

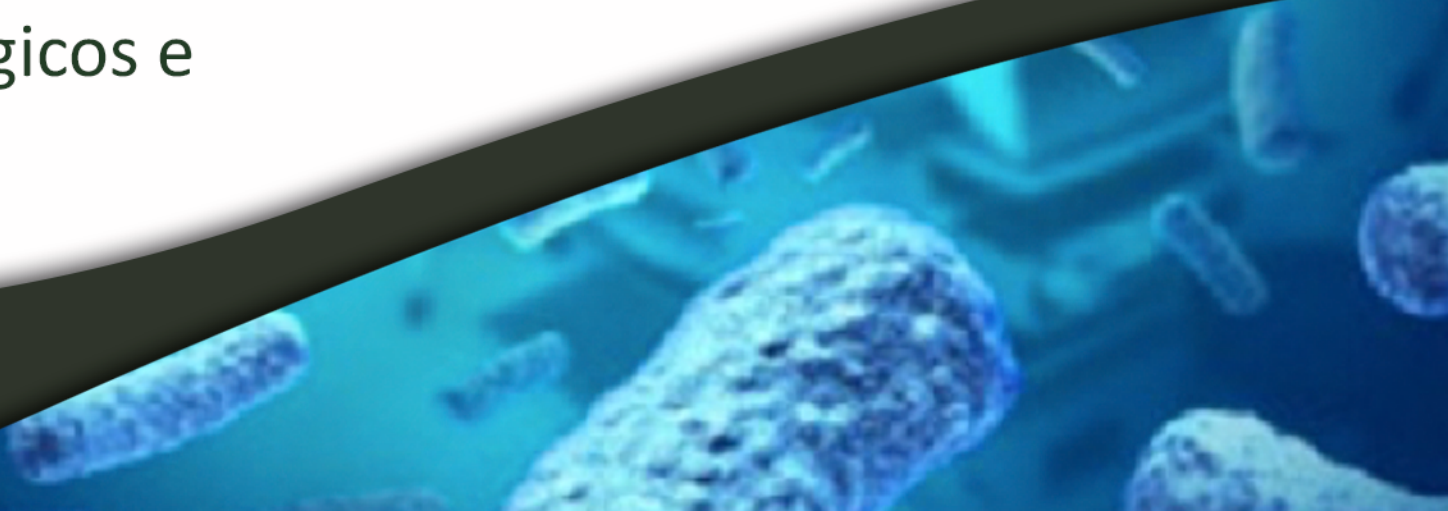
ABES

Seção Espírito Santo

BIORREMEDIAÇÃO ÁREAS CONTAMINADAS

Instrutor: Servio Tulio Cassini
Prof. Titular Departamento Engenharia Ambiental
DEA CT UFES

Biodegradação: Aspectos
Microbiológicos e
Processos



Biodegradação

- ✓ **Biodegradação: aspectos gerais**
- ✓ **Contaminantes ambientais**
- ✓ **Principais rotas de biodegradação**
biotransformação de compostos contaminantes
- ✓ **Regras de Biodegradação**
- ✓ **Cinética de Biodegradação**
- ✓ **Exemplos**



BIODEGRADAÇÃO: PRINCÍPIOS CONCEITOS

Biodegradação: Processamento ou modificação de moléculas orgânicas, derivada de metabolismo ou produtos biológicos, visando a sua remoção ou atenuação de impactos ambientais antrópicos.

Mineralização: Processamento de moléculas orgânicas até seu produto mineral correspondente. Exemplos: Glicose \rightarrow CO_2 , Proteínas \rightarrow NH_4 , SO_4^- . Também denominada de biodegradação última.

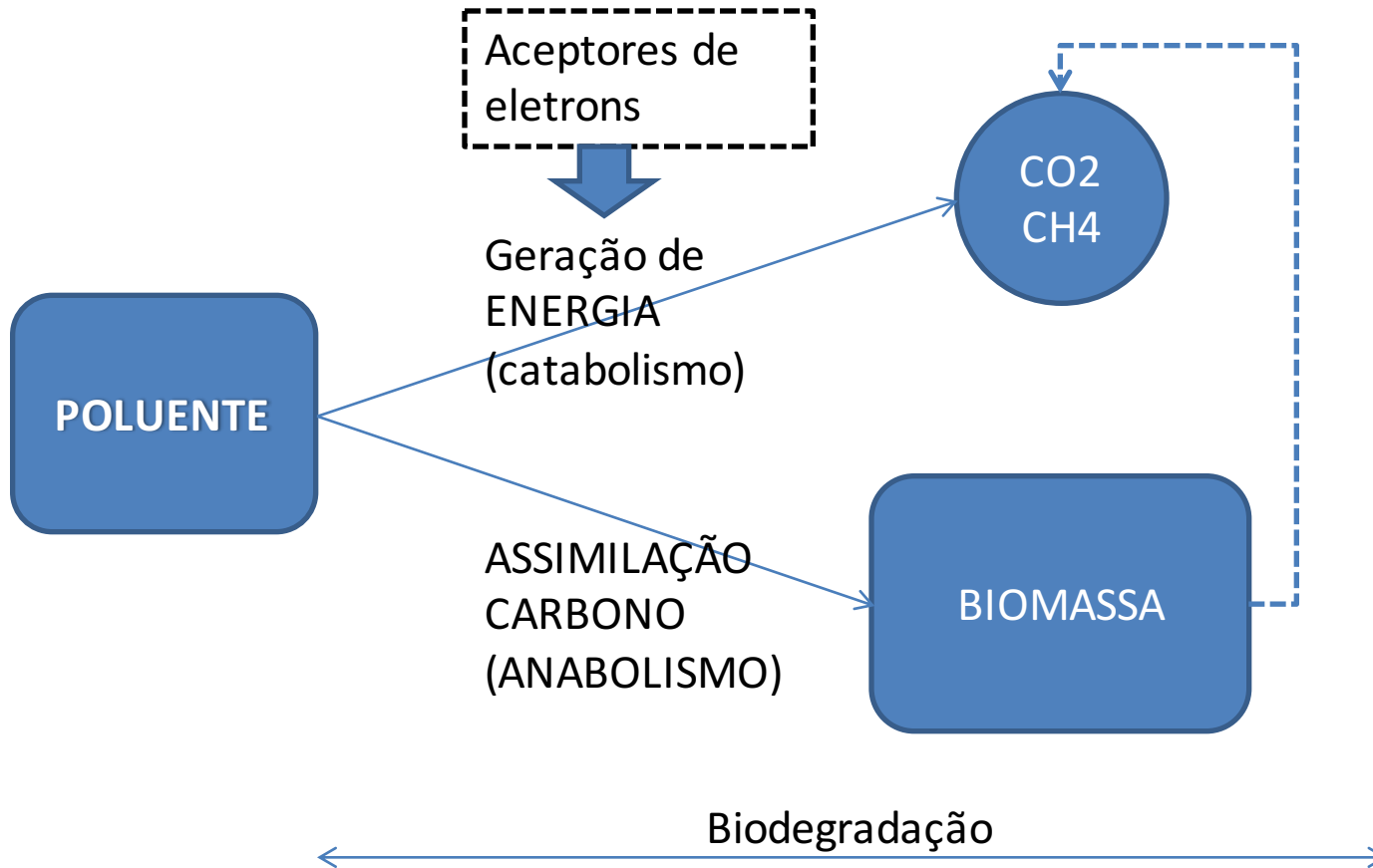
Biotransformação: Processamento intermediário de moléculas orgânicas, geralmente no metabolismo celular, até produtos orgânicos. Exemplos: Glicose \rightarrow 2 ácido pirúvico, Proteínas \rightarrow aminoácidos, Lipídios \rightarrow ácidos graxos.,

Assimilação: Incorporação de moléculas orgânicas ou não, nas células (biomassa) Exemplos: NH_4 \rightarrow proteínas, Ácidos graxos \rightarrow lipídios, CO_2 \rightarrow açúcares.

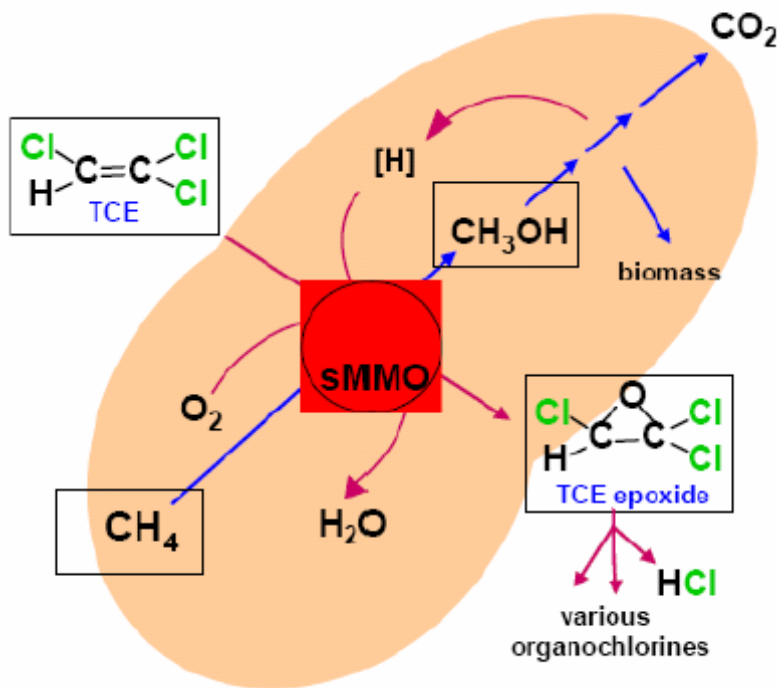
Biodegradação: vias metabólicas

- ⇒ Regra geral: degradar a molécula do poluente até obter uma estrutura comum ao metabolismo básico da célula: glicólise, ciclo de Krebs, etc.
- ⇒ **Biodegradação catabólica** produz energia metabólica
- ⇒ **Biodegradação cometabólica**: não gera energia, depende da presença do substrato primário, geralmente não resulta na mineralização da molécula.

