

VI-292 - ANÁLISE QUANTITATIVA DA BIODEGRADAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLIAROMÁTICOS (HPAS) EM SOLOS COM DERRAMAMENTO SIMULADO DE ÓLEO DIESEL

Irajá do Nascimento Filho⁽¹⁾

Professor adjunto do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade de Caxias do Sul. Pesquisador do Instituto de Saneamento Ambiental da Universidade de Caxias do Sul. Doutor em Química Analítica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Bolsista de produtividade científica do Conselho nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Atuação principal em áreas envolvendo Química Analítica Ambiental, Cromatografia a Gás e Espectrometria de Massas.

Eduardo Ribeiro Lovatel

Acadêmico do curso de Engenharia Ambiental – Universidade de Caxias do Sul

Nathalia Cristine Vieceli

Acadêmica do curso de Engenharia Ambiental – Universidade de Caxias do Sul

Alexandra Rodrigues Finotti

Doutora em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Professora adjunta da Universidade Federal de Santa Catarina.

Eduardo Müller Cardoso

Acadêmico do curso de Engenharia Ambiental – Universidade de Caxias do Sul

Endereço⁽¹⁾: Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130 – Petrópolis - Caxias do Sul – Rio grande do Sul - Brasil - CEP: 95070-560 Telefone: (+5554) 3218-2100 - e-mail: inascimf@ucs.br

RESUMO

O principal objetivo deste trabalho foi o estudo quantitativo da degradação de dezesseis hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs) no solo, em uma situação simulada de derramamento de óleo diesel, através da biota nativa e por incorporação do fungo *Pleurotus sajor-caju*, linhagem PS-2001. Os HPAs testados foram: naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, antraceno, fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(a)pireno, benzo(k)fluoranteno, benzo(g,h,i)perileno, indeno(1,2,3-c,d)pireno e dibenzo(a,h)antraceno. As degradações dos HPAs foram monitoradas por Cromatografia a Gás com detecção por Ionização de Chama (GC/FID), durante 56 dias. Os resultados apontaram para a degradação preferencial de HPAs que apresentam um anel de cinco membros (sub-grupo A5) em sua estrutura, sendo que dois destes compostos (fluoranteno e fluoreno) foram totalmente degradados. Não foi observada sinergia entre o fungo e a biota nativa na degradação dos compostos do sub-grupo A5. Por outro lado, foi observada sinergia entre o fungo e a biota nativa na degradação dos compostos que não apresentam anel de 5 membros (NA5), pois apenas um destes compostos (pireno) não sofreu degradação.

PALAVRAS-CHAVE: HPAs, fungo, solo, cromatografia, degradação.

INTRODUÇÃO

Hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs) são compostos químicos constituídos unicamente de átomos de carbono e hidrogênio, arranjados na forma de dois ou mais anéis aromáticos (JACQUES *et al.*, 2007).

Tais compostos são classificados como poluentes importantes de recursos hídricos, solo e ar. HPAs aportam no meio aquático em consequência de derramamentos de navios-tanque, refinarias, queima de combustíveis fósseis e locais de perfuração de poços de petróleo (BAIRD, 2002).

Nas últimas décadas, as águas subterrâneas passaram a exercer um importante papel como fonte de abastecimento para consumo tanto de populações rurais como urbanas. Contudo, tais águas também vêm perdendo a qualidade devido à contaminação por vazamentos em tanques subterrâneos de armazenamento de combustíveis (KAIPPER & CORSEUIL, 2001).

De um modo geral, tanto os HPAs quanto seus derivados estão associados ao aumento da incidência de diversos tipos de câncer no homem, já que vários componentes deste grupo são capazes de reagir com o DNA, tornando-se carcinógenos potenciais e eficientes mutágenos. A exposição humana aos HPAs se dá principalmente através da contaminação ambiental. (NETTO, 2000).

As moléculas de HPAs são hidrofóbicas e, por isso, permanecem fortemente ligadas às partículas de solo, dificultando o bioacesso, principalmente para os compostos de maior peso molecular (GONG et al, 2007). Entretanto, a biorremediação de solos contaminados utilizando fungos filamentosos tem apresentado respaldo na literatura, uma vez que é reconhecido que fungos são degradadores em potencial e apresentam boa resposta a condições de estresse ambiental, podendo utilizar até mesmo compostos recalcitrantes existentes no petróleo como fonte de energia (OLIVEIRA et al., 2008).

