A bioactividade dos organismos é actualmente difícil de prever uma vez que o conhecimento dos padrões bioquímicos em ambientes complexos é ainda incipiente (Iwamoto e Nasu, 2001) Existem muitas dificuldades em cultivar espécies isoladas em laboratório e o seu controle e monitorização em campo são problemáticos. A estrutura das comunidades microbiológicas é, em grande parte, desconhecida e a fitorremediação está

ainda na infância.

O controle da bioactividade é especialmente difícil numa operação *in situ* devido às variações nos factores físico-químicos do meio (nomeadamente os factores climáticos), à existência de predadores e parasitas e à distribuição desigual das populações, devido à heterogeneidade natural do ambiente.

A degradação dos contaminantes pode ser avaliada através de cálculos de balanço de massa consumida/produzida, ou então, se as concentrações são muito pequenas, através das concentrações dos dadores ou receptores de electrões. No caso de alguns contaminantes não serem degradados é importante saber qual o seu destino ambiental e prevenir situações de risco (Boopathy, 2000; Sims *in* EPA Seminars, 1996).

2. Factores não científicos

Para além dos obstáculos técnicos, outros factores condicionam a aplicação directa da tecnologia, nomeadamente as disposições legais, a investigação, os recursos humanos e os custos envolvidos.

2.1. Factores de regulamentação

A regulamentação determina o mercado da biorremediação ditando *o que* pode ser limpo, *o quanto* limpo deve ficar e *quais* os métodos de limpeza que devem ser usados (Caplan, 1993 *in* Boopathy, 2000).

A regulamentação ambiental é estabelecida a vários níveis: a nível internacional pela *United Nations Environmental Programme* (UNEP) ou pela *Organization for*

Economic Cooperation and Development (OECD); a nível mais regional, pelos regulamentos da União Europeia e pela *Comprehensive Environmental Response Compensation and Liability* (CERCLA) nos Estados Unidos, ou a nível governamental por cada um dos países (Maker, 2003; Drobník, 1999) Tanto os Estados Unidos como os países europeus, especialmente a Alemanha, a Holanda e a Inglaterra, apresentam o mesmo desenvolvimento conceitual-legal nas políticas voltadas para o problema das áreas contaminadas. No entanto, só o Reino Unido, a França, os Países Baixos e os Estados Unidos, através da *Environmental Protection Agency* (EPA), têm estratégias políticas e programas específicos de reabilitação de áreas degradadas (Clarinet, 2001 *in* Maker, 2003).

O uso de microrganismos geneticamente modificados (OGMs) é mais um obstáculo de regulamentação. As actividades envolvendo a utilização confinada de microrganismos geneticamente modificados (MGM) e a libertação no ambiente de organismos geneticamente modificados (OGM) encontram-se amplamente regulamentadas, existindo legislação específica a nível comunitário, que foi transposta para o direito português.

Assim, temos a Directiva 98/81/CE, de 26 de Outubro, relativa à utilização confinada de MGM e a Directiva 2001/18/CE, de 17 de Abril, relativa à libertação deliberada no ambiente de OGM.

Ambas as Directivas foram transpostas para a legislação nacional, a primeira pelo Decreto-Lei nº2/2001, de 4 de Janeiro, que regula a utilização confinada de MGM, e a segunda pelo Decreto-Lei nº72/2003, de 10 de Abril, que regula a libertação deliberada no ambiente de OGM e a colocação no mercado de produtos que contenham ou sejam constituídos por OGM.

O Instituto do Ambiente é, de acordo com estes decretos-lei, a autoridade competente para autorizar a utilização confinada de MGM e a libertação deliberada no

ambiente de OGM.

2.2. Factores de investigação

Cada local poluído tem características únicas e requer atenção individual por parte de investigadores de diversas áreas científicas. Por outro lado, embora a maior parte dos contaminantes seja biodegradável, uma vasta gama de químicos industriais, como os PCBs, pesticidas, alcatrão, solventes clorados e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, não são facilmente biodegradados (Alexander, 1999; Singh e Ward, 2004; Boopathy, 2000). É necessário financiamento para programas que dinamizem a investigação na área do metabolismo dos compostos recalcitrantes.

2.3. Factores decorrentes dos recursos humanos

A biorremediação sendo uma tecnologia nova tem falta de recursos humanos. O sucesso de programas de biorremediação requer uma abordagem multidisciplinar, integrando áreas como a microbiologia, a biologia molecular, a hidrogeologia, a engenharia, a informática, a gestão de projectos, etc. As universidades não oferecem qualificações em engenharia de biorremediação e a combinação destas especialidades só pode ser conseguida por treino no campo.

2.4. Factores económicos

Ao contrário de outras indústrias, a biorremediação não resulta num produto de valor acrescentado. O investimento de capital tem sido lento e, como consequência, esta

actividade comercial tem sido muito atrasada relativamente a outros sectores. Por outro lado, a biorremediação é considerada uma tecnologia inovadora levando a que os agentes regulamentadores a examinem com mais cuidado do que as tecnologias convencionais. São frequentemente impostas às diversas tecnologias de biorremediação restrições e níveis de performance mais apertados do que a outras tecnologias, o que se traduz em custos acrescidos.

CAPÍTULO VII: METODOLOGIA SEGUIDA NA EXECUÇÃO DO TRABALHO

Tendo em conta os objectivos do trabalho considerou-se que o método descritivo seria o mais adequado para caracterizar o estado actual das tecnologias da biorremediação e os seus princípios básicos. Nesse sentido, foi efectuada uma extensa recolha documental para obtenção de dados que, depois de analisados e tratados, sustentaram o texto de apoio à ferramenta de divulgação pretendida. Atendendo ao carácter de divulgação da ferramenta procurou-se introduzir modelos animados, imagens e um glossário, por forma a clarificar os termos/conceitos associados e tornar a apresentação mais atractiva e dinâmica para o público alvo definido: os jovens do ensino secundário. Foram acrescentados alguns conceitos básicos, nomeadamente, sobre os tipos de contaminantes e as superfícies ambientais e sobre o metabolismo e a fisiologia dos organismos remediadores, por se entender que ajudariam o utilizador menos informado na compreensão da temática da biorremediação.

A ferramenta foi construída por forma a ser visualizada enquanto CD interactivo (anexo 1) ou então poder ser accedida através da Internet. Nesse sentido foi utilizado o software Macromedia Dreamweaver 8, que é um software de construção de páginas web, tendo as animações sido elaboradas com o software o Macromedia Flash 8, com o apoio de outros programas de tratamento de imagem, como o Macromedia Fireworks MX, o Microsoft Photo Editor, o Microsoft Paint, o Pinnacle Studio 8, entre outros.

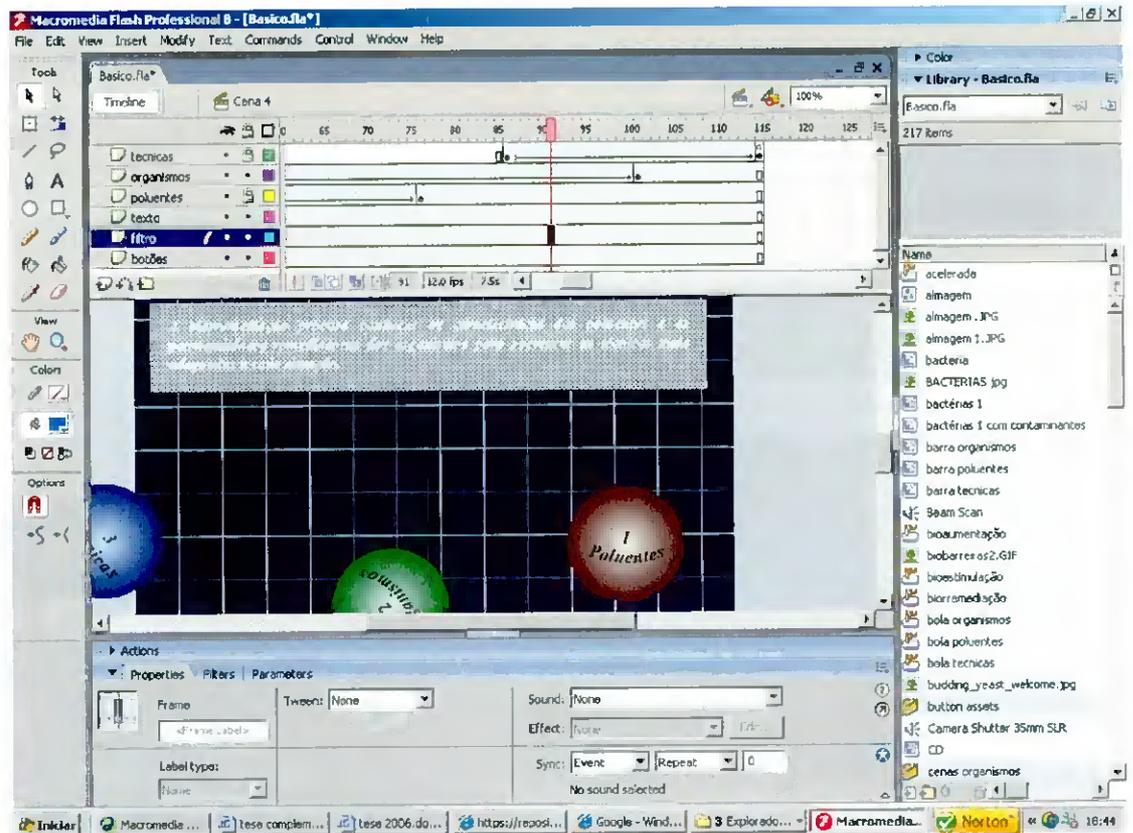


Fig.40- Ambiente de desenvolvimento do Macromedia Flash 8.