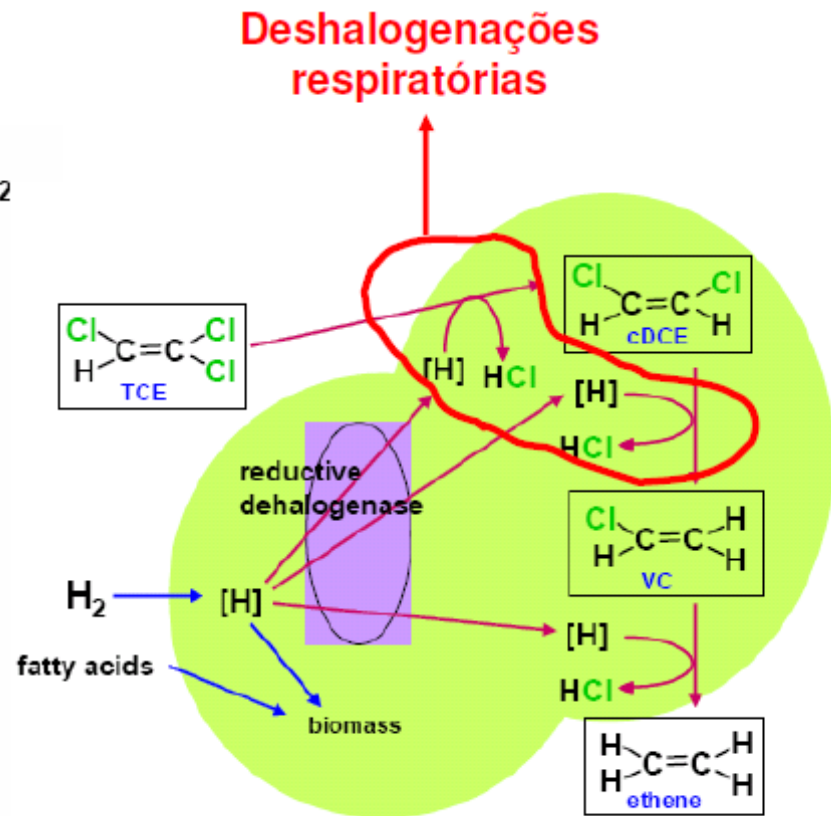
METABOLISMO HETEROTROFICO



Co-metabolismo: exemplos



Methylosinus



Dehalococcoides

Deshalogenações
respiratórias

COMETABOLISMO

Table 3.2. Some Microbial Genera and Enzymes that Co-oxidize Organic Pollutants

Genera	Enzyme	Primary Substrates	Some Compounds Cometabolized	References
<i>Pseudomonas</i> <i>Rhodococcus</i>	Toluene dioxygenase	Toluene, phenol, others	TCE, many other aliphatic olefins, chlorobenzene, nitrobenzene, nitrotoluene isomers, alkylsulfides	Li and Wackett 1992; Nelson et al. 1988; Wackett and Hershberger 2001
<i>Burkholderia</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Acinetobacter</i>	Toluene monooxygenase	Toluene, phenol, others	TCE, chlorobenzene, nitrobenzene, nitrotoluene isomers, alkenes.	Kim and Hao 1999; Shields et al. 1991
<i>Methylosynus</i> <i>Methylococcus</i> <i>Methylomicrobium</i>	Methane monooxygenase	Methane, formate, methanol	TCE, all DCE isomers, chloroform, dichloromethane, cyclohexane, <i>n</i> -alkanes	Oldenhuis et al. 1989; Imai et al. 1986; Haber et al. 1983; Little et al. 1988
<i>Nitrosomonas</i>	Ammonia monooxygenase	Ammonia	TCE, 1,1-DCE, dimethylether, thioethers, methyl fluoride	Hyman et al. 1994; Juliette et al. 1994; Rasche et al. 1990, 1991
<i>Pseudomonas</i>	Naphthalene dioxygenase	Naphthalene	Toluene, ethylbenzene, aryl alkyl sulfides, indan, phenanthrene	Lee and Gibson 1996; Lee et al. 1995
<i>Burkholderia</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Sphingomonas</i> <i>Comamonas</i>	Biphenyl dioxygenase	Biphenyl	Lightly chlorinated PCB congeners, dibenzofurans and dioxins, carbazole	Habe et al. 1991; Seeger et al. 2001
<i>Mycobacterium</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Bacillus</i> <i>Rhodococcus</i>	Propane monooxygenase	Propane	TCE, DCE isomers, vinyl chloride, chloroalkanes, benzene, MTBE	Wackett et al. 1989

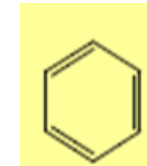
Os 25 poluentes prioritários detectados com maior frequência em áreas impactadas ou contaminadas na América do Norte e Europa

1. Trichloroethylene (TCE)
2. Lead (Pb)
3. Tetrachloroethylene (TCE)
4. Benzene
5. Toluene
6. Chromium (Cr)
7. Dichloromethane (DCM)
8. Zinc (Zn)
9. 1,1,1,-Trichloroethane (TCE)
10. Arsenic (As)
11. Chloroform (CF)
12. 1,1-Dichloroethene (1,1-DCE)
13. 1,2-Dichloroethene (1,2-DCE)
14. Cadmium (Cd)
15. Magnesium (Mg)
16. Copper (Cu)
17. 1,1-Dichloroethane (1,1-DCA)
18. Vinyl chloride
19. Barium (Ba)
20. 1,2-Dichloroethane (1,2-DCE)
21. Ethylbenzene (EB)
22. Nickel (Ni)
23. Di(ethylhexyl)phthalate
24. Xylenes
25. Phenol

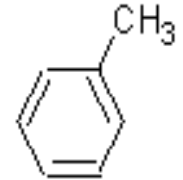
Source: NRC (1994).

Contaminantes solo urbano

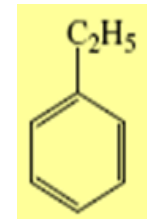
- **Gasolina e óleo:** (BTEX, fenol, PAH – policíclicos),
- Benzeno (carcinogênico) e + solúvel em água, porém são todos hidrofóbicos (sendo o xileno o + hidrofóbico de todos);
- **Substâncias sintéticas:**
- **PCE** (Tetracloroetileno) e TCE (tricloroetileno), solventes (desengordurantes) limpar máquinas (EUA poluente águas subterrâneas, CV carcinogênico).
- **PCB** (fluidos hidráulicos e dielétricos)



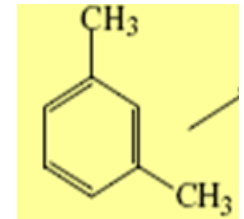
Benzeno



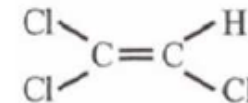
Tolueno



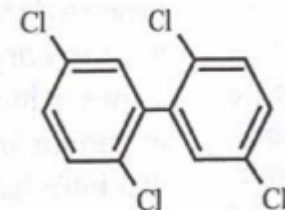
Etilbenzeno



m-xileno



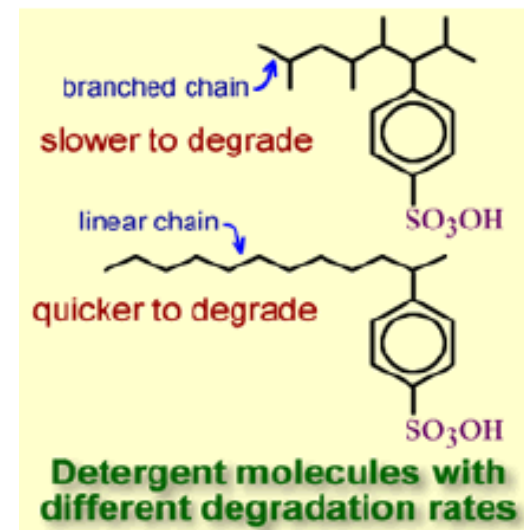
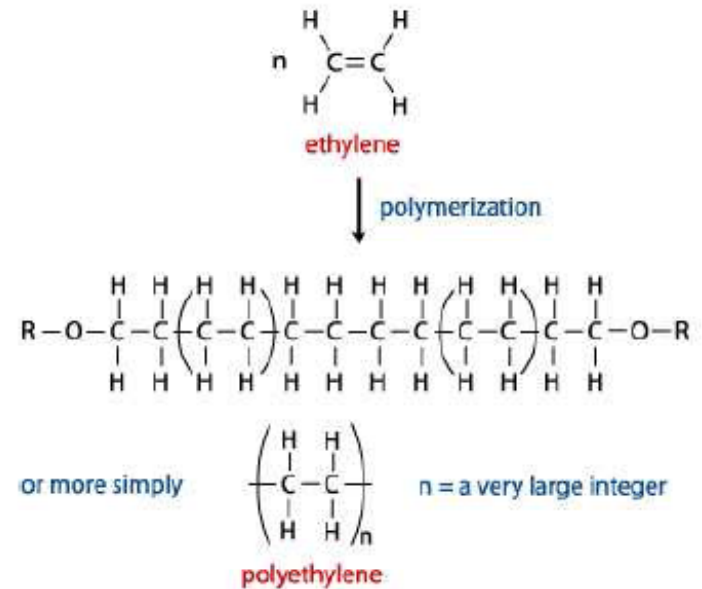
TCE



2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl

Outros Contaminantes solo urbano

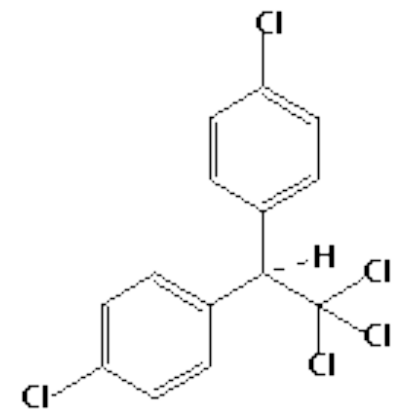
- **Plásticos:** polietileno, cloreto de polivinila, poliestireno (muito resistentes)
- **ABS (alquilbenzeno sulfonatos) detergentes aniônicos**



Poluição solo rural

- Inseticidas:

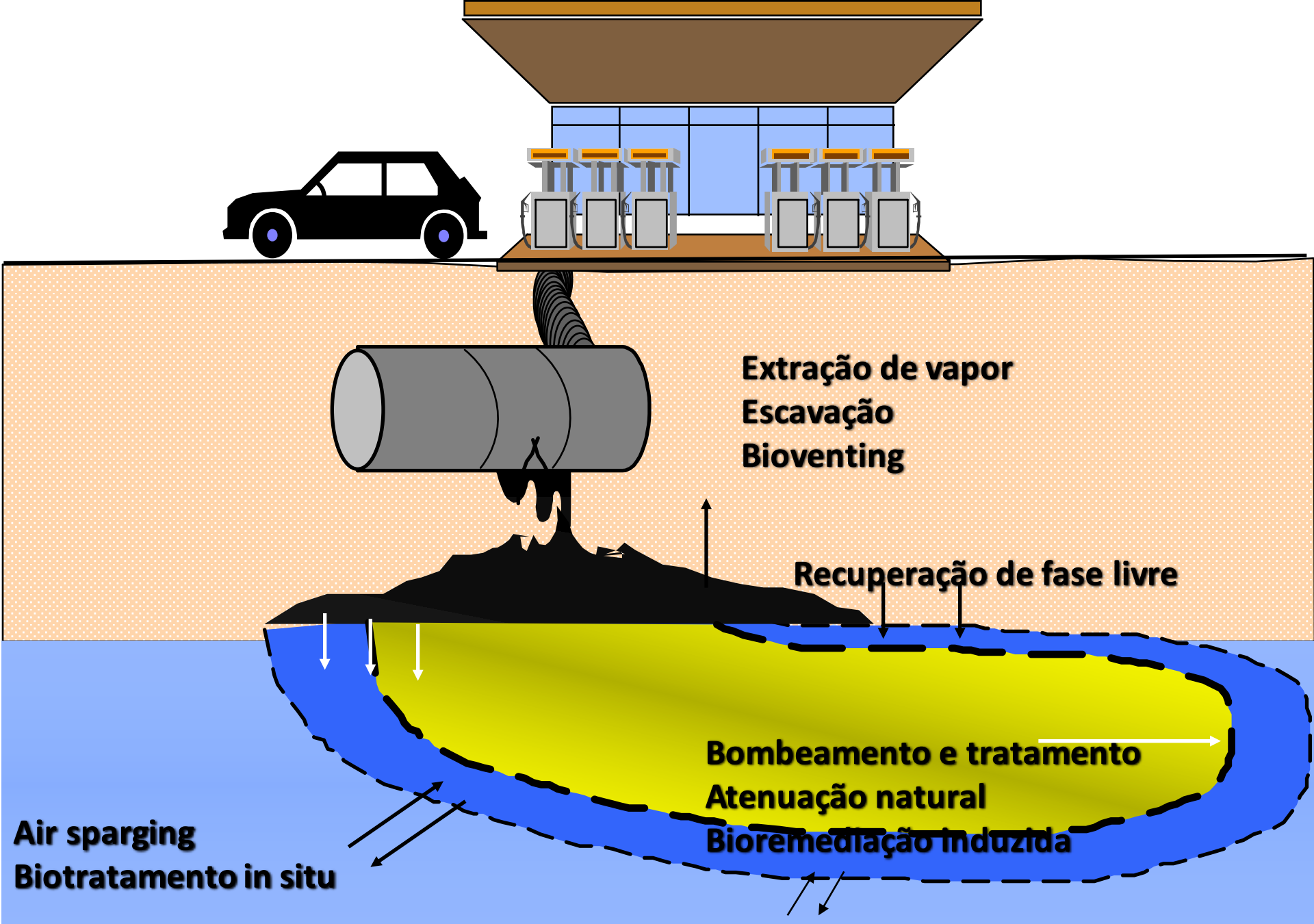
- organoclorados: DDT, lindano, aldrin; proibidos.
- organofosforados: parathion, malathion (- persistentes)
- **Herbicidas** : derivados do ácido fenoxiacético: 2, 4- D, 2,4,5-T;
- **Fungicidas**: PCP (preservante de madeira) .