A lignina contém uma variedade de estruturas aromáticas, e os fungos lignolíticos oxidam este polímero extracelularmente pela ação de lignina peroxidases, peroxidases dependentes de manganês e lacases. Estas enzimas não são específicas e oxidam uma ampla variedade de compostos orgânicos (JOHNSON et al., 2004).

Rodríguez e colaboradores (2004) observaram a capacidade de espécies *Pleurotus* em degradar 2,4-diclorofenol e benzo(a)pireno em culturas líquidas e em estado semi-sólido, com participação de enzimas lignolíticas secretadas por estes fungos no processo de degradação dos compostos.

O tratamento biológico de solos contaminados por HPAs é frequentemente limitado pela baixa biodisponibilidade destes compostos (PIZZUL et al., 2007). Embora a mineralização fúngica de HPAs represente um processo limitado, com poucos relatos na literatura, fungos podem produzir, a partir de HPAs, intermediários que poderão ser utilizados como fonte de carbono e energia pelos demais microorganismos heterotróficos que não possuem capacidade de reconhecer e clivar os HPAs (JACQUES et al., 2007).

Desta forma, este estudo teve como objetivos quantificar a remoção de 16 HPAs em um solo com derramamento simulado de óleo diesel, avaliar de modo comparativo a eficiência da microbiota nativa do solo e do fungo lignolítico *Pleurotus sajor-caju*, linhagem PS-2001, na capacidade de degradação destes compostos e avaliar a influência de ligações sigma na estrutura do HPA, em relação ao seu grau de degradação.

MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 FASE I: DEGRADAÇÃO DOS DEZESSEIS HPAS

2.1.1 LINHAGEM

Para o desenvolvimento deste trabalho, foi utilizada a linhagem PS-2001 de *Pleurotus sajor-caju*, doada pela empresa BRASMICEL – Biotecnologia em Fungicultura, localizada em Poá/SP. Atualmente, estas linhagens pertencem à coleção de microrganismos do Laboratório de Enzimas e Biomassa do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul (IB- UCS).

2.1.2 MEIO DE MANUTENÇÃO DA LINHAGEM

O meio de manutenção da linhagem foi composto por: serragem de *Pinus* spp., 2%; farelo de trigo, 2%; CaCO₃, 0,2%; agar-agar, 2% e H₂O destilada 100 mL. O meio foi autoclavado a 121 °C por 15 minutos. As placas com a linhagem foram mantidas em estufa a 28 °C até completo crescimento micelial e armazenadas a 4 °C.

2.1.3 MEIO DE SERRAGEM DE PINUS SP. (INÓCULO)

A constituição do meio utilizado como inóculo foi a seguinte: serragem de *Pinus* sp., 94%; farelo de trigo, 5%; CaCO₃, 1%; H₂O destilada, 66% e sais[(NH₄)₂SO₄, MnSO₄ e CuSO₄]. O meio foi autoclavado a 121 °C por 2 horas em sacos de polipropileno. Os fermentadores (sacos contendo 100 g de meio úmido) foram inoculados com discos das placas das diferentes linhagens e mantidos a 28 °C para o crescimento micelial.

2.1.4 REAGENTES QUÍMICOS

A amostra de óleo diesel foi gentilmente cedida pela Refinaria Alberto Pasqualini (REFAP – PETROBRAS), o solvente orgânico (*n*-hexano grau p.a.) foi adquirido da Merck Co. e bidestilado em aparato de vidro.

2.1.5 COLETA DO SOLO

O solo foi coletado a cerca de 10 cm de profundidade, em uma área pertencente à Universidade de Caxias do Sul. O solo foi seco ao ar e peneirado (peneira Petrodidática P.D. ind. e com. LTDA, abertura 2,00 mm).