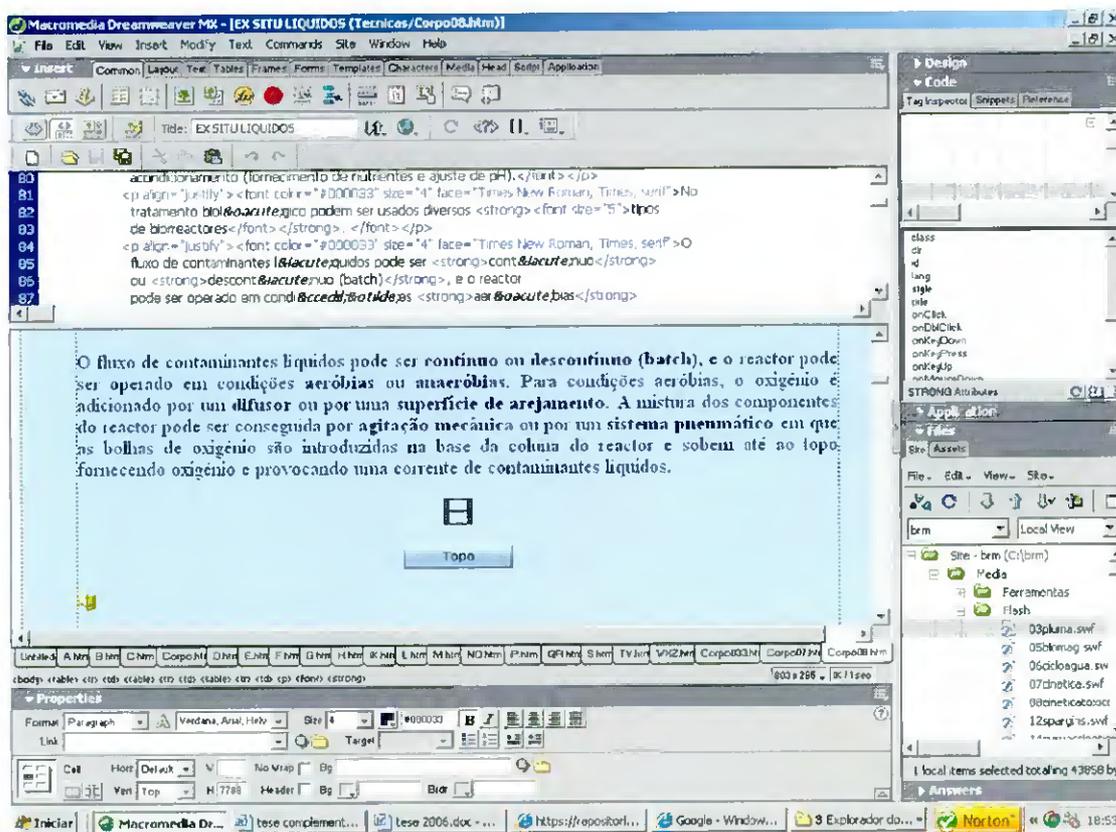


Fig.41- Ambiente de desenvolvimento do Macromedia Dreamweaver 8.

Por último, foram identificados os pontos fracos da ferramenta (quer ao nível do interesse e facilidade de navegação, quer ao nível técnico), através de um questionário a 50 indivíduos.

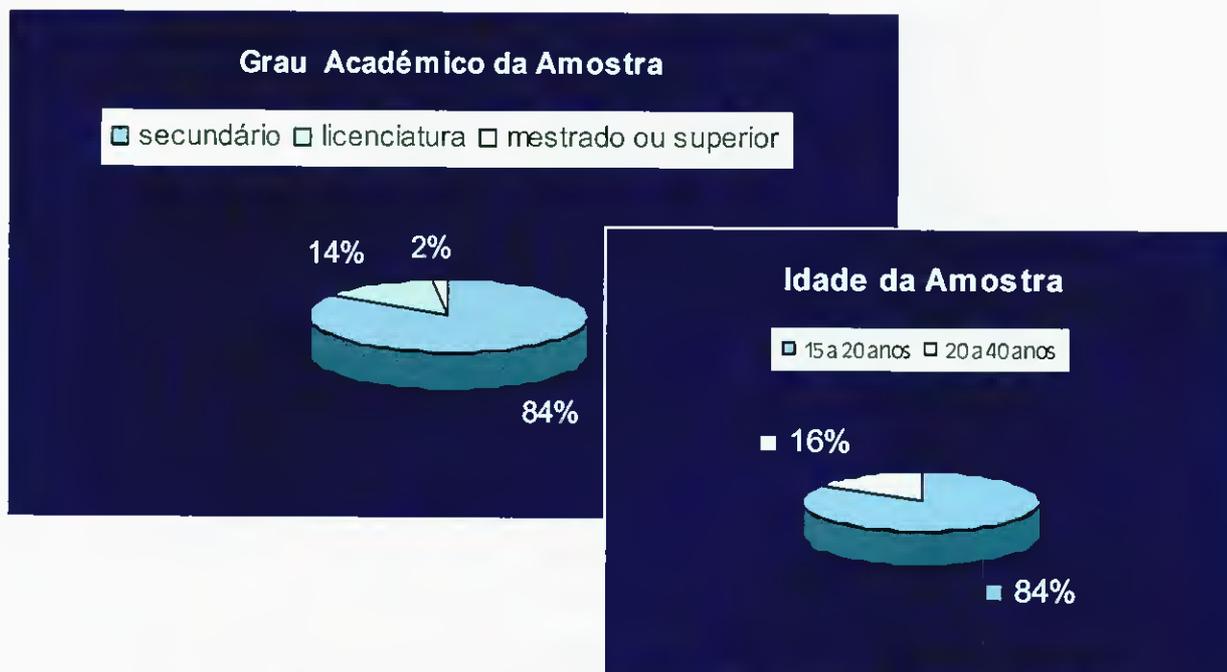


Fig.42- Gráfico das características da amostra de indivíduos que responderam ao questionário.

O CD-ROM foi otimizado com base no resultado dos inquéritos e nas sugestões/comentários dos inquiridos.



QUESTIONÁRIO

Este questionário destina-se a recolher a sua opinião sobre a apresentação interactiva "BIORREMEDIAÇÃO" desenvolvida no âmbito de um mestrado em Biotecnologia.
As respostas são confidenciais e visam o aperfeiçoamento da apresentação.

O seu perfil:

Idade: _____ Sexo: _____ Profissão: _____
Grau académico: _____

Responda colocando um X em cada conjunto de

1. Que conhecimentos anteriores tinha sobre biorremediação?

- Nunca tinha ouvido falar
- Conhecia o termo, mas não tinha uma ideia clara
- Tinha uma ideia razoável
- Conhecia perfeitamente

2. Indique quanto tempo despendeu a explorar o CD?

- Menos de 5 minutos
- Entre 5 min e 15 min
- Entre 15 min e meia hora
- Mais de meia hora

3. Qual a sua opinião sobre os seguintes aspectos:

Visual	Facilidade de navegação	Conteúdo	Interesse
Fraco 1 <input type="radio"/>			
2 <input type="radio"/>	2 <input type="radio"/>	2 <input type="radio"/>	2 <input type="radio"/>
3 <input type="radio"/>	3 <input type="radio"/>	3 <input type="radio"/>	3 <input type="radio"/>
4 <input type="radio"/>	4 <input type="radio"/>	4 <input type="radio"/>	4 <input type="radio"/>
Mº bom 5 <input type="radio"/>			

CAPÍTULO VIII: DISCUSSÃO DO TRABALHO E DA SUA RELEVÂNCIA

A concretização do CD interactivo implicou a ambientação a uma diversidade de softwares para o tratamento de imagem e para a construção das páginas web e das animações. Algumas condicionantes que se colocaram na configuração da ferramenta resultaram do tema ser muito abrangente. Apesar disso, o CD construído, na opinião dos 50 indivíduos inquiridos, tem características de interactividade, interesse e conteúdo que vão de encontro aos objectivos propostos (fig. 43, 44 e 45).

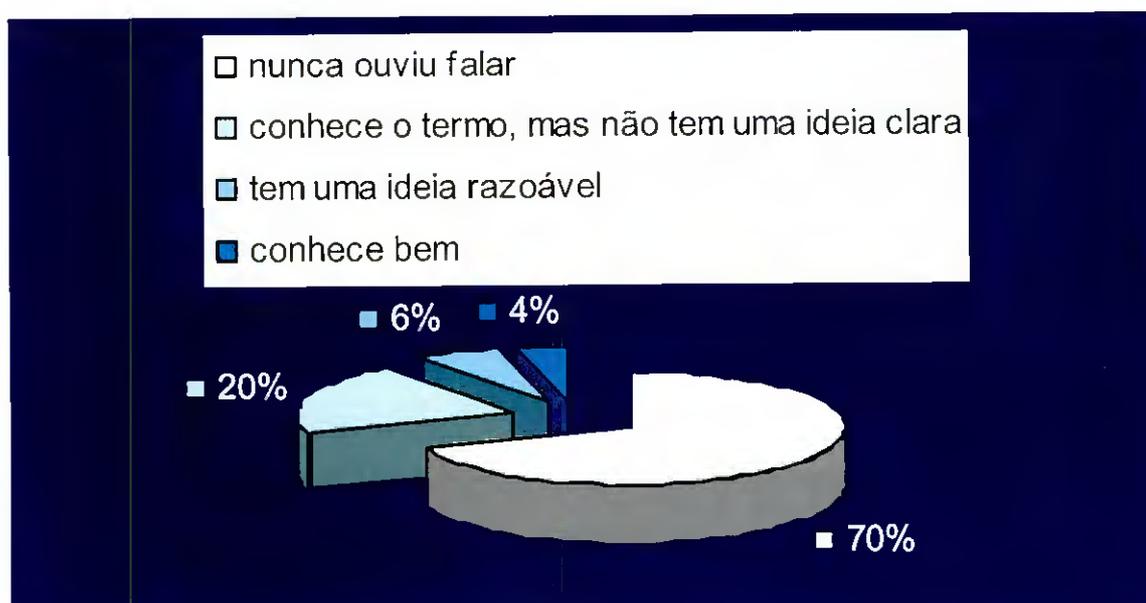


Fig.43- Gráfico do nível de informação sobre Biorremediação dos indivíduos inquiridos. Os resultados revelam que o tema é pouco conhecido.