DDT, 4 a 5 anos

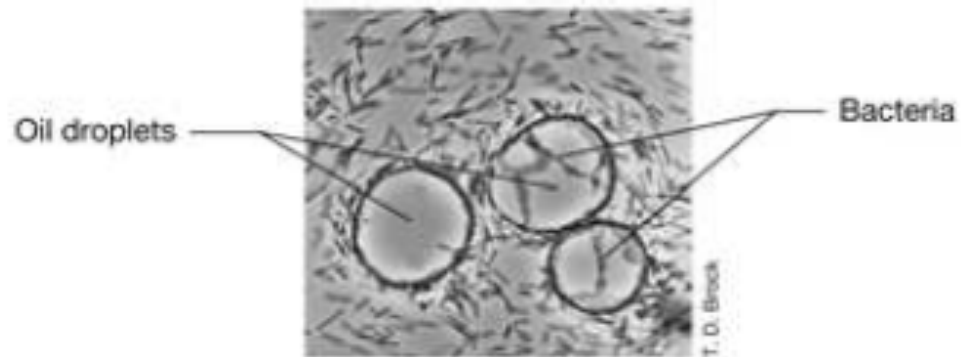
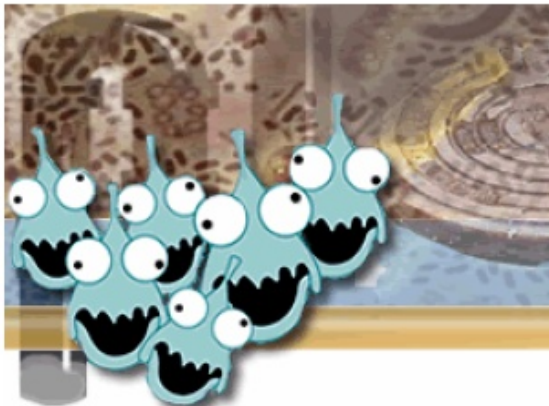
Contaminação das águas subterrâneas

- As águas subterrâneas são indissociáveis do meio que as contém.
- Solo contaminado - grande possibilidade de contaminação das águas subterrâneas.
- Formação de plumas de contaminação que avançam vários quilômetros.
- **Área urbana: postos de gasolina**
- **Área Rural: disposição inadequada de resíduos, fertilizantes, pesticidas, etc.**

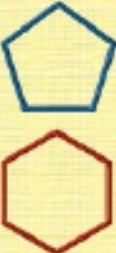
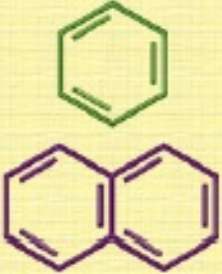


Poluentes orgânicos

- Compostos que podem ser utilizados pelos microrganismos como fonte de carbono (e doador de e^o), alguns à CO₂ e H₂O
- **Diversas estruturas químicas:** aromáticos Cl e não-Cl, alifáticos clorados, nitro aromáticos, fosforados, etc
- **PCBs e Pesticidas são xenobióticos**, mas com estruturas semelhantes a compostos naturais, são reconhecidos pelas enzimas e degradados
- *Pseudomonas sp.* B13 isolada de esgoto, foi a 1^a bactéria capaz de utilizar um composto cloroaromático (3CBA) (Dorn *et al.*, 1974).


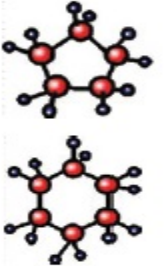
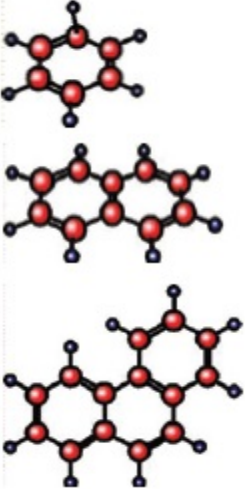
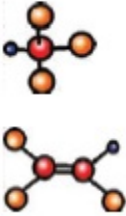


Fonte: Madigan *et al.*, 2004

	Structure	Name	Physical State
Aliphatic	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{CH}_3$	Propane (n = 1)	gas
		Octane (n = 8)	liquid
		Hexatriacontane (n = 34)	solid
Alicyclic		Cyclopentane	liquid
		Cyclohexane	liquid
Aromatic		Benzene	liquid
		Naphthalene	solid

Estruturas básicas de contaminantes ambientais geralmente referenciados nos diversos processos de biodegradação. Estas estruturas variam de moléculas muito simples até mais complexas com adição de grupos específicos.

2006.

Hydrocarbon Type	Structure	Name	Physical state at room temp.	Source and uses
Aliphatics		propane n=1 hexane n=4 hexatriacontane n=34	gas liquid solid	Petroleo contem HC alifaticos linear e ramificados. Fração gasolina do petroleo contem 30-70% alifaticos.
Alicyclics		cyclopentane cyclohexane	liquid liquid	Petroleo contem aliciclicos subst e não subst. Fração gasolina contem 20-70% aliciclicos
Aromatics		benzene naphthalene phenanthrene	liquid solid solid	Petroleo contem alquil aromaticos substituidos e não subst. Fração gasolina contem 10-15%.
Substituted aliphatics		chloroform trichloroethylene (TCE)	liquid liquid	Solventes sintéticos industriais em diversos processos e sinteses organicas.

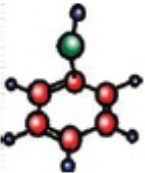
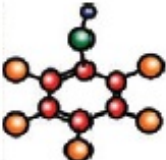
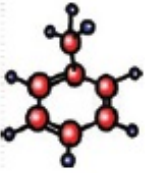
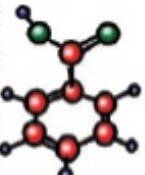
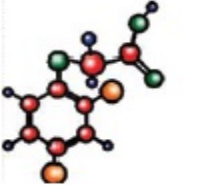
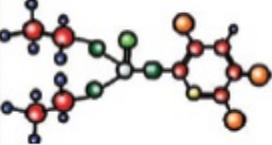
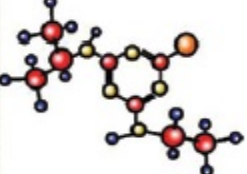
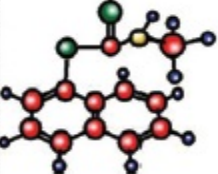
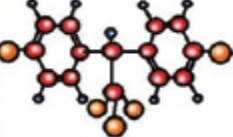






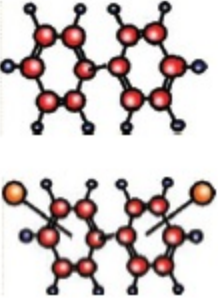
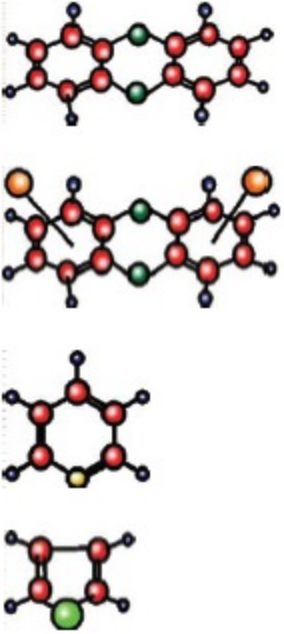
Aromaticos Substituidos		phenol	liquid	Encontrado no alcatrão de carvão oju sintetizado. Utilizado como desinfestante e na síntese de resinas e corantes.
		pentachlorophenol	liquid	Sintético e utilizado como inseticida, desfoliante e preservação de madeiras
		toluene	liquid	Encontrado no petróleo (tar oil) e utilizado na síntese de orgânicos, explosivos e corantes. Também como solvente.
		benzoate	liquid	Encontrado em plantas e animais e produzido como preservativo de alimentos, corantes e indústria do tabaco.

FIGURE 20.11 Representative pollutant structures.

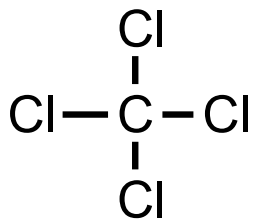
Pesticides Organic acids		2,4-dichlorophenoxy acetic acid	solid	Broadleaf herbicide
Organophosphates		chlorpyrifos	solid	Used as an insecticide and an acaricide
Triazines		atrazine	solid	Selective herbicide
Carbamates		carbaryl	solid	Contact insecticide
Chlorinated hydrocarbons		1,1,1-trichloro-2,2- bis-(4-chlorophenyl)- ethane (DDT)	solid	Contact insecticide
		methyl bromide	gas	Used to degrease wool, extract oil from nuts, seeds and flowers, used as an insect and soil fumigant.

LEGEND

-  Carbon
-  Hydrogen
-  Oxygen
-  Chlorine
-  Nitrogen
-  Sulfur
-  Phosphorus
-  Bromine

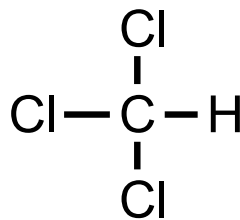
Biaryl hydrocarbons		<p>biphenyl</p> <p>polychlorinated biphenyls (PCBs)</p>	<p>solid</p> <p>liquid</p>	<p>Bifenilas são precursoras de varios compostos organoclorados denominados PCBs utilizados em tranformadores e ind. plasticos</p>
Heterocyclics		<p>dibenzodioxin</p> <p>chlorinated dioxins</p> <p>pyridine</p> <p>thiophene</p>	<p>solid</p> <p>solid</p> <p>liquid</p> <p>liquid</p>	<p>Dioxinas são geradas durante o processo de incineração e são contaminantes associados com sintese herbicidas</p> <p>Encontrada em betumen (coal tar). Utilizada como solvente e precursores sinteticos</p> <p>Utilizada como solvente, tintas, corantes e farmacos.</p>