2.1.6 CARACTERIZAÇÃO DO SOLO E CORREÇÃO DE NUTRIENTES

O teor de umidade do solo foi determinado pelo método gravimétrico. Uma amostra de solo foi contaminada com 20% de óleo diesel em relação à base seca (p/p), utilizando-se esta para determinação dos seguintes parâmetros: Carbono Orgânico Total (COT) através do método Walkley Black (com calor externo), descrito por ALLISON (1965), Nitrogênio Total (NTK), através do método Kjeldahl, Fósforo Total (PT), pelo método do extrator duplo ácido (Mehlich-1) e sólidos voláteis totais (SVT) através do método gravimétrico e pH.

Realizou-se a correção de nutrientes do solo que foi utilizado no ensaio de degradação de HPAs de modo a atingir-se a relação C:N:P de 100:10:1, utilizando-se NH_4NO_3 e KH_2PO_4 como fontes de nutrientes.

2.1.7 TESTE DE DEGRADAÇÃO DE HPAS

O teste de degradação de HPAs foi desenvolvido em microcosmos de vidro e conduzido em três séries: *In natura*, *Pleurotus* e Controle. Solo contendo a microbiota autóctone foi utilizado na série *In natura*, solo estéril contendo um inóculo de 5% (p/p – sobre a base seca de solo) do fungo *Pleurotus sajor-caju* linhagem PS-2001 foi utilizado na série *Pleurotus* e apenas solo estéril foi utilizado na série Controle.

Todas as amostras foram contaminadas com 20% de óleo diesel em relação à base de solo seco e mantidas a temperatura de 25 °C. Os 16 HPAs testados foram: naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, antraceno, fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(a)pireno, benzo(k)fluoranteno, benzo(g,h,i)perileno, indeno(1,2,3-c,d)pireno, dibenzo(a,h)antraceno.

Em cada um dos tempos amostrais definidos (Tabela 1) foram retiradas amostras em triplicata das séries para análise 1.

Tabela 1: Coleta de amostras. Número de microorganismos amostrados nas séries *in natura*, *pleurotus* e controle.

Tempos amostrais (dias)	<i>in natura</i>	<i>Pleurotus</i>	Controle
0	3	3	3
14	3	3	-
28	3	3	-
42	3	3	-
56	3	3	3

2.1.8 EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS E ANÁLISE INSTRUMENTAL

Amostras foram extraídas em um extrator tipo Soxhlet, utilizando-se *n*-hexano (previamente purificado como descrito anteriormente) como solvente. O procedimento de extração teve duração média de 4 horas. Os extratos obtidos foram levados a peso constante, em chapa de aquecimento, por cerca de 90 min, sendo diluídos em 50 mL de *n*-hexano. A fim de reduzir a concentração do extrato, para posterior análise instrumental, 30 mL do extrato orgânico foram transferidos para um novo frasco. Uma alíquota de 1 mL foi diluída para 10 mL com *n*-hexano.

A análise instrumental foi realizada em um cromatógrafo a gás PerkinElmer, modelo Autosystem, equipado com uma coluna capilar elite plot (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). As condições de análise cromatográfica são apresentadas na Tabela 2. As amostras foram analisadas por triplicatas de injeção (1 µL no modo *splitless*) por cromatografia a gás com detecção por ionização de chama (GC/FID).

Tabela 2: Condições de análise cromatográfica

Parâmetro	Condição
Temperatura inicial	100 °C/10 min
Rampa de aquecimento 1	5 °C/min
Temperatura e tempo final 1	200 °C/0 min
Rampa de aquecimento 2	10 °C/min
Temperatura e tempo final 2	300 °C/20 min
Gás de arraste e fluxo	He, 1 mL/min

2.2 FASE 2: ANÁLISE DOS HPAS COM ANEL DE CINCO MEMBROS

2.2.1 TESTE DE DEGRADAÇÃO DE HPAS

O teste de degradação foi desenvolvido em quatro microcosmos de vidro contendo 10 g de solo, caracterizados como segue:

- Solo contendo a microbiota autóctone f(amostra *In natura*);
- solo estéril contendo um inóculo de 5% do fungo *Pleurotus sajor-caju* linhagem PS-2001 em meio de serragem de *Pinus sp.* (amostra *Pleurotus*);
- solo contendo a microbiota autóctone com a adição de um inóculo de 5% do mesmo fungo foi utilizado (amostra *Pleurotus + In natura*),
- solo estéril (a amostra Controle).