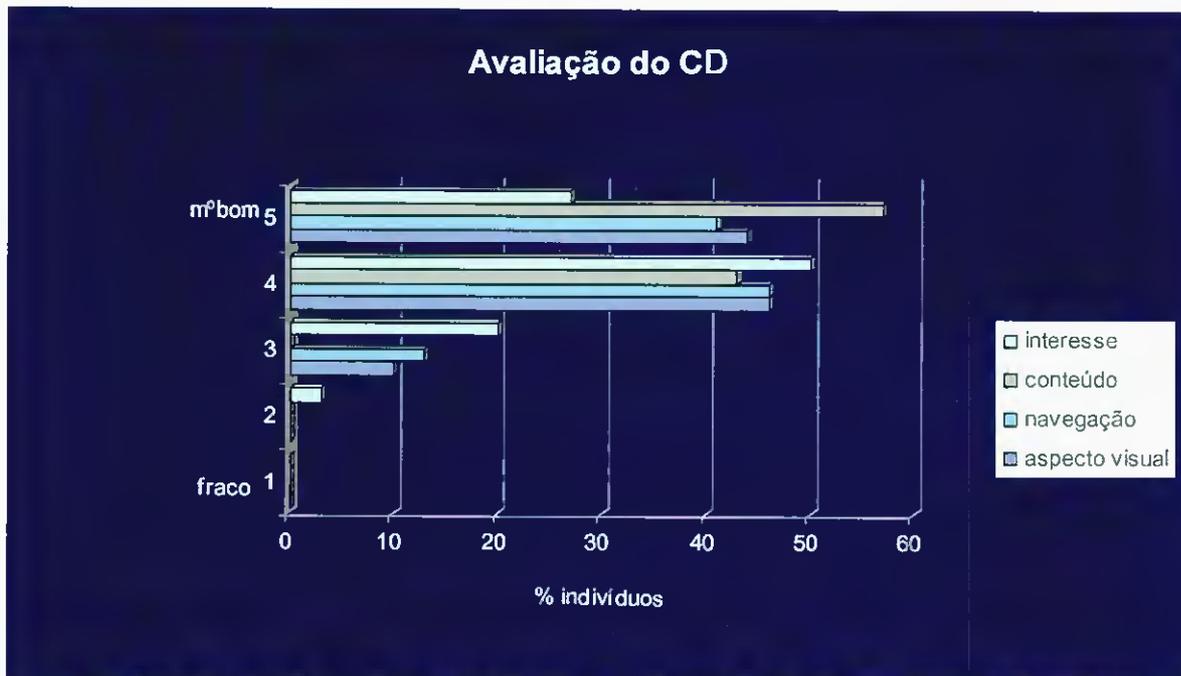


Fig.44- Gráfico dos resultados da avaliação geral do CD pelos indivíduos inquiridos. A avaliação situa-se no bom/muito bom relativamente a todos os itens considerados.

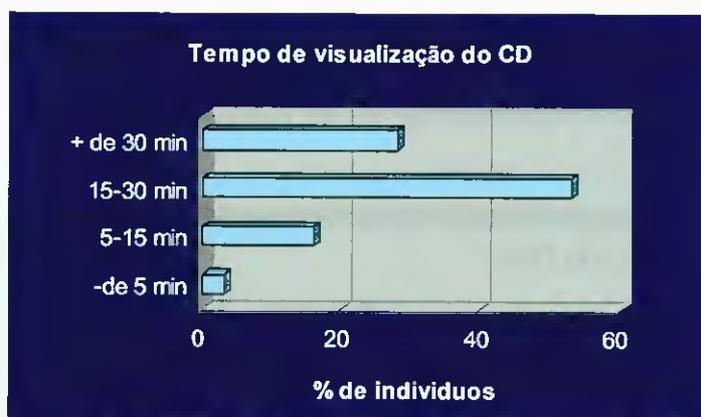


Fig.45- Gráfico do tempo que os indivíduos inquiridos despenderam a visualizar o CD. Situa-se na faixa dos 15 a 30 minutos ou mais de 30 minutos. Atendendo a que a concentração atinge o seu máximo em 10-15 minutos, estes resultados revelam interesse por parte dos inquiridos.

As dificuldades detectadas prendem-se com a inexistência da configuração mínima necessária para utilizar a ferramenta. A avaliação dos objectivos propostos pode ser feita, depois da publicação da ferramenta na Internet, colocando um pequeno inquérito a cada utilizador ao sair do *sítio*.

A Internet pode ser vista como a solução natural para a promoção e desenvolvimento da cultura científica dos cidadãos em apenas alguns dos países membros

da União Europeia (Áustria, Bélgica, Dinamarca, Finlândia, França, Portugal, Suécia e Reino Unido), uma vez que só nestes países os cidadãos usam correntemente a Internet como fonte de informação (Report from the Expert group Benchmarking the Promotion of RTD culture and Public Understanding of Science, 2002). Segundo Koolstra, se atendermos ao tempo que o publico despende com a televisão e com a Internet, à efectividade desses *media* e à confiança e segurança das suas fontes de informação, a velha televisão continua a ser reconhecida como a principal forma de comunicação científica, apesar das suas limitações. No entanto, há indicações que o uso da televisão é menos frequente entre os estudantes de liceu entre os 12 e os 18 anos. Aparentemente nesta idade a televisão perde concorrência com a utilização dos computadores (29,1% para 33,2%), mas em amostras de individuos mais idosos, a televisão é preferida devido à sua facilidade de utilização (Koolstra *at al.* , 2006; Report from the Expert group Benchmarking the Promotion of RTD culture and Public Understanding of Science, 2002). A questão que se coloca é se os jovens de hoje quando envelhecerem também passarão a preferir a televisão ou se pelo contrário, pelo hábito e facilidades que adquiriram continuarão a preferir a Internet.

Este veículo de informação tem muitas vantagens. A possibilidade de processar a informação ao ritmo pessoal é considerado um pré-requisito para uma aprendizagem eficiente, dando tempo para pensar sobre a informação processada. A televisão não dá essa possibilidade, sendo criticada pela sua velocidade estonteante que dificulta a assimilação da informação (Koolstra *at al.*, 2006). Estudos de comparação entre estes dois *media* sugerem que a desvantagem do ritmo é compensada pelas imagens em movimento que são mais facilmente lembradas pelo utilizador. Esta vantagem, no entanto, começa a perder sentido com a utilização na Internet de vídeos e imagens em movimento, com a vantagem da interactividade. Por outro lado, os conteúdos da Internet estão permanentemente

disponíveis ao contrário da programação da televisão que tem um horário próprio (Koolstra *et al.*, 2006).

A opinião veiculada pela União europeia, no seu relatório de 2002, é que a Internet constitui um salto qualitativo com respeito aos *media* audiovisuais fornecendo uma combinação de texto e material audiovisual, permitindo aos utilizadores o download da informação e o seu uso conveniente. Acrescenta ainda o facto da Internet representar a possibilidade de recapturar a população jovem que, de acordo com o eurobarómetro de 1992, perdeu o interesse pela popularização da ciência.

Um recente estudo sobre os *media*, os jornalistas e as novas tecnologias revelou que a Internet é actualmente a principal fonte de informação dos próprios jornalistas. Os assuntos científicos são escolhidos e abordados pelos *mass media* não porque sejam intrinsecamente mais relevantes em termos de avanço científico ou aplicação social, mas pelo seu interesse jornalístico. Por isso, na opinião de Castelfranchi, a transmissão da informação com propriedade deve ser feita pelos seus legítimos actores (cientistas, professores, *experts*) no sentido de colmatar as lacunas de conhecimento do público possibilitando, então, uma discussão pública proveitosa relativa ao desenvolvimento e aplicações sociais da ciência com benefício público.

De acordo com indicadores de ciência e engenharia de 2002 recolhidos pela fundação nacional da ciência nos USA (Report from the Expert group Benchmarking the Promotion of RTD culture and Public Understanding of Science, 2002), a Internet tornar-se-á no futura um veículo essencial para qualquer plano de aproximação da ciência à sociedade e ocupará um papel relevante nas nossas vidas como *ferramenta para obter informação e para aprender sobre ciência*.

CAPÍTULO IX: PERSPECTIVAS FUTURAS

A divulgação de temas científico-tecnológicos destinados ao público por via informática é, em Portugal, uma actividade pouco desenvolvida mas que, de acordo com opinião expressa no relatório europeu de Julho 2002 (Report from the Expert group Benchmarking the Promotion of RTD culture and Public Understanding of Science, 2002), no futuro tenderá a ter um papel relevante como ferramenta para obter informação e aprender sobre ciência. Nesse sentido a comunidade científica deveria promover a cultura da transparência e comunicação dos seus trabalhos ao público e os cientistas deveriam ser treinados nessa tarefa.

No que diz respeito à biorremediação, muito há a fazer, uma vez que a biorremediação é hoje uma ciência imatura. Os estudos biotecnológicos aplicados à limpeza do ambiente têm sido conduzidos em laboratório, sob condições controladas e durante pequenos períodos de tempo. O desenvolvimento da biorremediação como principal estratégia de remediação ambiental passa pela aposta na investigação em situação de campo onde as condicionantes são concretas e complexas, pelo desenvolvimento de métodos que potenciem a caracterização, a actividade e a monitorização dos organismos remediadores e pelo controle dos factores que governam a biodisponibilidade dos contaminantes.