Tipos de Solventes Clorados



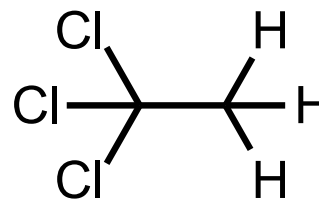
Tetracloro
Carbono

Solvente de tinturaria



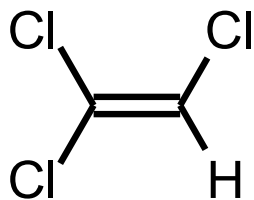
Cloroformio

solvente industrial



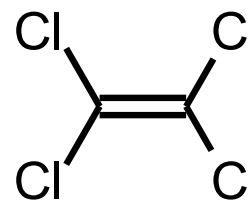
1,1,1-Tricloroetano

solvente de
desengordurante de
motores



Tricloroetano

solvente de
desengordurante de
motores



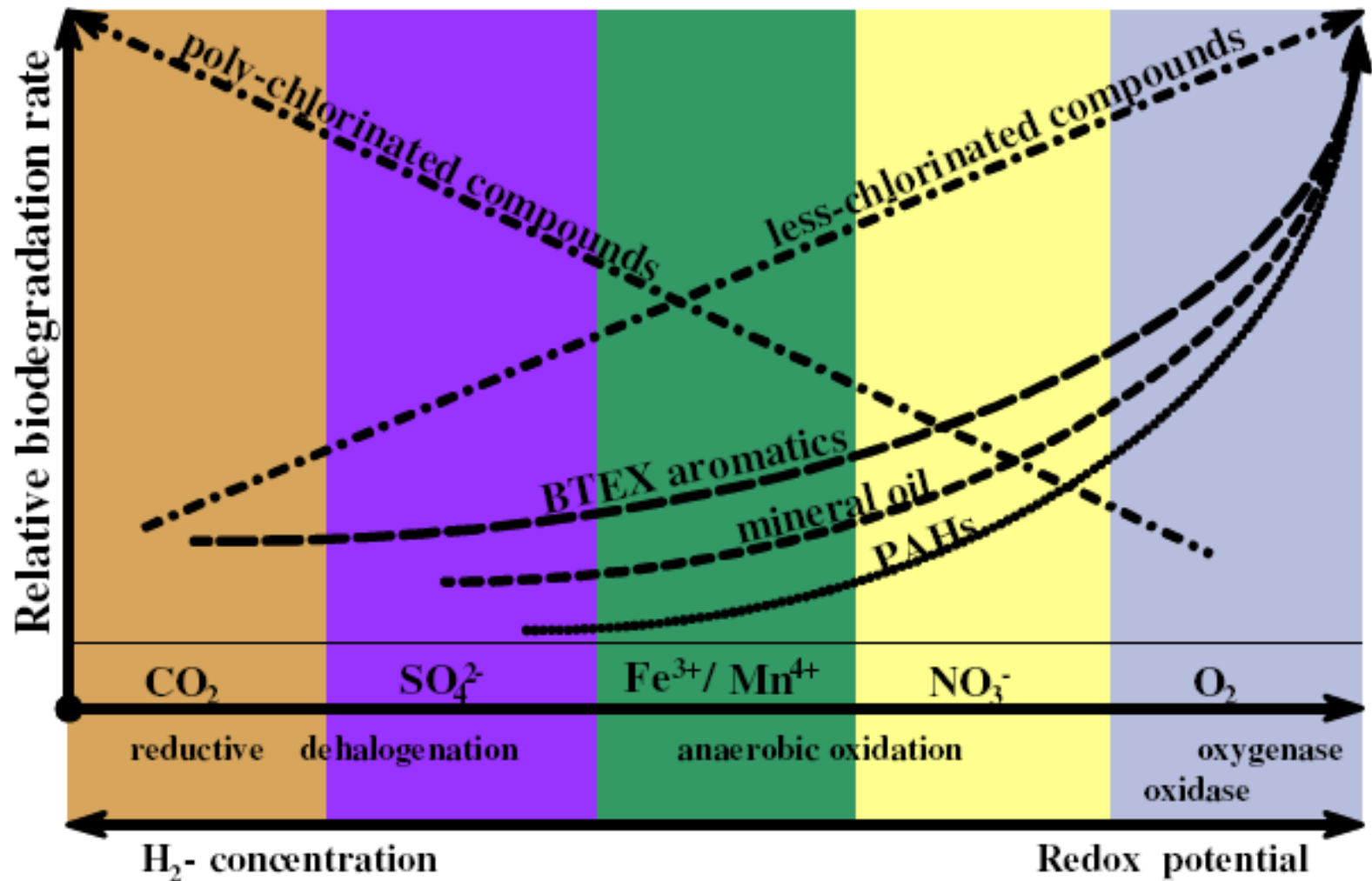
Tetracloroetano

solvente de tinturaria

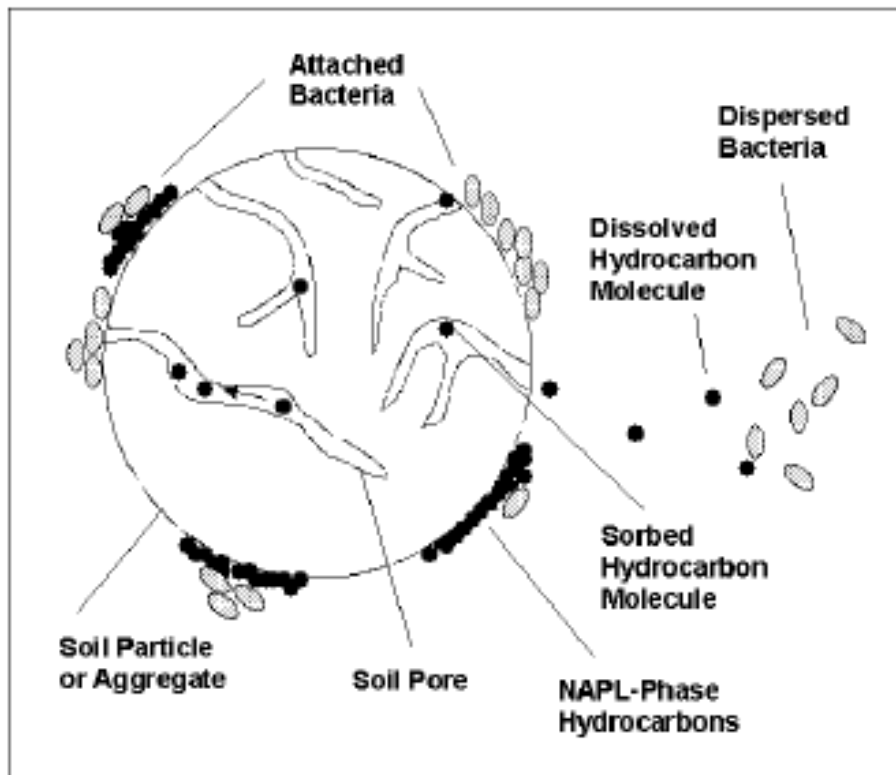
Biodegradabilidade de alguns compostos químicos

Degradação rápida	Degradação intermediária	Difícil degradação	Geralmente recalcitrantes
Óleos combustíveis, gasolina	Creosoto, piche	Solventes clorados (TCE)	Dioxinas
Cetonas e alcoois	Pentaclorofenol (PCP)	Alguns pesticidas e herbicidas	Bifenilas policloradas (PCB)
Aromáticos monocíclicos			
Aromáticos bicíclicos (naftaleno)			

Tendências da Degradação



Disponibilidade do contaminante



- Reações químicas entre os contaminantes e a matéria orgânica no solo

Adsorção
Solubilidade
Cargas

NAPL=non aqueous phase liquid

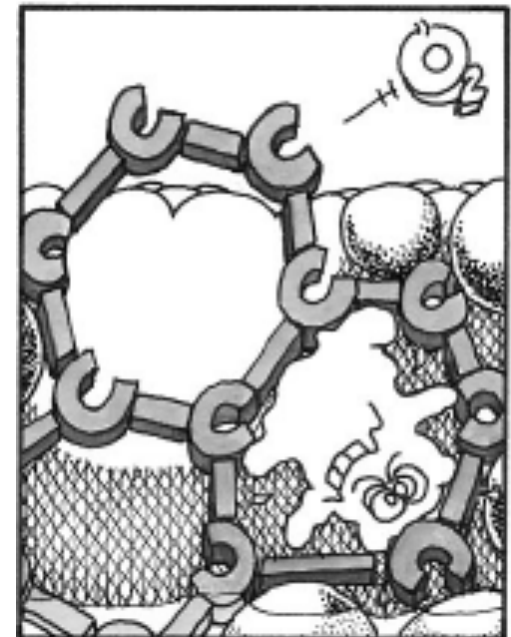
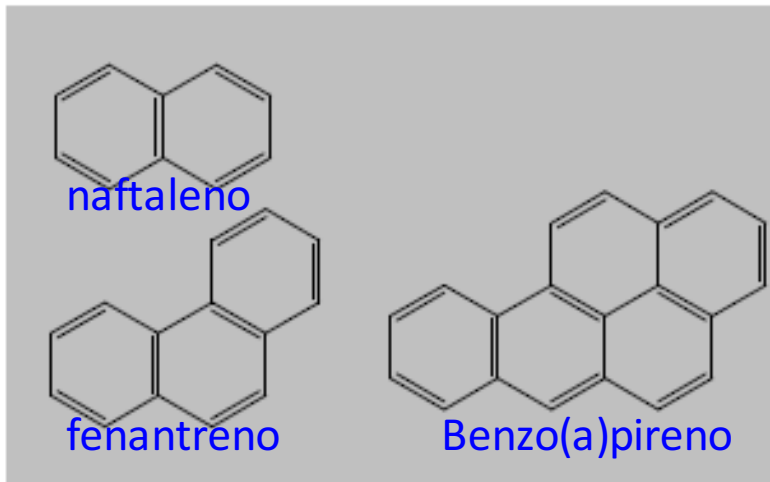
Condições Redox para a biodegradação

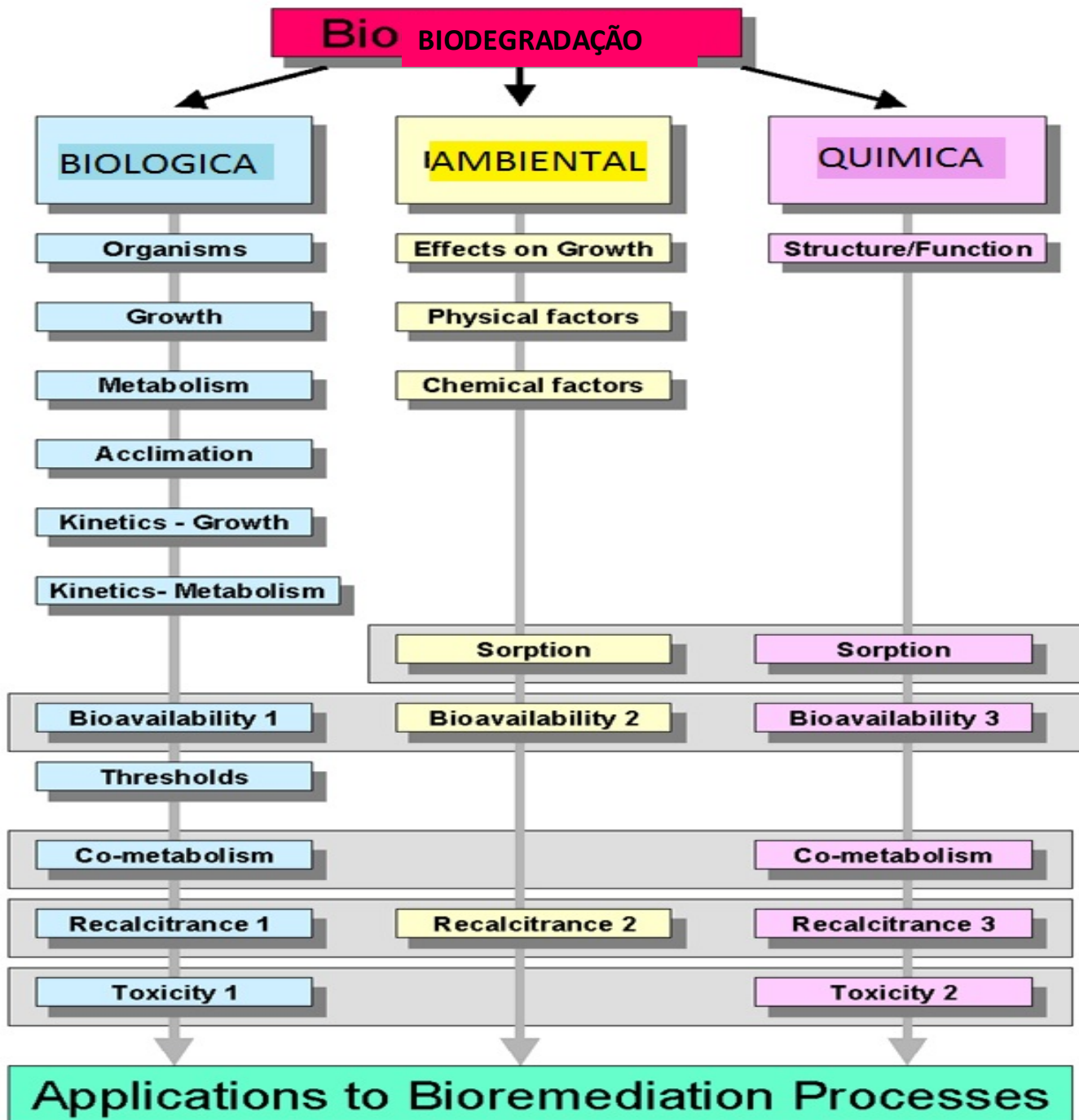
- **Condições aeróbias = presença de oxigênio**
- **Condições anaeróbias = ausência de O_2**
 - Redução de nitrato (NO_3)
 - Condições Fe-redutoras
 - Condições sulfato-redutoras (SO_4)
 - Condições metanogênicas

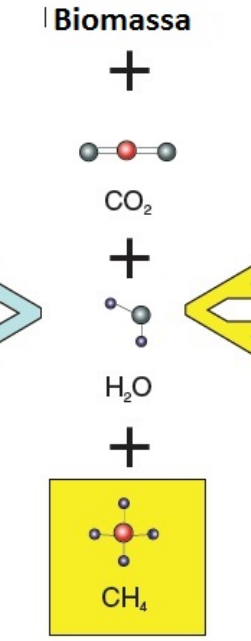
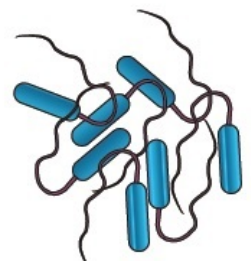
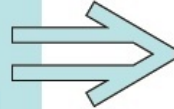
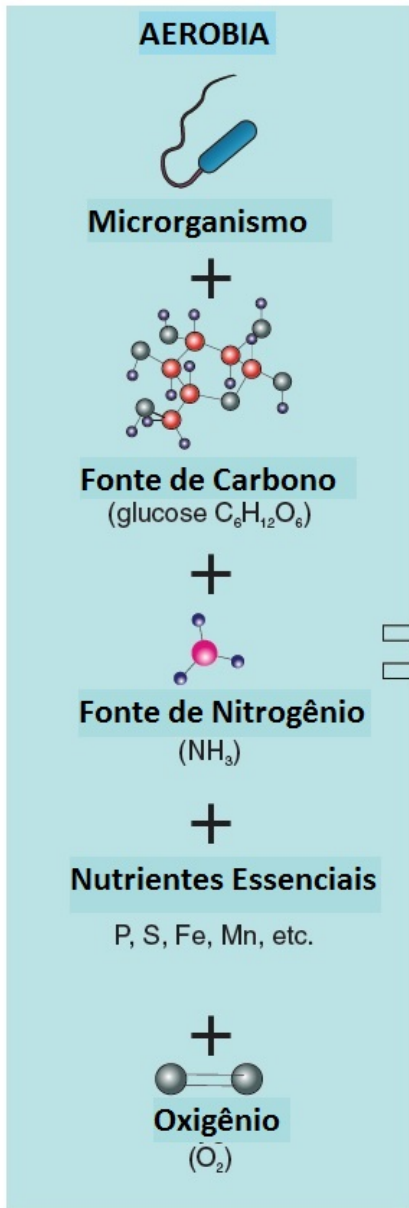
Processo co-metabólico ou reação “gratuita”: composto é transformado, mas o M.O. é incapaz de crescer com ele (não retira energia) (Atlas & Bartha, 1987).
Ex:bactérias com enzimas de ampla especificidade.