Todas as amostras foram contaminadas com uma solução contendo os 16 HPAs em *n*-hexano, de modo que a concentração final de HPAs em cada amostra foi de 1 µg/g solo.

2.2.2 COLETA DAS AMOSTRAS, EXTRAÇÃO E ANÁLISE INSTRUMENTAL

As amostras foram coletadas 42 dias após a contaminação e extraídas e analisadas conforme descrito em 2.1.8.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 FASE I: ANÁLISE GERAL

Os resultados das análises de caracterização do solo (métodos descritos na seção 2.4) podem ser observados na Tabela 3:

Tabela 3: Resultados da caracterização do solo.

Parâmetro	Resultado (%)
Umidade	18,82
COT	23,7
NTK	0,25
PT	0,06
STV	35,41

Conforme se observa na Figura 1, as variações na concentração de HPAs no solo em relação ao início e ao final do experimento indicam uma redução na concentração destes compostos em todas as séries de amostras.

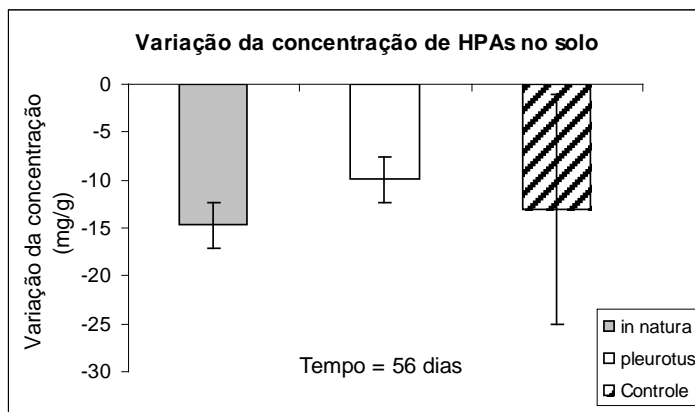


Figura 1: Variação nas concentrações de HPAs

A menor taxa de degradação, utilizando-se o fungo *Pleurotus sajor-caju*, possivelmente está associada ao fato de que fungos não utilizam HPAs como única fonte de carbono e energia. Desta forma há a necessidade de suplementação do meio com uma fonte de carbono adicional, como observado por CERNIGLIA (1997).

Também é importante destacar que a variação da concentração de HPAs no controle pode estar indicando que fatores abióticos, tais como a volatilização natural e a perda de analitos em função do processo de extração e concentração dos extratos, também podem contribuir para o decaimento das concentrações dos contaminantes.

A avaliação das taxas de decaimento das concentrações dos dezesseis HPAs revelou que alguns compostos apresentaram taxas mais elevadas, sendo estes: benzo(b)fluoranteno, fluoranteno, criseno, indeno(1,2,3-CD)pireno, fluoranteno, acenafteno e fluoreno. Estas taxas de degradação são, inclusive, maiores do que aquelas obtidas por FRANÇA et al. (2010), que avaliaram a remoção de HPAs de alto peso molecular pelo tratamento com fertilizante e glicerol. Na Tabela 4 é possível observar a degradação média destes compostos, considerando-se o tempo total do experimento.

Tabela 4: Degradação média de alguns HPAs

HPA	Degradação média (%) (<i>in natura</i>)	Degradação média (%) (<i>Pleurotus</i>)	Degradação média (%) (controle)
Antraceno			
Fluoranteno			
Fluoreno			
Fenantreno	78,51	67,38	61,57
Criseno			
benzo(b)fluoranteno			
indeno(1,2,3-CD)pireno			

De acordo com FRANÇA et al. (2010) e ZHANG et al. 2006, a maioria dos microorganismos presentes no solo pode degradar HPAs de baixo peso molecular, enquanto que a degradação de HPAs de alto peso molecular é dependente de processos de cometabolismo. Entretanto, observando-se as estruturas químicas dos HPAs com maior grau de degradação (Figura 3), percebe-se a presença de HPAs de baixo e alto peso molecular, de forma que o cometabolismo pode não ser a argumentação mais adequada para explicar as altas taxas de degradação destes compostos.