CAPÍTULO X: GLOSSÁRIO

A

Abiótico	<i>Caracterizado pela ausência de vida</i>
Absorção	<i>Captação de matéria, ou energia, por um substrato ou por um organismo vivo.</i>
Aceitadores de electrões	<i>Moléculas que num processo respiratório, caracterizado pela existência de cadeias transportadoras de electrões, são o últimos aceitadores dos electrões.</i>
Aclimação	<i>Fase inicial sem crescimento que se verifica quando os microrganismos são transferidos do seu ambiente natural para um ambiente novo e diferente.</i>
Activação	<i>Situação em que um tipo de reacção origina produtos mais tóxicos do que os substratos originais.</i>
Açude artificial	<i>Ecosistemas formados por microrganismos, algas e plantas aquáticas que funcionam conjuntamente no tratamento de efluentes contaminados.</i>
Adsorção	<i>Retenção de substâncias numa superfície orgânica ou inorgânica por processos químicos ou físicos.</i>
Advecção	<i>Processo pelo qual um soluto é transportado através de um meio poroso por movimento de massa (fluxo).</i>
Aeróbio	<i>Presença de oxigénio molecular no ambiente. Crescimento, ou ocorrência, na presença de oxigénio molecular.</i>
Aerossóis	<i>Partículas sólidas ou líquidas de pequenas dimensões presentes na atmosfera.</i>
Anaeróbio	<i>Ausência de oxigénio molecular. Crescimento ou ocorrência na ausência de oxigénio molecular.</i>
Anammox	<i>Processo pelo qual a amónia é inicialmente oxidada a hidroxilamina e, posteriormente, convertida em azoto molecular num processo anaeróbio.</i>
Anóxico	<i>Ambiente em que o oxigénio está presente em concentrações muito baixas e, portanto, o metabolismo aeróbio está limitado.</i>
Amplificação	<i>Processo que permite obter muitas cópias a partir de um determinado fragmento de DNA.</i>
Antropogénico	<i>Impactos no meio ambiente gerados por acções do homem.</i>
Aquífero	<i>Formação subterrânea composta por água contida em estratos permeáveis de rocha, areia e</i>

	<i>cascalho.</i>
Atenuação natural	<i>Processo biorremediativo através de processos naturais sem intervenção humana.</i>
Autotrófismo	<i>Processo metabólico em que a fonte de carbono é inorgânica, ex: CO₂ ou CO.</i>
Auxotrófica	<i>Bactéria que para crescer necessita de factores de crescimento específicos, geralmente produzidos por outras bactérias.</i>
B	
Barreira vegetal	<i>Barreiras biológicas, constituídas por plantas e seus microrganismos associados, que previnem a percolação de contaminantes e contaminação de águas subterrâneas.</i>
Benzeno	<i>Hidrocarboneto tóxico e carcinogéneo, conhecido como causador de leucemia. Está presente na gasolina. Símbolo químico: C₆H₆.</i>
Bioacumulação	<i>Absorção e concentração de elementos químicos tóxicos nos organismos vivos. A bioacumulação pode causar toxicidade ao organismo que o captou ou a um predador/consumidor que ingere o organismo afectado.</i>
Bioaugmentação	<i>Introdução no ambiente de microrganismos que metabolizam e crescem em compostos orgânicos específicos.</i>
Bioampliação	<i>Aumento da concentração de uma substância química ao longo da cadeia alimentar devido ao consumo e acumulação consecutivos do contaminante.</i>
Biobarreira	<i>Zona biológica activa que é colocada perpendicularmente à superfície do fluxo normal da pluma de contaminantes com o objectivo de conter, degradar e adsorver os contaminantes.</i>
Biodegradação	<i>Decomposição por processos biológicos</i>
Bioestimulação	<i>Estimulação do crescimento de microrganismos pela introdução de oxigénio e/ou nutrientes.</i>
Biofilme	<i>Modelo de crescimento bacteriano em que se forma uma fina camada de células activas que cobrem as partículas sólidas.</i>
Biofiltro	<i>Filtro constituído por uma matriz sólida onde crescem os microrganismos e através da qual passa uma corrente de ar contaminado.</i>
Biopilha	<i>Pilha de solo contaminado com altura de vários metros e sistema de distribuição de ar</i>
Biopolímero	<i>Molécula de grandes dimensões, produzida pelos organismos vivos, que pode formar matrizes sólidas. Os biopolímeros são biodegradáveis e podem substituir os plásticos ou borrachas tradicionais.</i>
Biorreactor	<i>Tanque controlado usado para crescer microrganismos. O mesmo que reactor biológico.</i>
Biorremediação	<i>Uso de agentes biológicos (geralmente refere-se a microrganismos) para recuperar ambientes contaminados por substâncias perigosas.</i>
Biorremediação acelerada/aumentada	<i>Biorremediação potenciada por arejamento, nutrientes ou por inoculação de microrganismos.</i>
Biorremediação natural/passiva/intrínseca	<i>(ver atenuação natural).</i>

Biota	<i>Seres vivos de uma dada região</i>
Biótico	<i>Relativo a vida</i>
Biotransformação	<i>Modificação de uma molécula por um organismo vivo</i>
Bioventilação	<i>Bombagem de ar para o solo, abaixo do lençol de água, fornecendo oxigénio às bactérias aeróbias.</i>
Biosorção	<i>Captação passiva de moléculas pela superfície de células, vivas ou mortas, ou por biopolímeros.</i>
Biosparging	<i>Sistema de tratamento de aquíferos em que é injectado ar na zona saturada do solo.</i>
Biossorvedor	<i>Reactor em torre em que os contaminantes, em fase gasosa, são dissolvidos no líquido recirculante e posteriormente tratados no próprio reactor ou num reactor separado.</i>
Bloom	<i>Desenvolvimento anormal das algas como resultado do excesso de nutrientes.</i>

C

Camada confinante	<i>Formação geológica caracterizada por uma baixa permeabilidade que impede o fluxo de água.</i>
Capacidade de troca catiónica	<i>Quantidade de catiões reversivelmente adsorvidos por unidade de massa de peso seco. Expressa a capacidade de um solo trocar catiões.</i>
Capacidade de sorção	<i>Ver K_a</i>
Catabolismo	<i>Quebra de compostos orgânicos complexos por organismos vivos</i>
CBO	<i>Parâmetro analítico de qualidade das águas que mede a quantidade de matéria biodegradável através da quantidade de oxigénio consumida numa amostra pela acção de microorganismos.</i>
CQO	<i>Parâmetro analítico de qualidade das águas que mede a quantidade de carga química através da quantidade de oxigénio (ou oxidante) consumida pela acção de substâncias redutoras de origem química.</i>
Cinética	<i>Ramo da ciência que estuda as velocidades de alterações físicas, químicas ou biológicas.</i>
CFC	<i>Clorofluorcarbono. contaminante perigoso, com cloro e flúor, que ataca a camada de ozono.</i>
Cloreto de vinil	<i>Poluente halogenado perigoso usado na produção de plásticos.</i>
Clorofórmio	<i>Poluente halogenado perigoso usado na cloração das águas e esgotos.</i>
Condutividade hidráulica	<i>Ver K</i>
Coefficiente K_a	<i>Ver K_a</i>
Coefficiente octanol-água	<i>Ver K_{ow}</i>
Colóide	<i>Qualquer gás, sólido ou líquido com partículas tão pequenas que não são visíveis ao microscópio óptico ordinário e que se dispersam num meio sólido, líquido ou gasoso contínuo não sedimentando facilmente.</i>

Cometabolismo	<i>Biotransformação de um composto por microrganismos que são incapazes de o usar como fonte de energia ou crescimento.</i>
Complexação	<i>Ligação de ligandos dissolvidos numa solução aquosa, com carga simples ou sem carga, originando espécies químicas complexas.</i>
Compostagem	<i>Processo biológico controlado durante o qual os constituintes orgânicos (geralmente lixos residuais) são convertidos em material semelhante a húmus, adequado para uso como fertilizante o solo.</i>
Composto orgânico	<i>Composto produzido por seres vivos constituído, geralmente, por carbono, hidrogénio e oxigénio.</i>
Composto orgânico aromático	<i>Compostos que incluem estruturas em anel, como o benzeno, o tolueno e o fenol.</i>
Composto orgânico halogenado	<i>Composto orgânico que contém moléculas de cloro, flúor, bromo ou iodo.</i>
Composto inorgânico	<i>Composto produzido por processos não biológicos, que geralmente não contém carbono (à excepção dos carbonatos e bicarbonatos).</i>
Consortio	<i>Grupo interactivo de diferentes micróbios que geralmente resulta em actividades metabólicas combinadas e nos quais cada membro beneficia da interacção.</i>
Contaminante	<i>Qualquer substância física, química, biológica, ou energia presente num meio em concentrações que têm efeitos adversos no ar, água ou solo.</i>
Cultivo de terra	<i>Ver landfarming.</i>

D

Degradação	<i>Decomposição de um composto em compostos mais simples</i>
Desalogenação	<i>Remoção de átomos de halogénio (Cl, F, Br) de uma molécula.</i>
Desnitrificação	<i>Redução do nitrato a azoto molecular por acção de bactérias desnitrificantes.</i>
Detoxicação	<i>Transformações de contaminantes em substâncias inócuas ou menos tóxicas.</i>
Diauxia	<i>Curva com duas fase de crescimento resultante de um microrganismo usar em primeiro lugar um composto mais fácil de degradar (ou que fornece mais energia) e só depois os compostos menos degradáveis.</i>
Difusão	<i>Tendência de um contaminantes de se mover das zonas de maior concentração para as zonas de menor concentração.</i>
Dispersão	<i>Processo pelo qual a pluma de soluto se expande como resultado do encontro com as partículas sólidas do meio, alterando a sua direcção e velocidade.</i>
DNAPL	<i>(ver NAPL)</i>