Degradação de HPA

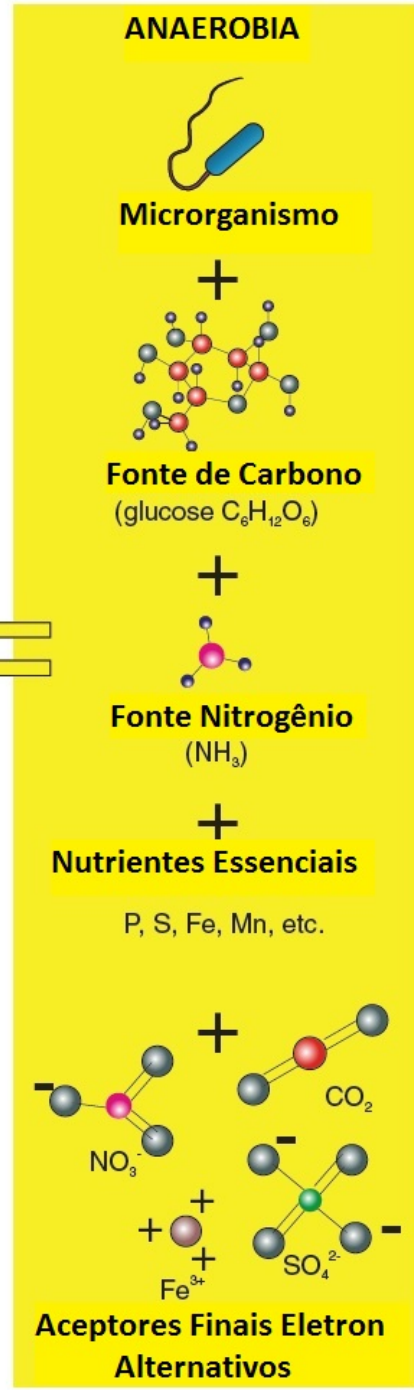
- **Hidrocarbonetos P. Aromáticos:** formados durante a combustão incompleta da matéria orgânica, como combustíveis derivados do petróleo (gasolina e óleo diesel) ou, carvão, madeira, etc.
- Tamanho da molécula;
- Solubilidade
- *Pseudomonas* (naftaleno dioxigenase até catecol)
- *Rhodococcus* (antraceno)







Rota Anaerobia



Rotas de Biodegradação Aerobia x Anaerobia

Escala de Peters e Moldowan (ref. 3)		Nível de biodegradação					
		0	1	2	3	4	5
Escala de Wenger et al. (ref. 89)		Nenhum	Muito leve	Leve	Moderado	Pesado	Severo
C ₁ -C ₅ gases	Metano ‡		----->				
	Etano				-----	----->	
	Propano		-----	----->	----->	----->	
	Isobutano				-----	----->	----->
	n-Butano			-----	----->	----->	----->
	Pentano			-----	----->	----->	----->
C ₆ -C ₁₅ HCs	n-Alcanos		-----	----->	----->	----->	----->
	Isoalcanos		-----	----->	----->	----->	----->
	Isoprenóides			-----	----->	----->	----->
	BTEX			-----	----->	----->	----->
	Alquilciclohexanos				-----	----->	----->
C ₁₅ -C ₃₅ HCs	n-Alcanos, isoalcanos		-----	----->	----->	----->	----->
	Isoprenóides				-----	----->	----->
	Naftalenos (C ₁₀₊)			-----	----->	----->	----->
	Fenantrenos, dibenzotiofenos				-----	----->	----->
	Crísenos					-----	----->
C ₁₅ -C ₃₅ Biomarcadores	Esteranos regulares					-----	----->
	C ₃₀ -C ₃₅ hopanos						----->
	C ₂₇ -C ₂₉ hopanos						----->
	Esteróides triaromáticos						----->
	Esteróides monoaromáticos						----->
	Gamacerano						----->
	Oleanano						----->
	C ₂₁ -C ₂₂ esteranos						----->
	Terpanos tricíclicos						----->
	Diasteranos						----->
	Diahopanos						----->
	25-Norhopanos ‡						----->
N †	Alquilcarbazóis					-----	----->
O*	Ácidos carboxílicos ‡		-----	----->	----->	----->	----->

* Ref. 86

† Ref. 87

Alteração inicial

Alteração intermediária

----->

Remoção completa

----->

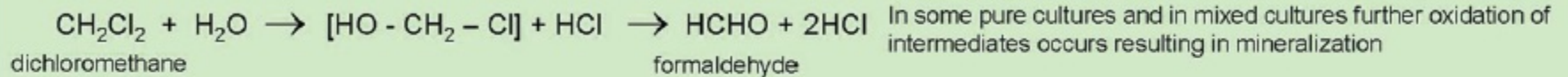
Geração de metano e possível remoção

‡ Produzido e consumido durante a biodegradação

BTEX = benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno

Principais Rotas e Reações de Biodegradação no ambiente

I. Substitution (hydrolytic/solvolytic dehalogenation)



II. Oxidation (oxygenolytic dehalogenation) – the first step is mediated by a monooxygenase enzyme

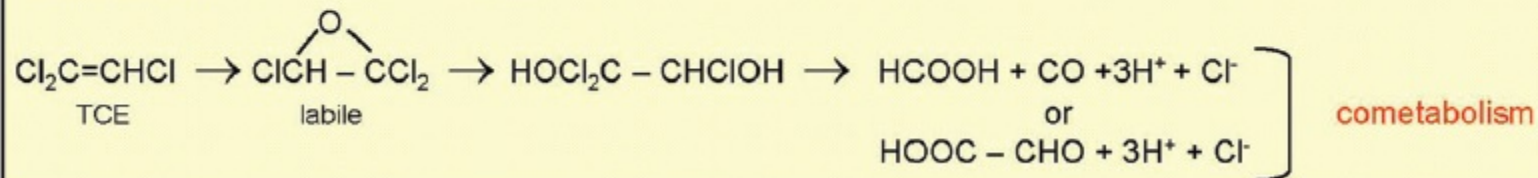
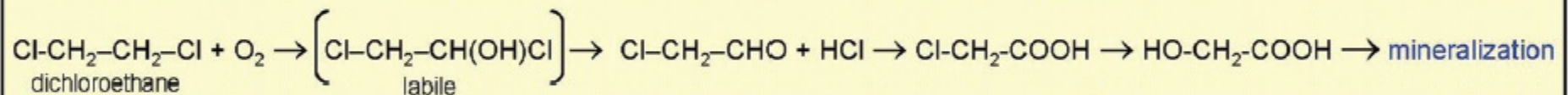


FIGURE 20.16 Aerobic degradation pathways for chlorinated aliphatics via (I) Substitution or (II) Oxidation.

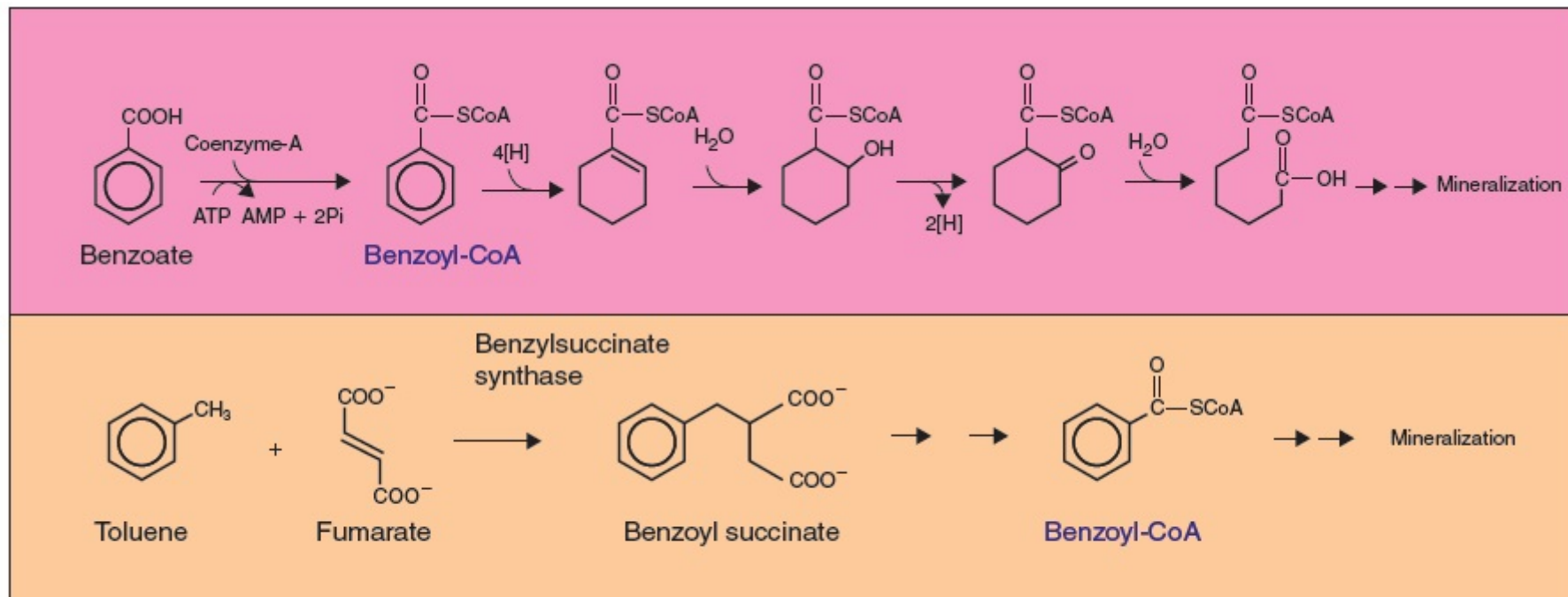


FIGURE 20.22 Anaerobic biodegradation of benzoate and toluene showing the common benzoyl-CoA intermediate.