Por outro lado, ao avaliarem-se as estruturas químicas de tais compostos, observa-se que, com exceção do criseno e do fenantreno, todos apresentam um anel de cinco membros, como pode ser observado nas regiões sombreadas na Figura 2, e esta pode ser a chave para o entendimento da degradação preferencial destes compostos.

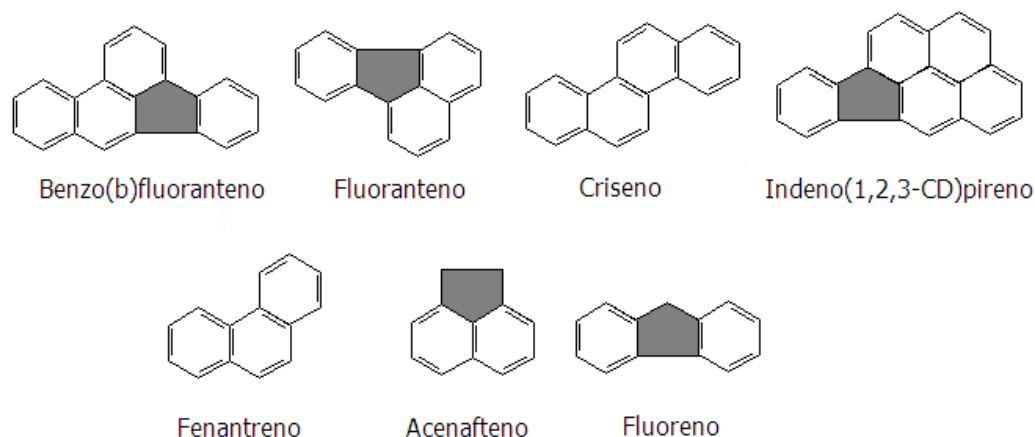


Figura 2: Estrutura dos compostos com maior taxa de degradação

No metabolismo bacteriano, a oxigenação inicial é realizada por uma enzima intracelular que tem a função de reconhecer o HPA e adicionar dois átomos de oxigênio, quebrando a estabilidade proporcionada pela ressonância do anel aromático. Em fungos não-lignolíticos, assim como em seres humanos, o citocromo P-450 realiza a monoxigenação inicial e leva à formação de um epóxido. Em fungos lignolíticos, a ação de lignina peroxidases, responsáveis pela oxidação da lignina, podem oxidar HPAs.

Contudo, a maior parte dos estudos realizados concentra-se na determinação das taxas de degradação ou esclarecimento da via de degradação de um número reduzido de HPAs. Em uma situação real de impacto ambiental por derivados de petróleo, ocorre a contaminação do ambiente pela mistura de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, sendo, portanto adequado o monitoramento da variação da concentração dos dezesseis compostos que são relevantes em função das informações físico-químicas, toxicológicas, industriais e ambientais existentes em relação a estes.

Os dados obtidos neste trabalho, acompanhando-se as taxas de degradação dos dezesseis HPAs, indicam que a estrutura química destacada na Figura 2 pode representar uma região que desempenha um papel importante na oxidação biológica destes compostos, já que há um certo consenso na literatura de que a clivagem inicial do anel aromático, devido a estabilidade da estrutura de ressonância, seja o passo limitante da biodegradação dos HPAs. Por outro lado, em termos termodinâmicos, a clivagem microbiológica de ligações sigma (pertencentes ao anel de cinco membros) pode estar sendo favorecida. CHAPMAN et al. (1995) demonstraram que o passo inicial da rota de biodegradação do acenafteno (um dos componentes do subgrupo A5) é a oxidação das ligações sigma do anel de cinco membros.

Assim, a partir deste momento, procurou-se avaliar as taxas de degradação das concentrações dos 16 HPAs, divididos em dois grupos denominados A5 (com anel de cinco membros) e NA5 (sem anel de cinco membros) a partir de uma solução de concentração conhecida.