E

Efeito hidrofóbico	<i>Resulta da baixa polaridade das moléculas hidrofóbicas que têm tendência a ligar-se a outras moléculas de igual polaridade.</i>
--------------------	--

Endógeno	<i>Que tem uma origem interna ao próprio.</i>
Enzima	<i>Proteína de um organismos vivo, ou derivada dele, que funciona como catalisador promovendo reacções específicas ou um grupo de reacções.</i>
Equação de Langmuir	<i>Equação que permite modelar a adsorção num determinado meio.</i>
Eutrofização	<i>Processo de enriquecimento das águas por nutrientes que altera o equilíbrio do ecossistema.</i>
Evapotranspiração	<i>Perda de água, numa dada área e durante um tempo específico, resultante da evaporação da superfície do solo e da transpiração das plantas.</i>
Ex situ	<i>Estratégia de remediação que envolve a escavação do solo ou a extração de água contaminada. Pode verificar-se o transporte do material contaminado para fora do local de contaminação, mas não necessariamente.</i>
Exsudato radicular	<i>Metabolitos de baixo peso molecular, que são libertados no solo pelas raízes das plantas.</i>

F

Factor de bioconcentração (BCF)	<i>Razão entre a concentração de equilíbrio de uma substância no organismo e a sua concentração na água.</i>
Fase líquida não aquosa	<i>Ver NAPL</i>
Fermentação	<i>Processo metabólico em que se verifica formação de energia (ATP) ao nível do substrato.</i>
Filtro gotejante (trickling)	<i>Tipo de reactor em que a biomassa cresce num filtro e a solução contaminada é admitida por gotas sobre a fase sólida.</i>
Filtro biopercolador	<i>Tipo de reactor constituído por um filtro onde crescem os micorganismos. Os contaminantes em fase gasosa atravessam um filtro e sobre este é aspersada água que percola no filtro. A água é recirculada para nova aspersão.</i>
Fitodegradação	<i>Degradação de contaminantes no interior da planta ou externamente através das enzimas produzidas pela planta e libertadas no solo (também conhecida como fitotransformação).</i>
Fitoestabilização	<i>Uso das plantas para reter e imobilizar os contaminantes no solo e água.</i>
Fitovolatilização	<i>Volatilização de contaminantes através das plantas.</i>
Fitorremediação	<i>Remediação ambiental realizada por plantas.</i>
Fototrofismo	<i>Processo metabólico que usa a luz como fonte de energia.</i>
Franja capilar	<i>Porção saturada do solo devido a ascensão capilar. Situa-se entre a zona saturada do solo e a zona não saturada.</i>

G

Gene	<i>Secção de DNA que codifica para uma cadeia polipeptídica simples, uma espécie particular de RNA de transferência ou ribossomal, ou uma sequência que é reconhecida e interage com proteínas reguladoras.</i>
------	---

Genoma	<i>Conjunto de todos os genes cromossómicos numa célula haplóide, ou conjunto haplóide de cromossomas numa célula eucariótica.</i>
Genótipo	<i>Tipo específico de um gene. Constituição genética de um indivíduo ou de um grupo.</i>
Gradiente iónico	<i>Gradiente de electrões numa membrana que permite a formação de energia sob a forma de ATP durante a respiração.</i>
Gradiente hidráulico (i)	<i>Diferença de força hidráulica resultante da perda de energia do fluxo de água ao atravessar um meio poroso.</i>

H

Heterogéneo	<i>Que varia no espaço e no tempo.</i>
Heterotrofismo	<i>Processo metabólico em que a fonte de carbono é orgânica.</i>
Hidrocarboneto	<i>Classe de compostos orgânicos constituídos por carbono e hidrogénio. Por vezes apresentam ligações substituídas formando álcoois, ácidos, compostos clorados, etc.</i>
Hidrocarboneto alifático	<i>Hidrocarboneto de cadeia linear.</i>
Hidrocarboneto aromático	<i>(ver composto aromático)</i>
Hidrofilico	<i>Molécula ou superfície que tem uma forte afinidade com as moléculas da água. Estas moléculas tendem a ter estrutura química polar.</i>
Hidrofóbico	<i>Molécula ou superfície que tem pequena ou nenhuma afinidade com as moléculas da água e tem mais afinidade com outras substâncias hidrofóbicas. Estas moléculas tendem a ser bipolares ou apolares, tal como os lípidos.</i>
Hidrogeológico	<i>Que envolve a geologia e a hidrologia (isto é, o estudo do movimento da água)</i>
Hidrologia	<i>Ciência que estuda as propriedades, distribuição e circulação da água.</i>
Hidrólise	<i>Reacção química de um composto com a água, geralmente resultando num ou mais compostos novos. A hidrólise é uma importante reacção nas plantas e animais.</i>
Homogéneo	<i>Que não varia no espaço e no tempo.</i>
Húmus	<i>Composto orgânico do solo resultante da decomposição dos tecidos das plantas e animais, da sua decomposição parcial e da biomassa do solo.</i>

I

<i>In situ</i>	<i>Estratégia de remediação que envolve o tratamento de contaminantes locais sem escavação nem transporte.</i>
Inoculação	<i>Introdução de microrganismos.</i>
Interface	<i>Relativo ou situado no limite entre duas superfícies ou fases: líquido-líquido; líquido-sólido; etc.</i>

K

K	<i>Condutividade hidráulica. Mede a capacidade de um material de transmitir água.</i>
K_a	<i>Coefficiente ou capacidade de sorção. Mede a capacidade de um material para adsorver e/ou absorver uma dada substância.</i>
K_{ow}	<i>Coefficiente de partição octanol-água. Mede a afinidade química para a água versus lípidos. Elevados valores de K_{ow} indicam grande afinidade para os lípidos.</i>

L

Lagoa de macrófitas	<i>Lagoa de plantas aquáticas e algas macrófitas usadas na limpeza de águas contaminadas.</i>
Lagoa de fase Slurry	<i>Lagoa de armazenamento de lamas que são transformadas em biorreatores aeróbios in situ pela adição de sistemas de arejamento.</i>
Landfarming	<i>Processo de biorremediação no qual os resíduos são incorporados no solo e cultivados permitindo a sua decomposição por acção dos microrganismos do solo.</i>
Lei de Darcy	<i>A taxa de fluxo num meio poroso é proporcional à variação da força hidráulica e à área da secção transversal do fluxo.</i>
Lei de Fick	<i>Mede a quantidade de contaminante que passa através da unidade de área por unidade de tempo devido a fenómenos de difusão.</i>
Lei de Henry	<i>A pressão parcial de um gás sobre um líquido é proporcional à sua concentração no líquido.</i>
Lençol freático ou de água	<i>Superfície limite entre a zona saturada e a zona insaturada do solo num aquífero.</i>
Lexiviado	<i>Líquido que se move através dos solos por percolação e que contém substâncias dissolvidas ou em suspensão.</i>
Limiar	<i>Limite máximo de concentração de um contaminante a partir do qual o contaminante se torna tóxico para o indivíduo.</i>
Lipofílico	<i>Molécula que é preferencialmente solúvel nos lípidos e outros solventes apolares (hidrofóbicos).</i>
Litotrofismo	<i>Processo metabólico em que a fonte de electrões é inorgânica.</i>
LNAPL	<i>(ver NAPL)</i>

M

Mesofílico	<i>Microrganismo cuja temperatura óptima de crescimento se situa entre 25 a 40°C.</i>
Metabolismo	<i>Conjunto de reacções químicas pelas quais é produzida energia aos processos vitais e novas substâncias celulares são assimiladas.</i>
Metabolismo secundário	<i>Processo metabólico que não resulta em crescimento.</i>
Metais pesados	<i>Elementos metálicos com elevado peso molecular, geralmente tóxicos em concentrações baixas e bioacumuláveis.</i>
Metanogénicas	<i>Bactérias produtoras de metano.</i>

Micélio	<i>Rede de filamentos ramificados (hifas) que constituem a estrutura dos fungos multicelulares.</i>
Mineralização	<i>Degradação total e reciclagem de uma molécula orgânica, resultando, geralmente, dióxido de carbono e água.</i>
Modelação	<i>Formulações numéricas complexas, resolúveis através da informática, para simular o destino ambiental dos poluentes.</i>
Monitorização	<i>Processo de recolha de informação regular sobre os parâmetros físicos e químicos de uma pluma de contaminação e os seus efeitos sobre os alvos.</i>
N	
NAPL	<i>Substância orgânica relativamente insolúvel em água. Pode ser mais densas do que a água (DNAPL) ou menos densas do que a água (LNAPL)</i>
Nitrificação	<i>Processo de oxidação do nitrito e amónia a nitrato realizado por bactérias nitrificantes.</i>
O	
Oligotrófico	<i>Ambiente deficientes em nutrientes.</i>
Organotrofismo	<i>Processo metabólico em que a fonte de electrões é orgânica.</i>
Óxidos de azoto	<i>Grupo de poluentes gasosos de azoto que incluem o monóxido de azoto e o dióxido de azoto.</i>
Óxidos de enxofre	<i>Poluentes gasosos de enxofre, como o dióxido de enxofre, que em água originam ácido sulfúrico.</i>
Oxirredução	<i>Reacção que envolve a transferência de electrões de uma espécie para outra. Pode ou não envolver átomos de oxigénio.</i>
P	
PAH	<i>Hidrocarboneto aromático policíclico, contaminante perigoso com vários anéis aromáticos.</i>
PAN	<i>Peroxiacetilnitrato, contaminante atmosférico constituinte do smog.</i>
PCP/PCB	<i>Pentaclorofenol/Biclorofenol, contaminantes perigosos com cloro.</i>
PCR	<i>Reacção de polimerização em cadeia de moléculas de DNA. Permite amplificar determinadas zonas do DNA contidas entre os primers (segmentos curtos de DNA conhecidos) introduzidos na reacção.</i>
Percolação	<i>Fluxo de água subterrânea, devido à força da gravidade, através dos poros do solo ou rochas.</i>
Pesticida	<i>Substância usada para combater organismos indesejados, como insectos (insecticidas), fungos (fungicidas) ou plantas (herbicidas).</i>
pH	<i>Relativo à concentração de iões de hidrogénio na água (potencial hidrogeniónico). Traduz a acidez ou basicidade de uma solução e compreende valores entre 0 e 14. Um pH igual a 7,0 indica uma solução neutra, menor do que 7,0 indica uma solução ácida e maior do que 7,0 corresponde a uma solução alcalina ou básica.</i>
Plasmídeo	<i>Molécula de DNA pequena e circular que contem uma quantidade limitada de informação específica em bactérias. Esta informação complementa a informação genética essencial contida</i>