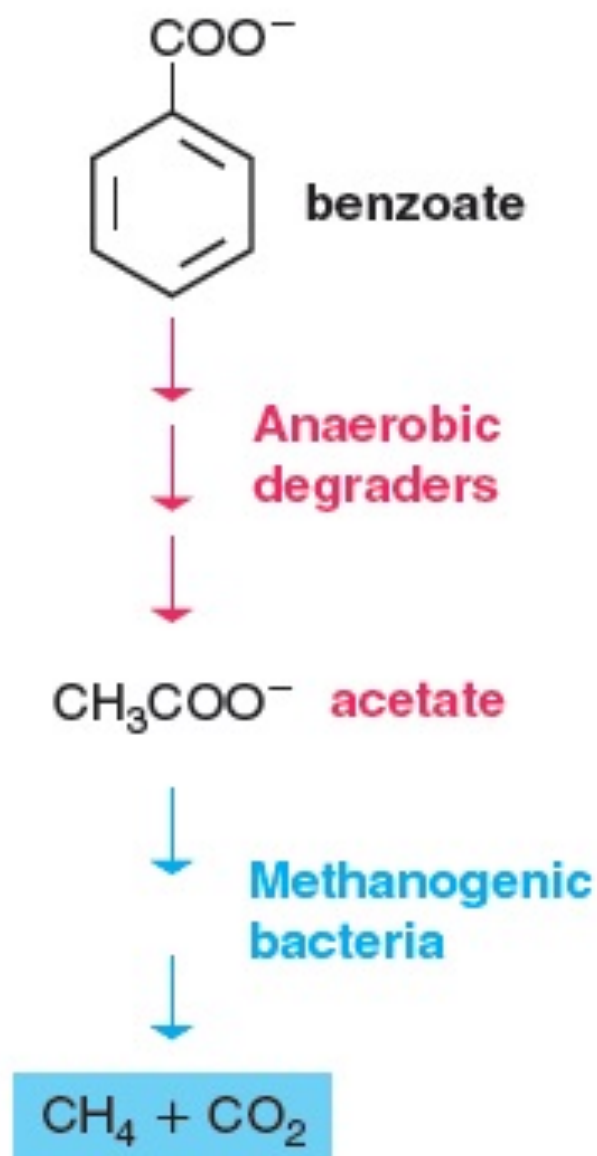


FIGURE 20.23 Anaerobic biodegradation of aromatic compounds by a consortium of anaerobic bacteria. From Pepper *et al.*, 2006.

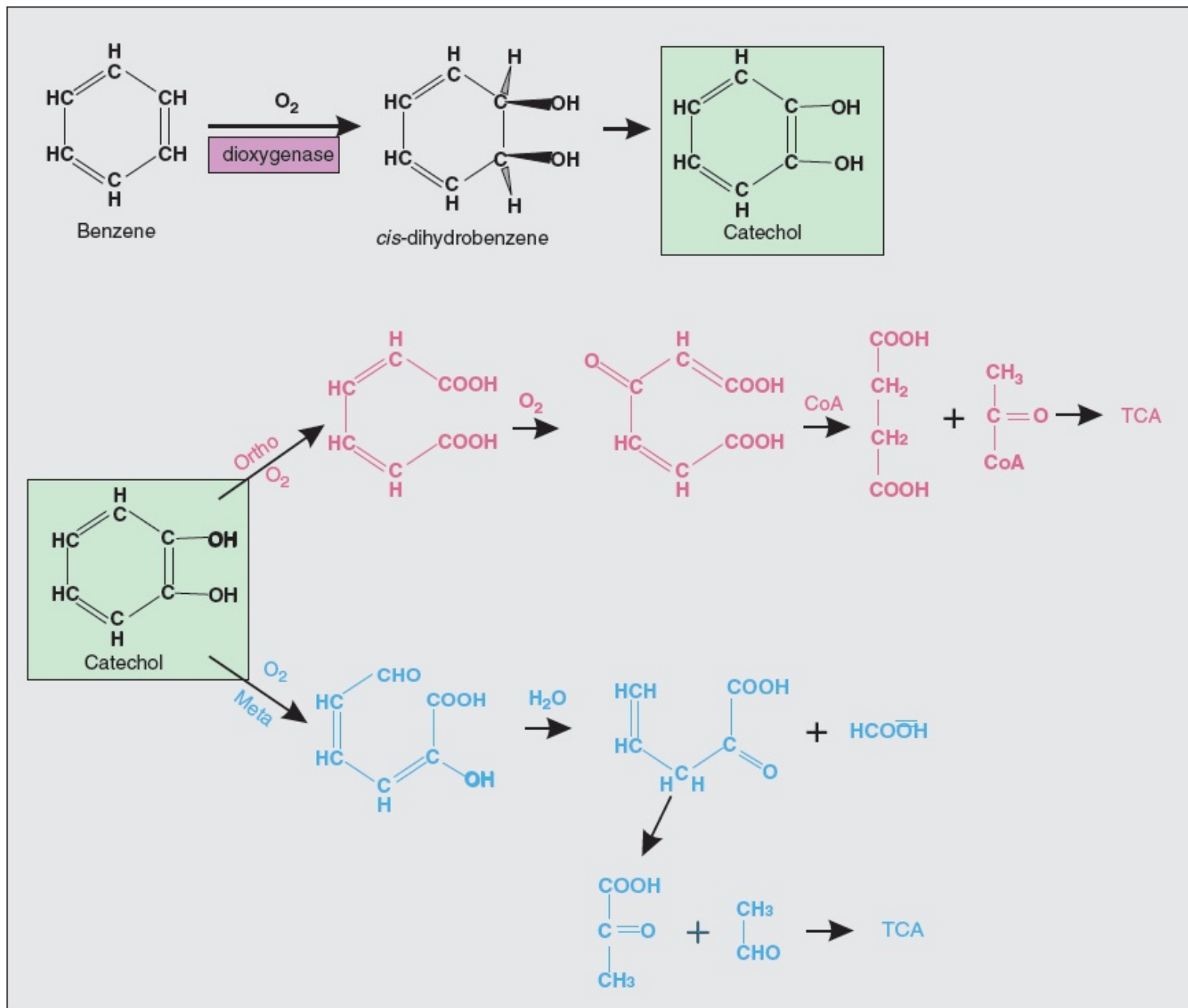


FIGURE 20.20 Incorporation of oxygen into the aromatic ring by the dioxygenase enzyme, followed by meta or ortho ring cleavage.

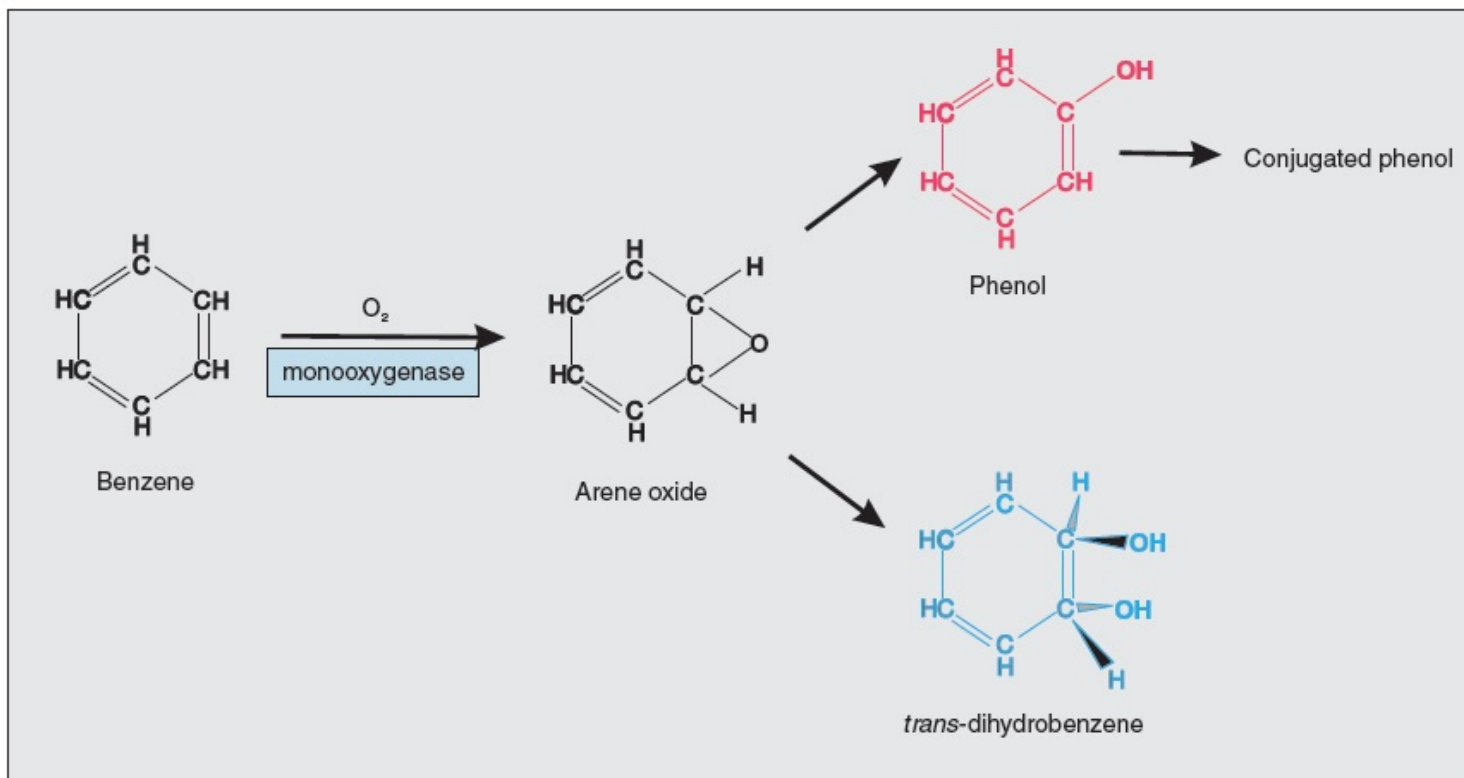


FIGURE 20.21 Fungal monooxygenase incorporation of oxygen into the aromatic ring.

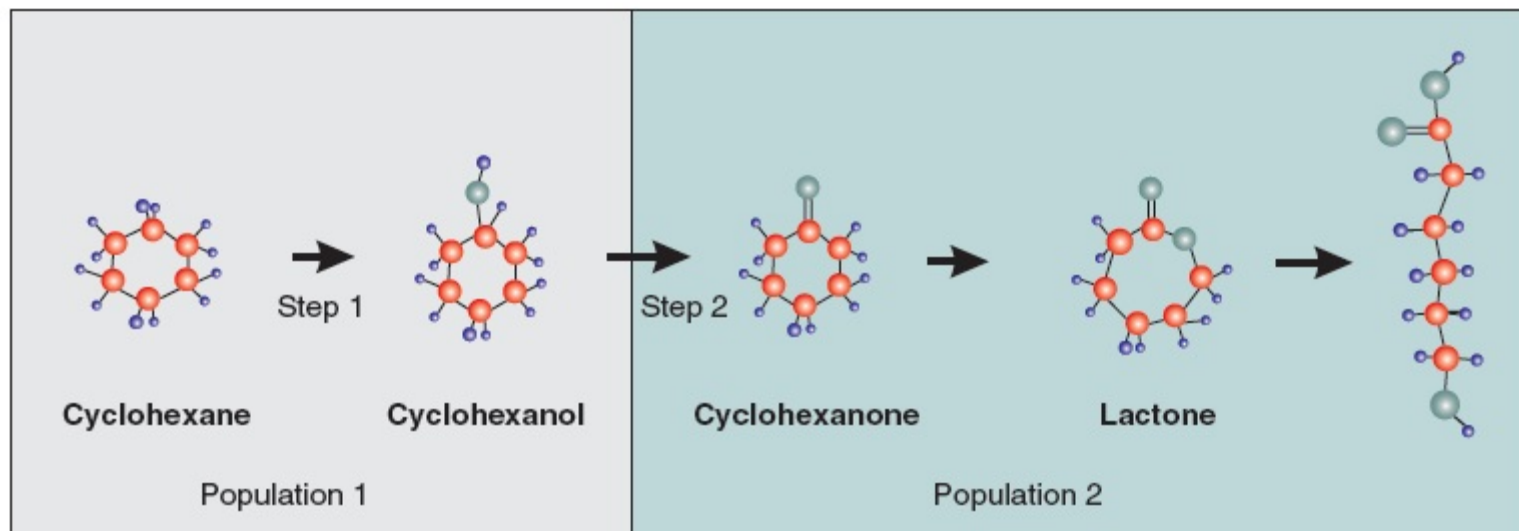
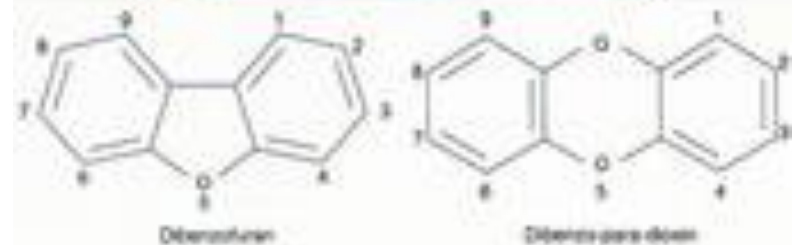
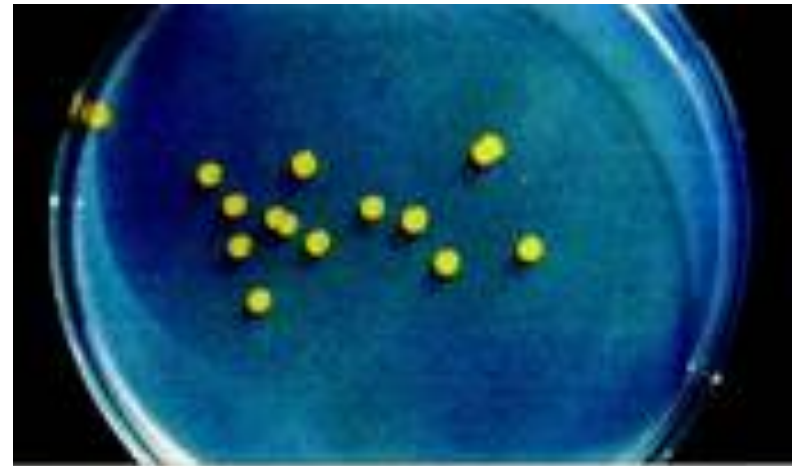


FIGURE 20.19 Degradation of cyclohexane.