3.2 FASE II: ANÁLISE DA DEGRADAÇÃO DOS HPAS DOS SUBGRUPOS A5 E NA5

As Figuras 3 e 4 apresentam as variações das áreas dos picos cromatográficos dos HPAs divididos em dois subgrupos: NA5 (Figura 3) e A5 (Figura 4). Os percentuais positivos significam aumento das áreas totais dos picos cromatográficos de cada grupo de substâncias, em relação ao controle, no período experimental de 42 dias. Embora as barras de erro, que representam os valores de desvio-padrão, sejam relativamente altas, principalmente com relação às amostras “PS + in nat” (*pleurotus* + biota nativa), esta parece ser uma tendência quando se analisa a biodegradação de *diesel* em solo (LI et al., 2004; DELILE et al., 2007).

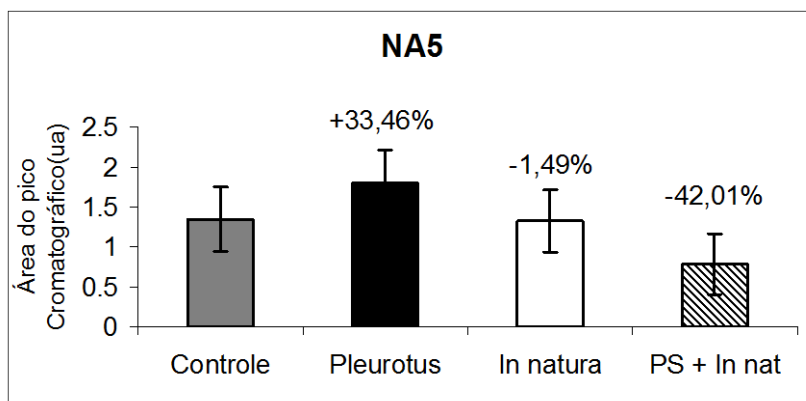


Figura 3. Variação das áreas totais dos picos cromatográficos dos HPAs sem anel de cinco membros, durante o período experimental de 42 dias. Os valores positivos indicam aumento das áreas, em relação ao controle. As barras de erro representam o desvio-padrão da triplicata de análise. PS + in nat = *Pleurotus* + biota nativa.

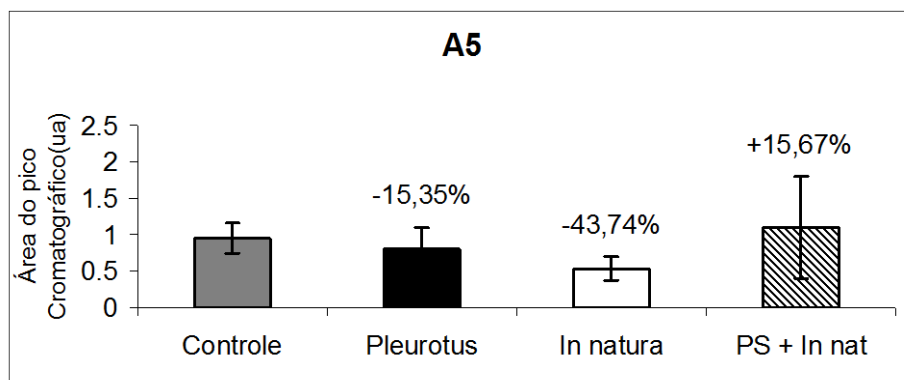


Figura 4. Variação das áreas totais dos picos cromatográficos dos HPAs com anel de cinco membros, durante o período experimental de 42 dias. Os valores positivos indicam aumento das áreas, em relação ao controle. As barras de erro representam o desvio-padrão da triplicata de análise. PS + in nat = *Pleurotus* + biota nativa.

Na Tabela 5 é possível observar os percentuais de degradação, em relação ao controle, dos HPAs individuais do subgrupo A5.

Tabela 5: Percentual de degradação dos compostos do subgrupo A5. Os valores negativos indicam aumento da concentração no período experimental.