	<i>no cromossoma bacteriano principal.</i>
Pluma	<i>Emissão ou descarga visível e mensurável de contaminantes num dado ponto de origem. Toma uma forma variável, alongada e móvel.</i>
Poço de monitorização	<i>Poços, localizados num local contaminado específico, no qual a água subterrânea pode ser amostrada a diferentes profundidades para determinar a direcção do fluxo e o tipo e quantidade de contaminantes presentes na água.</i>
Poluente	<i>Ver contaminante.</i>
Precipitação	<i>Reacção heterogénea que leva à remoção de iões da solução para uma fase sólida. O inverso é a dissolução.</i>
Procariótico	<i>Organismo (bactéria) cujas células não apresentam invólucro nuclear. O genoma está contido no citoplasma da célula.</i>
Psicofílico	<i>Microrganismo que cresce melhor em temperaturas entre 12 e 18 °C.</i>
Q	
Quelato	<i>Geralmente ácidos orgânicos fracos, que se ionizam ligeiramente em água, e que dão origem a espécies neutras quando complexam iões metálicos de cargas opostas. O mesmo que agente quelante.</i>
Quimiotrofismo	<i>Processo metabólico em que a fonte de energia são as ligações químicas.</i>
R	
Radionuclídeo	<i>Nuclídes que imite radiações (alfa, beta e gama).</i>
Reacção redox	<i>Ver oxirredução.</i>
Reactor airlift	<i>Reactor no qual a agitação e arejamento é conseguido por um sistema pneumático. Bolhas de oxigénio são introduzidas na base da coluna do reactor e sobem até ao topo provocando uma corrente de líquidos.</i>
Reactor batch	<i>Reactor de fluxo descontínuo no qual os contaminantes líquidos são inseridos no início do tratamento e retirados no final do tratamento..</i>
Reactor batch sequenciado SBR	<i>Tipo de reactor batch que permite a reciclagem da biomassa no final do processo.</i>
Reactor de fluxo contínuo	<i>Reactor em que o fluxo de entrada e saída de contaminantes é contínuo.</i>
Reactor PACT	<i>Reactor em que é introduzido carbono activado para adsorver os compostos não metabolizados durante o tratamento.</i>
Reactor de membrana	<i>Reactor constituídos por membranas de clarificação que permitem a recuperação da biomassa no final do tratamento.</i>
Reactores de leito fluidizado	<i>Reator em que o leito fluidizado é obtido pelo crescimento de um biofilme em partículas de areia ou carbono activado mantidas em suspensão.</i>
Reactor de disco rotativo	<i>Reactor constituído por discos ligados a uma coluna horizontal que gira os discos sobre a solução contaminada.</i>

Reactor UASB	<i>Reactor anaeróbio que funciona com biomassa granulada em que cada granulo é um ecossistema compacto com diversas espécies de microrganismos anaeróbios.</i>
Reactor slurry	<i>Reactor de fase heterogénea. Obtem-se pela mistura de solo ou lamas contaminados com água.</i>
Repressão catabólica	<i>Situação em que a presença de um substrato actua inactivando a síntese de enzimas degradadoras de outro substrato.</i>
Rizodegradação	<i>Degradação de contaminantes do solo como resultado da actividade microbiana aumentada pela presença da rizosfera.</i>
Rizosfera	<i>Zona do solo imediatamente adjacente às raízes das plantas na qual a actividade dos microrganismos está muito aumentada.</i>

S

Sinergismo	<i>Quando a interacção de dois fenómenos provoca um efeito maior do que a soma do efeito dos dois separadamente.</i>
Sintrofia	<i>Quando o que uma espécie excreta e fornece está associado com as necessidades de factores de crescimento de outra espécie.</i>
Smog	<i>Mistura de fumo e névoa que geralmente contem enxofre formando ácidos.</i>
Sonda oligonucleotídica	<i>Pequeno fragmento de DNA ou RNA usado para encontrar por complementariedade genes de interesse num genoma desconhecido.</i>
Smuts	<i>Partículas pequenas, existentes na atmosfera, que podem conter ácido sulfúrico e que resultam dos combustíveis pesados.</i>
Solução	<i>Constituída pelo solvente (geralmente liquido) e pelos solutos (substâncias dissolvidas)</i>
Solução aquosa	<i>Solução em que o solvente é a água.</i>
Substrato	<i>A fonte de carbono é considerada o substrato por ser o factor nutritivo mais importante.</i>
Surfactante	<i>Substância que promove a solubilização e emulsificação de vários tipos de compostos orgânicos.</i>

T

Taxa específica de crescimento, μ	<i>Velocidade à qual as células bacterianas se dividem</i>
TCE	<i>Tricloroetano, contaminante clorado perigoso usado como solvente (volátil)</i>
Termo filico	<i>Microrganismo que cresce melhor em temperaturas entre 55 e 65 °C ou superiores.</i>
Tetracloro de carbono	<i>Poluente halogenado usado como solvente industrial</i>
Tolueno	<i>Poluente do grupo dos solventes, usado nos laboratórios.</i>
Torre biológica	<i>Tipo de filtro gotejante constituído por pequenos módulos sintéticos empilhados, formando uma torre.</i>

Tricloroetano TCE	<i>Poluente volátil do grupo dos solventes, usado na indústria.</i>
Translocação	<i>Movimento de material em solução no interior de um organismo.</i>
Troca iónica	<i>Tipo de reacção química heterogénea que envolve a troca de um ião específico presente na superfície da fase sólida por outro tipo de ião que se encontra na solução.</i>
V	
VOC	<i>Contaminante orgânico volátil.</i>
Volatilização	<i>Transferência de uma substância para a atmosfera como gás ou vapor.</i>
W	
<i>Windrows</i>	<i>Pilha de compostagem revirada periodicamente.</i>
X	
Xenobiótico	<i>Composto orgânico não produzido por biossíntese, não é natural.</i>
Z	
Zona freática	<i>O mesmo que zona saturada de um solo. Localizada abaixo do lençol freático onde a pressão do fluido é positiva.</i>
Zona vadosa	<i>Localizada acima do lençol freático de um solo onde a pressão do fluido é negativa.</i>

CAPÍTULO XI: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adriano, D.C.; Wenzel, W.W.; Vangronsveld, J.; Bolan, N.S.; (2004); **Role of Assisted Natural Remediation in Environmental Cleanup**. *Geoderma* 122, 121-142.
- Alexander, Martin; (1999); **Biodegradation and Bioremediation**. Academic Press, second Edition
- Alloway, B.J.; Ayres, D.C.; (1993), **Chemical Principles of Environmental Pollution**. First edition, Blackie Academic & Professional.
- Andrea, L. Declich, A. (2005); **The Sociological Nature of Science Communication**. *Journal of Science Communication*, September 2005; <http://jcom.sissa.it/> (accedido em 01/10/2006)
- Ansari, T.M.; (2004); **Heavy Metals in Marine Pollution Perspective- A Mini Review**. *Journal of Applied Sciences*, 4- 1-20.
- Araújo, Wilson S.; (2000); **Influência das propriedades físicas e químicas de solos intemperizados na adsorção de chumbo, cobre e zinco**. *Floresta e Ambiente* 7, 167 -180.
- Bending, Gary; Friloux, Maxime; Walker, Allan; (2002); **Degradation of Contrasting pesticides by White Rot Fungi and its Relationship With Ligninolytic Potential**. *FEMS Microbiology Letters* 212, 59-63.
- Boopathy, R (2000); **Factors limiting bioremediation technologies**. *Bioresource Technology* 74, 63-67.
- Boswell, Graeme P.; Jacobs, Helen; Davidson, Fordyce; Gadd, Geoffrey; Ritz, Karl; (2002); **Functional Consequences of Nutrient Translocation in Mycelial Fungi**. *J.theor.Biol.* 217, 459-477.
- Brito, Núbia N.; Zamora, Patrício P.; Neto, Abílio; Battisti, Achille; Paterniani, José; Pelegrini, Ronaldo; (2003) **Utilização de Fungos na Remediação de Efluentes Industriais**. Centro Superior de Educação Tecnológica (CESET). III Fórum de Estudos Contábeis.
- Castanho, Andréa Dardes de A; (1999); **A Determinação Quantitativa de Fontes de Material**