Bactérias capazes de degradar BTEX- aeróbias

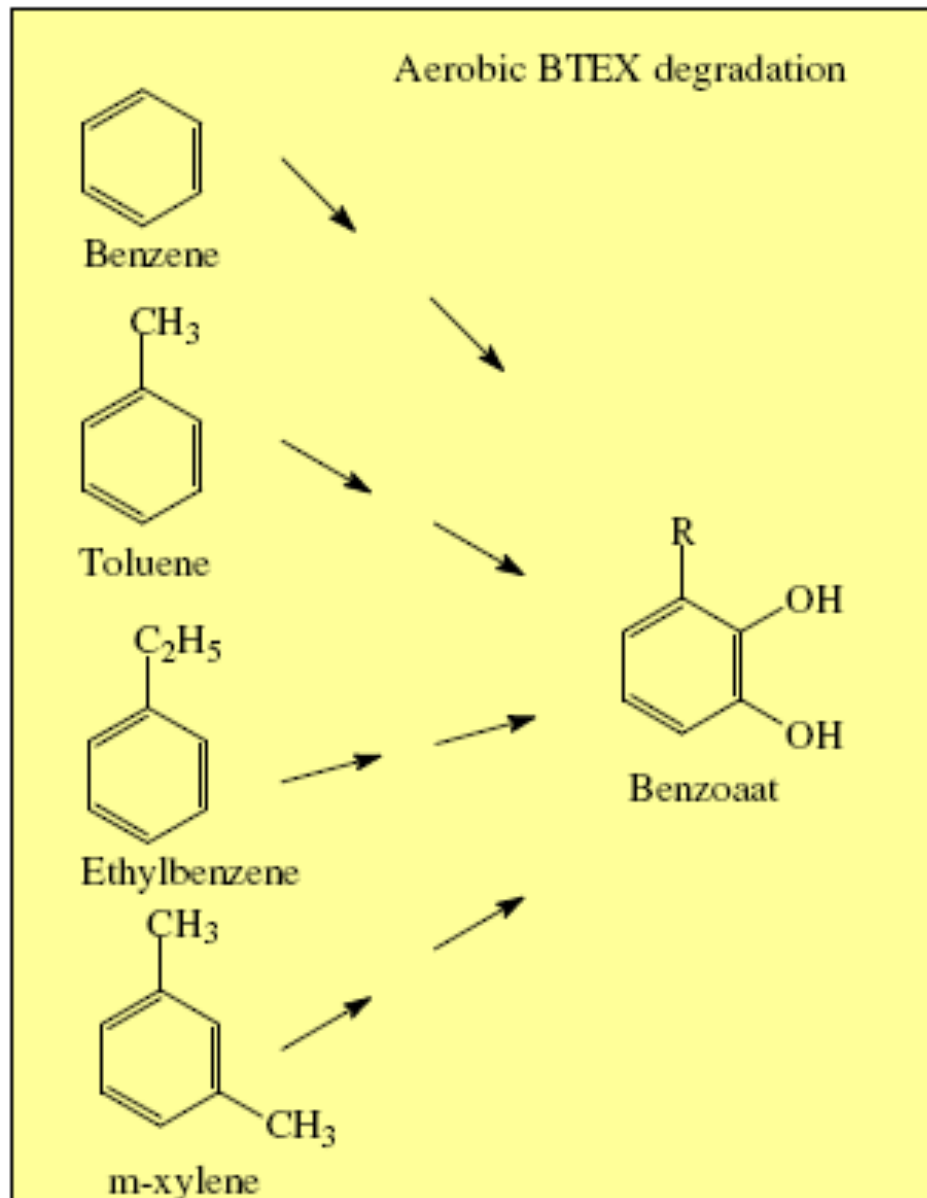
- *Pseudomonas putida* mt2, *Burkholderia*, *Comamonas*, *Alcaligenes*,
- *Beijerinckia*, *Sphingomonas* (xileno e dibenzofurano)



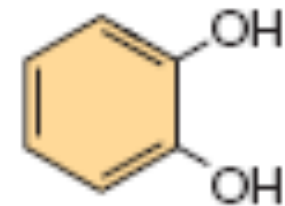
Sphingomonas sp.
Fonte: U.T.Hamburg

Fonte: Base de dados da Universidade de Minnesota sobre Biocatálise/
Biodegradação (UM-BBD)

Degradação Aeróbia de BTEX



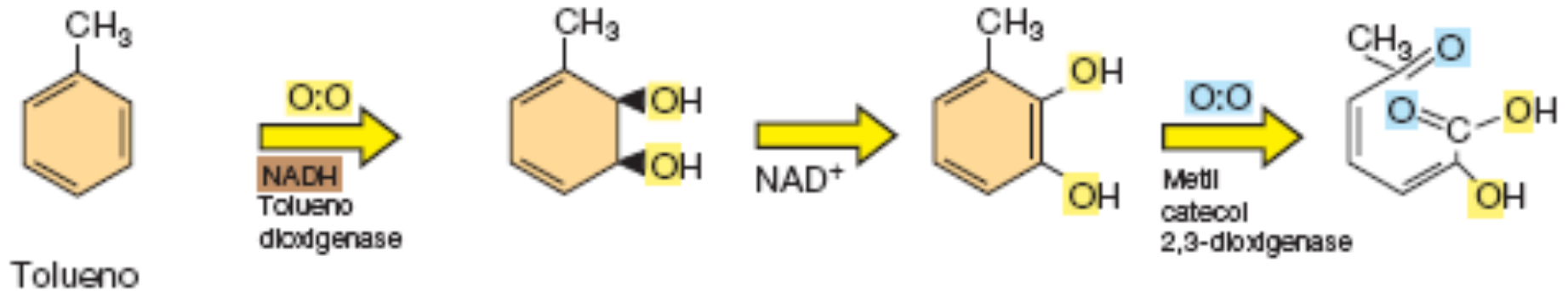
O catabolismo oxidativo começa a partir do catecol ou do protocatecoato



Catecol

O anel aromático depois é clivado por uma dioxigenase, à acetil CoA, succinato e piruvato.

Degradação Aeróbia de Tolueno



Dioxygenases seqüenciais

Bactérias degradadoras de Tolueno:

Degradação anaeróbica do BTEX

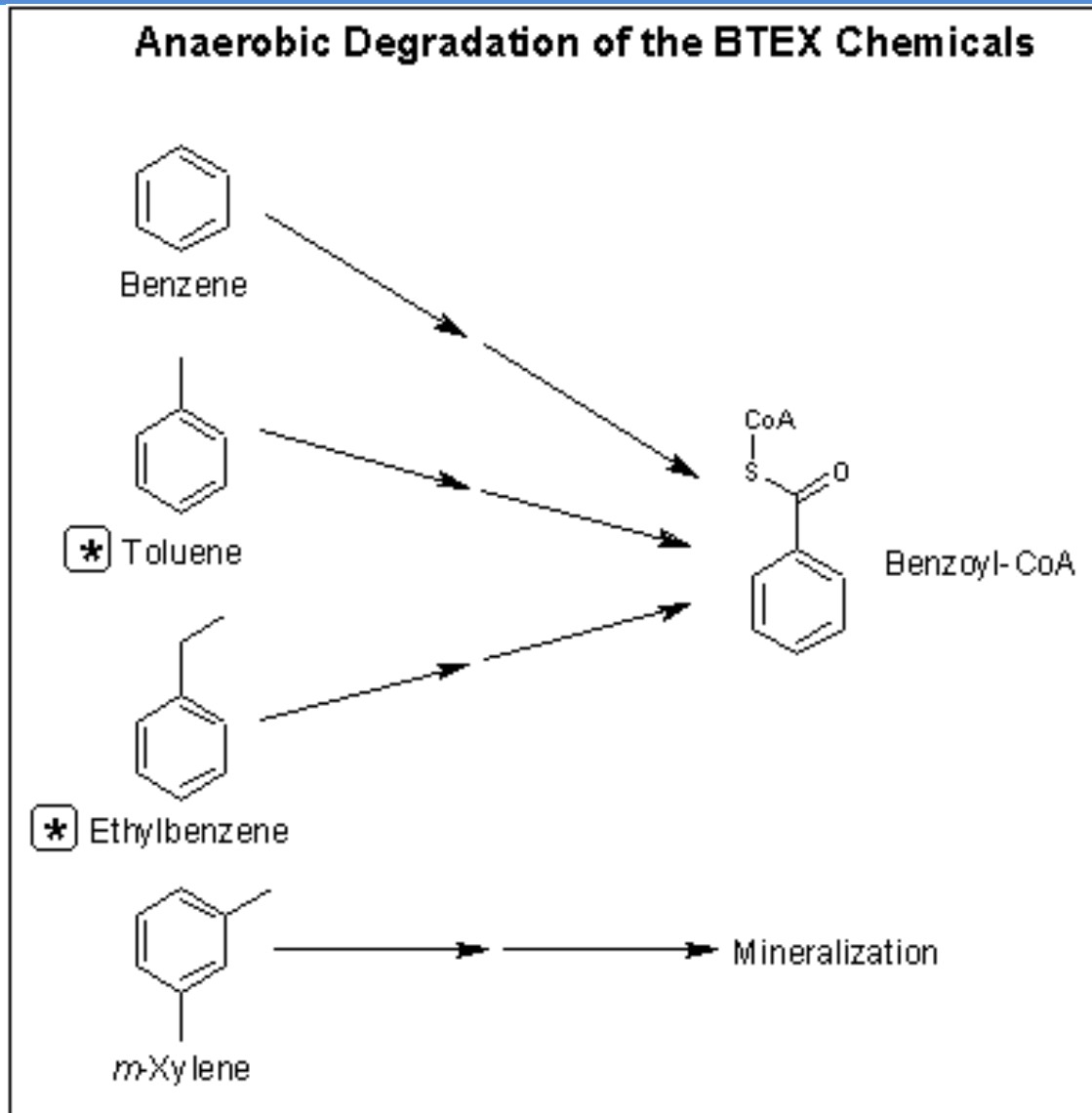
- Mais lenta comparada à condições aeróbias
- T>E>X>B
- Degradação do benzeno é lenta, mas é possível (com redução de NO_3);
- Pode ocorrer a mineralização completa até CO_2 e H_2O
- *Thauera aromatica* (desnitrificante)
- *Dechloromonas* spp. JJ e RCB mineralizam completamente benzeno(Chakraborty & Coates, 2005).
- Poucos metabolizam o xileno. São desnitrificantes capazes de usar *m*-xileno como substrato para o crescimento (Harwood et al., 1997). *Dechloromonas* RCB degrada anaerobiamente os 3 isômeros de xileno (Chakraborty et al., 2005).