HPA	<i>Pleurotus</i>	<i>In natura</i>	<i>Pleurotus + In natura</i>
Fenantreno	-8,52713	94,57364	-136,047
Fluoranteno	39,13043	56,52174	100
Fluoreno	76,19048	48,97959	100
Indeno(1,2,3-cd)pireno	-23,5294	-9,41176	18,82353
Acenafteno	86,31179	11,02662	14,44867
Criseno	40,95941	63,09963	-195,203
Benzo(b)fluoranteno	-87,0504	35,2518	82,01439

Pode-se verificar que cinco entre os sete compostos apresentaram degradação pelo fungo *Pleurotus sajor-caju*, enquanto seis compostos apresentaram degradação apenas pela microbiota nativa. Ao associar-se a microbiota nativa a *Pleurotus sajor-caju* cinco compostos apresentam degradação, sendo que dois deles (fluoranteno e fluoreno) apresentam 100% de degradação, indicando um efeito de sinergia entre os micro-organismos.

De acordo com Jacques *et al.* (2007), embora a mineralização fúngica de HPAs represente um processo limitado, com poucos relatos na literatura, fungos podem produzir, a partir de HPAs, intermediários que poderão ser utilizados como fonte de carbono e energia pelos demais microorganismos heterotróficos que não possuem capacidade de reconhecer e clivar os HPAs. Tais intermediários podem apresentar tempos de retenção cromatográficos próximos aos dos compostos em questão, o que justificaria o aumento observado em suas concentrações.

Na tabela 6 é possível verificar-se o percentual de degradação, em relação ao controle, dos compostos individuais do subgrupo NA5.

Tabela 6: Percentual de degradação dos compostos do subgrupo NA5. Os valores negativos indicam aumento da concentração no período experimental.

HPA	<i>Pleurotus</i>	<i>In natura</i>	<i>Pleurotus + In natura</i>
Naftaleno	ND*	ND*	ND*
Acenaftileno	25	-66,6667	41,66667
Benzo(g,h,i)perileno	-116,667	-391,667	33,33333
Antraceno	-62,5	82,14286	10,71429
Pireno	-354,545	-163,636	-181,818
Benzo(a)antraceno	-1050	-125	37,5
Benzo(k)fluoranteno	96,07843	70,58824	58,82353
Benzo(a)pireno	-81,8182	54,54545	59,09091
Dibenzo(ah)antraceno	61,85567	39,17526	89,69072

* Não detectado

O composto naftaleno, que é o HPA de menor peso molecular, permaneceu não detectado em todas as amostras, possivelmente devido a sua maior tendência de volatilização.

Observa-se ainda que apenas três entre os nove compostos do subgrupo NA5 apresentaram degradação pelo fungo *Pleurotus sajor-caju* enquanto que quatro dos nove compostos apresentaram degradação pela microbiota nativa. Por outro lado, ao associar-se a microbiota nativa ao fungo ocorre um efeito de sinergia, sendo que apenas um dos compostos não apresenta degradação.

CONCLUSÕES

Com relação aos resultados do presente estudo é possível concluir que:

- a degradação de HPAs em solo contaminado por óleo *diesel* pelo fungo *Pleurotus sajor-caju*, linhagem PS-2001 não foi satisfatória, uma vez que o meio precisa ser suplementado com uma fonte de carbono adicional;
- existe a possibilidade de HPAs contendo um anel de cinco membros terem a sua biodegradação termodinamicamente favorecida;
- a microbiota nativa do solo é mais eficiente para a biodegradação de HPAs do que o *Pleurotus*;
- o método de extração e concentração das amostras pode estar causando a perda de analitos;
- os HPAs com menores taxas de biodegradação ou degradação podem ser carregados por águas da chuva para mananciais superficiais ou, através de infiltração no solo, alcançar fontes de água subterrânea;
- ao associar-se a microbiota nativa ao fungo lignolítico *Pleurotus sajor-caju*, dois compostos do subgrupo A5 apresentaram 100% de degradação, enquanto que apenas um composto do subgrupo NA5 não apresentou degradação, evidenciando um possível efeito de sinergia entre o fungo e os micro-organismos autóctones;
- alguns compostos apresentaram aumento em suas concentrações, o que pode estar associado à formação de metabólitos da biodegradação com tempos de retenção cromatográficos próximos aos dos compostos analisados.