- Particulado na Atmosfera da Cidade de São Paulo.** Dissertação de Mestrado em Ciências. Universidade de São Paulo, Instituto de Física.
- Castelfranchi, Y.; (2004); **Cultural differences accompany the growth of science communication.** Journal of Science Communication, September 2004; <http://jcom.sissa.it/> (acedido em 01/10/2006)
- Cervantes, C.; Garcia, J.; Devars, S.; Corona, F.; Tavera, H; Guzman, J.; Sanchez, R.; (2001); **Interactions of Chromium With Microorganisms and Plants.** FEMS Microbiology Reviews 25, 335-347.
- Chapelle, F.H.; (1993), **Ground-water Microbiology and Geochemistry.** John Wiley & Sons, inc.
- Chávez, M.C. Gonzáles; González, R. Carrillo; Wright, S.F., Nichols, K.A.; (2004); **The Role of Globulin, a Protein Produced by Arbuscular Mycorrhizal Fungi, in Sequestering Potentially Toxic Elements.** Environmental Pollution 130, 317-323.
- Cordazzo, Jonas; (2000); **Modelagem e simulação numérica do Derramamento de Gasolina Acrescida de Álcool em Águas Subterrâneas.** Dissertação de Mestrado em Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Santa Catarina.
- Danielsson, Anja, (2000). **Rate-limiting factors during bioremediation of soils containing HOCs, a literature study.** Lund Institute of Technology
- Dietz, Annette C.; Schnoor, Jerald L.; (2001); **Advances in Phytoremediation.** Department of Civil and Environmental Engineering, University of Iowa, Iowa City, Iowa, US. Environ Health Perspect 109, 163-168
- Dinardi, Ana L.; Formagi, Vanessa M.; Coneglian, Cassiana M.R.; Brito, Núbia N; Sobrinho, Geraldo D.; Tonso, Sandro; Pelegrini, Ronaldo; (2003) **Fitorremediação.** Centro Superior de Educação Tecnológica (CESET). III Fórum de Estudos Contábeis.
- Divine, Craig; (2001); **New Hope for NAPLs: A Review of Promising Characterization and Remediation Techniques.** Soil Sediment&Water, December 2001.
- Drobník, Jaroslav; (1999); **Genetically modified organisms (GMO) in bioremediation and legislation.** International Biodeterioration & Biodegradation 44, 3-6.
- Duggan, Jodie; (2005); **The potential for landfill leachate treatment using willows in the UK-A critical review.** Resources Conservation and Recycling 45, 97-113.
- EPA seminars, (1996); **Bioremediation of Hazardous Waste Site: Practical Approaches to**

- Implementation.** www.epa.gov/ord/nrmrl/pubs/bioremed/pdf/biohaz1 e
www.epa.gov/ord/nrmrl/pubs/bioremed/pdf/biohaz12 (accedido em 27/10/2005)
- EPA, U.S. Environment Protection Agency; (2003); Reconocimiento y Manejo de los Envenenamientos por Pesticidas, 5th Edición, handbook. www.epa.gov (accedido em 21/04/2003)
- EPA, U.S. Environmental Protection Agency (2004a); **Remediation/Cleanup Technologies.** <http://www.epa.gov/swerust1/cat/remedial.htm> (accedido em 01/09/2005)
- EPA, U.S. Environment Protection Agency; (2004b) **Sequencing Batch Reactor Systems. Onsite Wastewater Treatment Systems Technology Fact Sheet 3;** <http://www.epa.gov/ORD/NRMRL/pubs/625r00008/tfs3.pdf> (accedido em 01/09/2005)
- Fetter, C.W.; (1999), **Contaminant Hydrology.** Second edition, Prentice-Hall.
- Franco, Ana C. N.; Soares, M^a Magali S. R.; Melo, Itamar S.; (2002); **Seleção de Linhagens Envolvidas na Biodegradação de Pesticidas.** *Ciência e Biotecnologia*, 29, 124-127
- Frick, C.M.; Farrel, R.E.; Germida, J.J.; (1999). **Assessment of Phytoremediation as an In-Situ Technique for Cleaning Oil-Contaminated Sites,** Department of Soil Science University of Saskatchewan, SK Canada
- Furtado, M.; (2005); **Remediação de solos.** *Química e derivados*, Maio 2005, 27-43.
- Garbisu, Carlos; Alkorta, Itziar; (1999); **Review: Utilization of genetically engineered microorganisms (GEMs) for bioremediation.** *Journal of chemical technology and biotechnology*, 74, 599-606.
- Garon, D; Sage, L.; Wouessidjewe, D.; Seigle-Murandi, F.; (2004); **Enhanced Degradation of Fluorene in Soil Slurry by *Absidia cylindrospora* and Maltosyl-cyclodextrin.** *Chemosphere* 56, 159-166.
- Ginn, T.; Wood, B.; Nelson, K.; Scheibe, T; Murphy, E.; Clement, T.; (2002); **Processes in Microbial Transport in the Natural Surface.** *Advances in Water Resources* 25, 1017-1042.
- Gifford, S.; Dunstan, R.H.; O'Connor, W.; Roberts, T.; Toia, R (2003); **Pearl aquaculture-profitable environmental remediation?.** *Science of the Total Environment* 319, 27-37
- Gouthier, D.; (2005); **Understanding Science Publics.** *Journal of Science Communication*, March 2005; <http://jcom.sissa.it/> (accedido em 01/10/2006)
- Greg, Davis; (2001); **Remediation Research "Down Under": A summary of Technologies.** *Soil Sediment&Water*, July, 2001.

- Grindstaff, Megan (1998) **Bioremediation of contaminated groundwater**, prepared for U.S. EPA Technology Innovation Office, <http://www.clu-in.org/download/remed/meganfin.pdf> (acedido em 06/05/2004)
- Grommen, R.; Verstraete, W.; (2002); **Environmental biotechnology: the ongoing quest**. Journal of Biotechnology 98, 113-123.
- Haimi, J.; (2000); **Decomposer animals and bioremediation of soils**. Environmental pollution 107, 233-238.
- Hammer, Mark J.; Hammer, Mark J. Jr; (2001), **Water and Wastewater Technology**. Fourth Edition. Prentice Hall.
- Hees, Patrick; Jones, David; Jentschke, Georg; Godbold, Douglas; (2005); **Organic Acid Concentrations in Soil Solution: Effects of Young Coniferous Trees and Ectomycorrhizal Fungi**. Soil Biology e Biochemistry 37, 771-776.
- Heiss, G.; Knackmuss, H.; (2002); **Bioelimination of Trinitroaromatic Compounds: Immobilization Versus Mineralization**. Current Opinion in Microbiology 5, 282-287.
- Hopkins, William G.; Huner, Norman P.A.; (2004), **Introduction to Plant Physiology**. Third Edition. John Wiley & Sons, Inc.
- Huesemann, Michael H.; (2002); **The inherent biases in environmental research and their effects on public policy**. Futures 34, 621-633.
- Humar, M.; Bokan, M; Amartey, S.A.; Sentjurs, M.; Kalan, P.; Pohleven, F.; (2004); **Fungal Bioremediation of Copper, Chromium and Boron Treated Wood as Studied by Electron Paramagnetic Resonance**. International Biodeterioration e Biodegradation 53, 25-32.
- Iwamoto, Tomotada; Nasu, Masao; (2001); **Current Bioremediation Practice and Perspective**. Journal of Bioscience and Bioengineering 92, 1-8.
- Johnson, D.B.; Hallberg, K.B.; (2005); **Acid Mine Drainage Remediation Options: a Review**. Science of the Total Environment 338, 3-14.
- Juhasz, A.L.; Naidu, R.; (2000); **Bioremediation of High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: a Review of Microbial Degradation of benzo-[a]-pireno**. International Biodeterioration e Biodegradation 45, 57-88.

- Kalin, Margarete ; Wheeler, W.N. ; Meinrath, G. ; (2005) ; **The Removal of Uranium from Mining Waste Water Using Algal/Microbial Biomasse**. Journal of Environmental Radioactivity 78, 151-177.
- Khan, Frisal; Husain Tahir; Hejazi, Ramzi; (2004); **An Overview and Analysis of Site Remediation Technology**. Journal of Environmental Management 71, 95-122.
- King, R. Barry; Long, Gilbert M.; Sheldon John K.; (1992); **Practical Environment Bioremediation**. Lewis Publishers.
- Koolstra, C.; Bos, M.; Vermeulen, I; (2006); **through which medium should science information professionals communicate with the public: television or the internet?**, Journal of Science Communication, September 2006; <http://jcom.sissa.it/> (acedido em 01/10/2006)
- Kramer, Kees J.M.; (1994); **Biomonitoring of Coastal Waters and Estuaries**. CRC Press, Inc.
- LaGrega, M., P. Buckingham, J. Evans; (2001); **Hazardous Waste Management**. McGraw Hill. New York.
- Leitão, Teresa; Ferreira, P. Lobo; Oliveira, Manuel M.; Moinante, Maria João; (2003); **Poluição de águas Subterrâneas: principais problemas, processos de prevenção e de reabilitação**. 6º SILUSBA - 6º Simpósio de Hidráulica e Recursos Hídricos dos Países de Língua Oficial Portuguesa, <http://www.dha.lnec.pt/nas> (acedido em 01/09/2005)
- Leonowicz, Andrzej; Matuszewska, Anna; Luterek, Jolanta; Ziegenhagen, Dirk; Wasilewska, M.W.; Cho, N.; Hofrichter, M. ; (1999); **Biodegradation of Lignin by White Rot Fungi**. Fungal Genetics and Biology 27, 175-185.
- Lewis, Thomas; Newcombe, David; Crawford, Ronald; (2004); **Bioremediation of soils contaminated with explosive**. Journal of Environment Management, 70, 291-307.
- Lima, Nelson; Mota, Manuel; (2003). **Biotecnologia, Fundamentos e aplicações**. Lidel-Edições Técnicas Lda.
- Malik, Anushree; (2004); **Metal Bioremediation through Growing Cells**. Environment International 30, 261-278.
- Marker, Andreas; (2003); **A reabilitação de áreas urbanas degradadas. Políticas, instrumentos e incentivos no cenário internacional**. Prefeitura Municipal de Dão Paulo, Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente.

www.prefeitura.sp.gov.br/arquivos/secretarias/meio_ambiente/projetos_acoes/0001/rel_marker_01_08_2003.doc (acedido em 06/01/06)

- Mason, C.F.; (1996), **Biology of freshwater pollution**. Third Edition, Longman
- Matsunaga, Tadashi; Takeyama, Haruko; Nakao, Takashi; Yamazawa, Akira; (1999), **Screening of marine microalgae for bioremediation of cadmium-polluted seawater** Journal of Biotechnology 70, 33-38
- Mejáre, M.; Bulow, L.; (2001); **Metal-binding Proteins and Peptides in Bioremediation and Phytoremediation of Heavy Metals**. Trends in Biotechnology Vol.19. nº2, 67-73.
- Meysami, P.; Baheri, H.; (2003); **Pre-screening of Fungi and Bulking Agents for Contaminated Soil Bioremediation**. Advances in Environmental Reserch 7, 881-887.
- Moreira, César Augusto Pereira; (2004) **Implicações para o processo Ensino/Aprendizagem decorrentes da planificação**. Dissertação de mestrado em educação (Especialização em Supervisão Pedagógico Ensino das Ciências da Natureza); Instituto da Educação e Psicologia, Universidade do Minho. Office of Biological and Environmental, Research of the U.S. Department of Energy's Office of Science. NABIR. <http://www.lbl.gov/NABIR/generalinfo/primersguides.html> (acedido em 01/09/2005)
- McEldowney, S; Hardman, D,J;Waite, S; (1993), **Pollution: Ecology & Biotreatment**. Longman Scientific & Technical.
- Moat, Albert G., Jophn W. Foster; (1995); **Microbial Physiology**. A John Wiley e sons, inc., publication, 3rd ed.
- Nobre, Manoel; Nobre, Rosana; (2003); **Remediação de solos**. Química e derivados, 417.
- Norris, Robert; Hinchee; Brown;Mccarty; Semprini; Wilson; Kampbell; Reinhard; Bower; Borden; Thomas, Vogel; Ward;(1993); **Handbook of Bioremediation**. Lewis Publishers.
- Novotny, Cenek; Svobodova, Katerina; Erbanova, Pavla; Cajthaml, Tomás; Kasinath, Aparna; Lang, Elke; Sase, Václav; (2004); **Ligninolytic Fungi in Bioremediation: Extracelular Enzyme Production and Degradation Rate**. Soil Biology e Biochemistry 36, 1545-1551.
- Peña-Castro, J. M.; Martínez, Jerónimo F. ; Esparza, García F. ; Cañizares, Villanueva R. O.; (2004) **Heavy metals removal by the microalga *Scenedesmus incrassatulus* in continuous cultures** . Bioresource Technology 94, 219-222

- Phillips, D.J.H.; Rainbow, P.S.; (1994), **Biomonitoring of Trace Aquatic Contaminants**. Chapman & Hall.
- Pieper, Dietmar; Reineke, Walter; (2000); **Engineering bacteria for Bioremediation**. Current Opinion in Biotechnology 11, 262-270.
- Pletsch, M.; (1999); **Fitorremediação de águas e solos poluídos**. Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento. Nº11, 26-29.
- POCTI (2000-2006); **Programa Operacional Ciência, Tecnologia, Inovação**. Ministério da Ciência e da Tecnologia.
- Potin, Olivier; Rafin, Catherine; Veignie, Etienne; (2004); **Bioremediation of an Aged Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)- Contaminated Soils by Filamentous Fungi Isolated from the Soil**. International Biodeterioration e Biodegradation 54, 45-52.
- Qadir, M.; Oster, J.D.; (2004); **Crop and irrigation management strategies for saline-sodic soils and waters aimed at environmentally sustainable agriculture**. Science of Total Environment 323, 1-19.
- Quercus; (2006); **Resíduos à deriva**. Quercus Ambiente, 17-11-2006. www.quercusambiente.org (acedido em 17-11-2006).
- Report from the Expert group Benchmarking the Promotion of RTD culture and Public Understanding of Science, July 2002;
- Rick, Ye; Stuart, M Thomas; (2001); **Microbial nitrogen cycles: physiology, genomics and applications**. Microbiology 4, 307-312.
- Rocha, Julio C.; Rosa, André H.; Cardoso, Arnaldo A.; (2004); **Introdução à Química Ambiental**. Bookmam Companhia Editora.
- Rockhold, M.; Yarwood, R.; Niemet, M.; Bottomley, P.; Selker, J.; (2002); **Considerations for modelling bacterial-induced changes in hydraulic properties of variably saturated porous media**. Advances in Water Resources 25, 477-495.
- Russo, Mário Augusto; (2003); **Tratamento de Resíduos Sólidos**. Capítulo 4. Universidade de Coimbra, Departamento de Engenharia Civil, http://www.uc.pt/mhidro/Tratamentos_Residuos_Solidos.pdf (acedido em 1/09/2005)

- Salema, Roberto; (1999); **Organismos Geneticamente Manipulados na Indústria Agro-Alimentar**. Boletim de Biotecnologia 64, 30-39.
- Saraiva, H.; (2005); “**Ministério da Ciência herda bases do plano nacional da inovação**” Diário económico de 31 de Maio de 2005.
- Sayler, Gary; Ripp, Steven; (2000); **Field applications of genetically engineered microorganisms for bioremediation processes**. Current Opinion in Biotechnology 11, 286-289.
- Scanu, M.; (2006); The role of institutional science communication. Journal of Science Communication, September 2006; <http://jcom.sissa.it/> (acedido em 01/10/2006)
- Semple, K.T.; Reid, T.R.; Fermor, T.R.; (2001); **Impact of composting on treatment of soils contaminated with organic pollutants**. Environmental Pollution 112, 269-283.
- Serafim, A.; Gussakov, K.; Silva, F.; Coneglian, C.; Brito, N.; Sobrinho, G.; Tnso, S.; Pelegrini, R.; (2003); **Churume, Impactos Ambientais e Possibilidades de Tratamentos**. Centro Superior de Educação Tecnológica (CESET). III Fórum de Estudos Contábeis.
- Shiomi, Naofumi; Yasuda, Takako; Inoue, Yoco; Kusomoto, Noriko; Iwasaki, Saori; Katsuda, Tomohisa; Katoh, Shigeo; (2004); **Characteristics of Neutralization of Acids by Newly Isolated Fungal Cells**. Journal of Bioscience and Bioengineering, 1 97, 54-58.
- Singh, Ajay; Ward, P. Owen; (2004), **Applied Bioremediation and Phytoremediation**. Springer.
- Special Eurobarometer 224 (2005) “**Europeans, Science & Technology**”. http://ec.europa.eu/public_opinion/archives/ebs/ebs_224_report_en.pdf (acedido em 10/11/2006).
- Stapleton, R.; Ripp, S.; Jimenez, L.; Cheol-Koh, S.; Fleming, J.; Gregory, I.; Sayler, G.; (1998); **Nucleic acid analytical approaches in bioremediation: site assessment and characterization**. Journal of microbiological methods 32, 165-178.
- Sternberg, Steven P.K.; Dorn, Ryan, W.; (2002); **Cadmium Removal Using *Cladophora* in Batch, Semi-Batch and Flow Reactors**. Bioresource Technology 81, 249-255. ver
- Susarla, Sridhar; Medina, Victor; McCutcheon, Steven; (2002); **Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination**. Ecological Engineering 18, 647-658.
- Terry, Patricia; Stone, Wendy; (2002); **Biosorption of Cádmiun and Copper Contamineted Water by *Scenesdesmus abundans***. Chemosphere 47, 249-255.

ANEXO 1: CD INTERACTIVO

- Thassitou, P.K.; Arvanitoyannis, I.S.; (2001); **Bioremediation: a novel approach to food waste management**. Trends in Food Science & Technology 12, 185-196.
- The online anammox resource (2006). <http://www.anammox.com/> (acedido em 29/08/2006)
- Thibodeaux, Louis J.; (1996) "**Environmental Chemodynamics, movement of Chemicals in air, water, and soil**", second edition, John Wiley & sons.INC.
- Ueta, Julieta; Lindolfo, Newton; Shuhama, P. Ilda Kazumi; Cerdeira, A. Luiz; (1999); **Biodegradação de Herbicidas e Biorremediação**. Ciência e Biotecnologia, 10, 10-13
- Valls, Marc; Lorenzo, Vitor; (2002); **Exploiting the Genetic and Biochemical Capacities of Bacteria for the Remediation of Heavy Metal Pollution**. FEMS Microbiology Reviews 26, 327-338.
- Walsh, Jami B.; (1999); **A Feasibility Study of Bioremediation in Highly Organic Soil**. Thesis. Degree of Master of Science in Environmental Engineering. Worcester Polytechnic institute.
- Wesenberg, Dirk; Kyriakides, Irene; Agathos, Spiros N.; (2003); **White-rot Fungi and their Enzymes for the Treatment of Industrial Dye Effluents**. Biotechnology Advances 22, 161-187.
- WoldResources 2000-2001 (2001): **Sources, chapter 2**, WoldResource Institute, <http://www.wri.org/> (acedido em 04/05/2004)
- Yoshihara, Ken-Ichi; Nagase, Hiroyasu; Eguchi, Kaoru; Hirata, Kazumasa; Miyamoto, Kazuhisa; (1996) **Biological elimination of nitric oxide and carbon dioxide from flue gas by marine microalga NOA-113 cultivated in a long tubular photobioreactor**. Journal of Fermentation and Bioengineering 82, Issue 4, 351-354
- Zehnder, A.J.B.; (1994), **Soil and Groundwater Pollution**, fundamentals, risk assessment and legislation. Kluwer Academic Publishers.
- Zheng, C.; Bennett, G.D.; (1995), **Applied Contaminant Transport Modelling**, Theory and Practice. Van Nostrand Reinhol.
- Zoratto, A.C.; Gatti, C. F.; Lopes, T. A.; Barros; R.M.; Brito, N.N.; Coneglian, C. M.; Tnso, S.; Sobrinho, .; Pelegrini, R.; (2003); **Lagoas Facultativas**. Centro Superior de Educação Tecnológica (CESET). III Fórum de Estudos Contábeis.