A continuidade deste trabalho exige um estudo mais aprofundado sobre os produtos de biodegradação de HPAs no solo, principalmente com relação aos compostos do subgrupo A5. A elucidação desta rota metabólica é de fundamental importância para o desenvolvimento de microrganismos especialmente desenhados para a degradação específica destes compostos.

AGRADECIMENTOS

Universidade de Caxias do Sul, CNPq, refinaria Alberto Pasqualine (Canoas, RS).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAIRD, C. (2002). *Química Ambiental*. Bookman – RS, 622 p.
2. CERNIGLIA, C.E. (1997). “Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: past, present and future application in bioremediation”. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 19, pp. 324-333.
3. CHAPMAN, P. J.; SHELTON, M.; GRIFOLL, M.; SELIFONOV, S. *Environ Health Perspect* 103(Suppl 5):00-00 (1995).
4. DELILLE, D., PELLETIER, E., COULON, F. (2007). “The influence of temperature on bacterial assemblages during bioremediation of diesel fuel contaminated subArctic soil”. *Cold Regions Science and Technology* 48, 74-83.
5. ENELL, A.; Reichenberg, F.; Ewald, G.; Warfvinge, P.; *Chemosphere* 2005, 61, 1529.
6. FRANÇA, F.P.; Vasconcelos, U.; Oliveira, F.J.S. *Quim.Nova*. No prelo.
7. GONG, Z.; Alef, K.; Wilke, B. M.; Li, P.; *J. Hazard. Mater.* 2007, 143, 372
8. JACQUES, R. J. S.; BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O. (2007). “Biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos”. *Ciência e Natura*, UFSM 29(1), pp. 7-24.
9. JOHNSEN, A. R.; WICK, L. Y.; HARMS, H. (2005). “Principles of microbial PAH-degradation in soil”. *Environmental Pollution* 133, pp. 71-84.
10. KAIPPER, B. I. A.; CORSEUIL, H. X. (2001). “Aumento da solubilidade de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em águas subterrâneas contaminadas com óleo diesel”, in: Saneamento ambiental: desafio para o século 21. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental; AIDIS. ABES – RJ, pp.1-8.
11. LI, L., CUNNINGHAM, C.J., PAS, V., BARRY, D.A., ANDERSON, P. (2004). “Field trial of a new aeration system for enhancing biodegradation in a biopile”. *Waste Management* 24, 127-137.
12. MATER, L.; Sperb, R. M.; Madureira, L. A. S.; Rosin, A. P.; Correa, A. X. R.; Radetski, C. M.; *J. Hazard. Mater.* 2006, 136, 967.
13. NETTO, A. D. P., MOREIRA, J. C.; DIAS, M. E. X. O.; ARBILLA, G.; FERREIRA, L. F. V.; OLIVEIRA, A. S.; BAREK, J. (2000). “Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS) e seus derivados nitrados (NHPAS): Uma revisão metodológica”. *Química Nova* 23, pp. 765-773.
14. OLIVEIRA, S. D. de; LEMOS, J. L. S.; BARROS, C. A.; LEITE, S. G. F. (2008). Emprego de Fungos filamentosos na Biorremediação de Solos Contaminados por Petróleo: Estado da Arte. CETEM/MCT - RJ, 67p. (Série Tecnologia Ambiental, 45).
15. PIZZUL, L.; SJÖGREN, A.; CASTILLO, M. del P.; STENSTRÖM, J. (2007). “Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by a two-step sequential treatment”. *Biodegradation* 18, pp. 607-616.
16. RODRÍGUEZ, E.; NUERO, O.; GUILLÉN, F.; MARTÍNEZ, A. T.; MARTÍNEZ, M. J. (2004). “Degradation of phenolic and non-phenolic aromatic pollutants by four *Pleurotus* species: the role of laccase and versatile peroxidase”. *Soil Biology & Biochemistry* 36, pp. 909-916.
17. WATANABE, K.; *Curr. Opin. Biotechnol.* 2001, 12, 237.
18. ZHANG, X. X.; Cheng, S. P.; Zhu, C. J.; Sun, S. L.; *Pedosphere* 2006, 16, 555.