Azoarcus Tolulyticus
(Chee-Sanford, 1996)

Degrada Tolueno em
Presença de NO_3

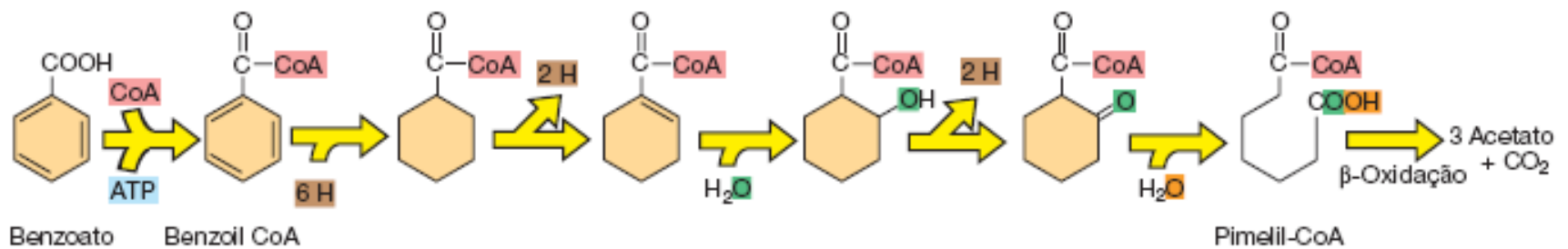
Degradação Anaeróbia de BTEX



reduzido e
Transformado em 3
acetato + CO₂

Condição anaeróbia encontrada em sedimentos, águas subterrâneas e solo

Degradação anóxica do benzoato pela clivagem redutiva do anel



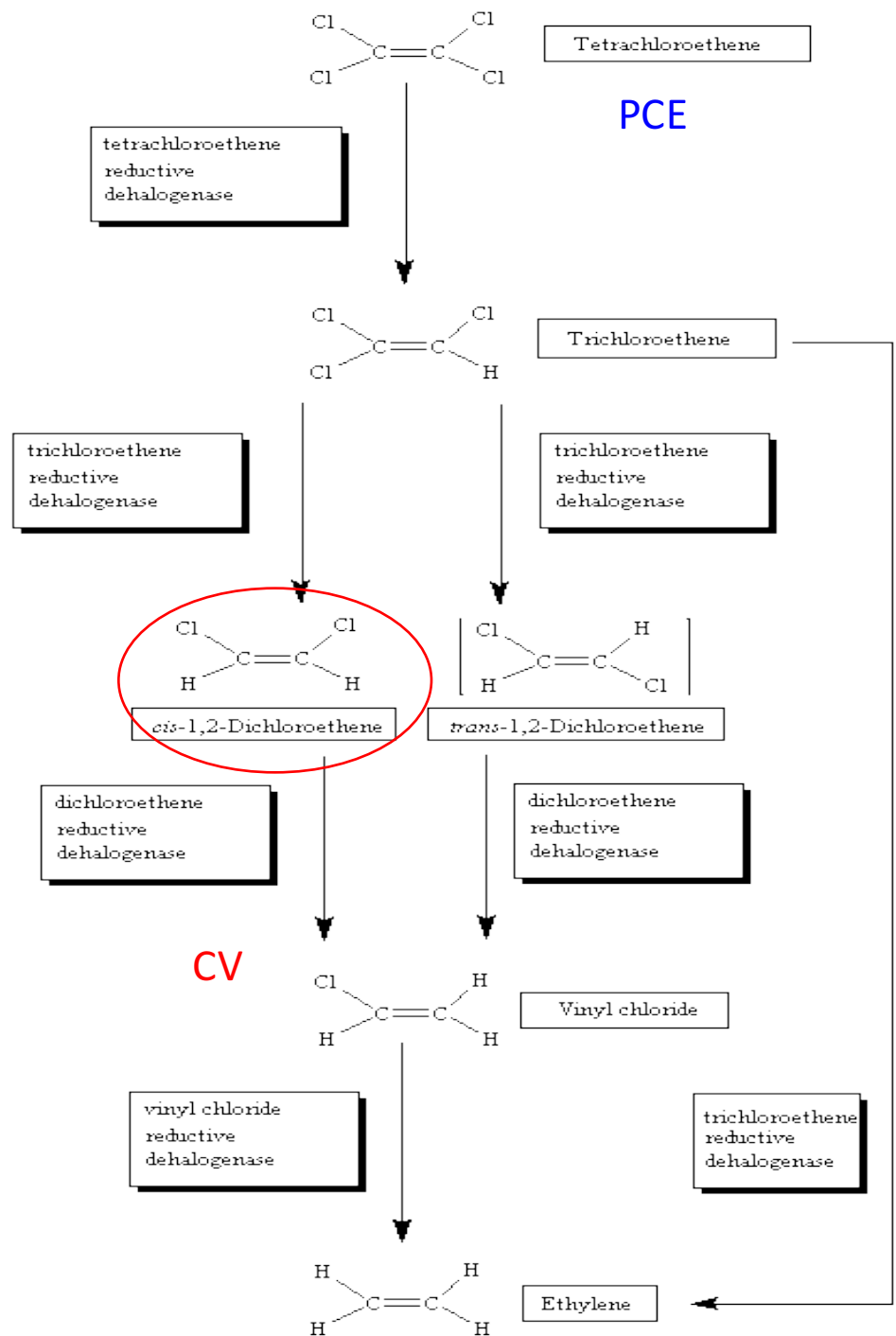
Todos os intermediários da via são ligados à acetil Coa;
Posteriormente o acetato produzido é catabolizado no ciclo
De Krebs.

Rota de degradação Anaeróbia do PCE (percloroetileno)

Solventes para limpar maquinas e partes eletronicas.

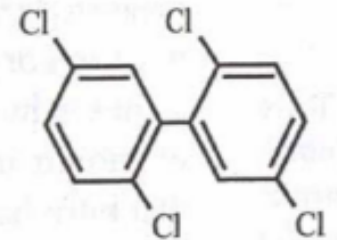
Dehalobacter, *Desulfomonile*, *Dehalospirillum* até dicloro-etileno

Dehalococcoides ethenogenes remove todos os Cl deixando o Gás eteno como produto final



Degradação anaeróbica de compostos aromáticos clorados

- Via desaloganação (ou descloração) redutiva.
PCB, DDT, 2,4-D.
- Ex: *Desulfomonile tiedje*, 3-clorobenzoato (aceptor de e), e H₂, formiato, piruvato, lactato (doadores)

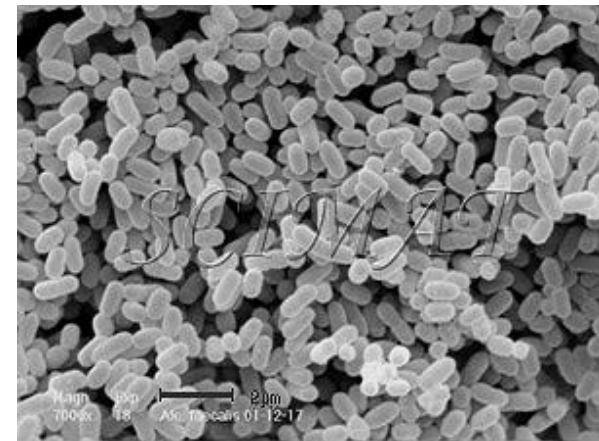


2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl

- $C_7H_4O_2Cl^- + 2H \rightarrow C_7H_5O_2^- + HCl$
- A desaloganação redutiva pode resultar na metanogênese (benzoato fermentado à acetato e H₂, substratos das metanogênicas)

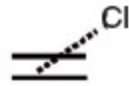
Bactérias capazes de degradar pesticidas

- **2,4,D:** *Achromobacter*,
Arthrobacter, *Corynebacterium*,
Flavobacterium, *Pseudomonas*,
Alcaligenes, *Halomonas*,
Azotobacter
- **2,4,T:** *Burkholderia*.
- **DDT:** *Proteus*, *Pseudomonas*,
Synechococcus



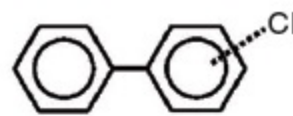
Alcaligenes sp.

Fonte: www.scu.edu.tw



chlorinated aliphatics

Cl biodegradability



polychlorinated biphenyls

Cl biodegradability



chlorobenzenes

Cl biodegradability

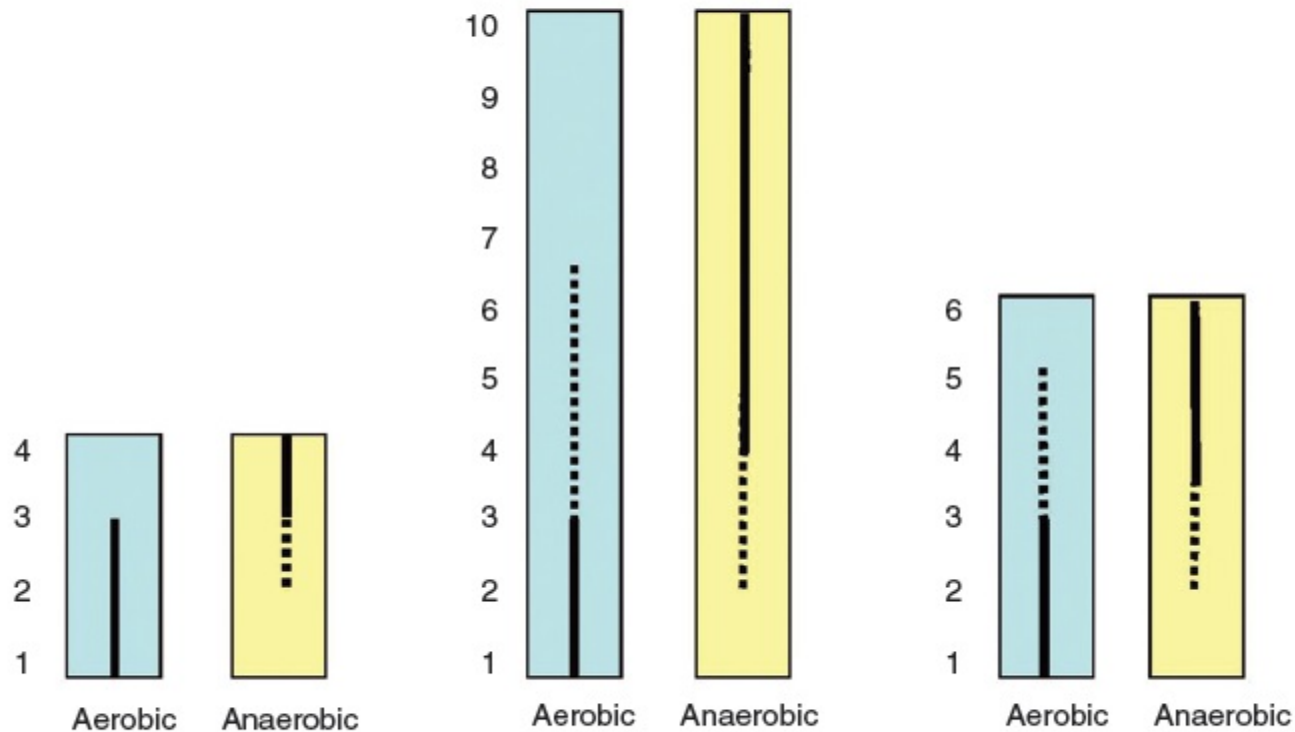


FIGURE 20.18 The effect of increasing numbers of chlorines on biodegradability under aerobic and anaerobic conditions. Solid lines indicate ready biodegradation, dashed lines indicate biodegradation has been observed on some occasions, no line indicates no biodegradation. (Courtesy, James A. Field)

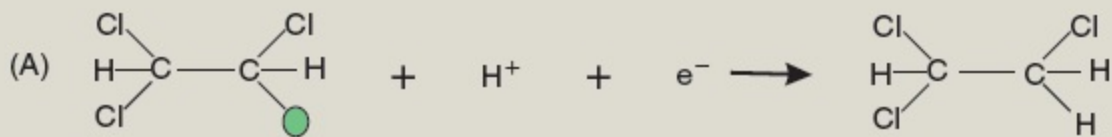
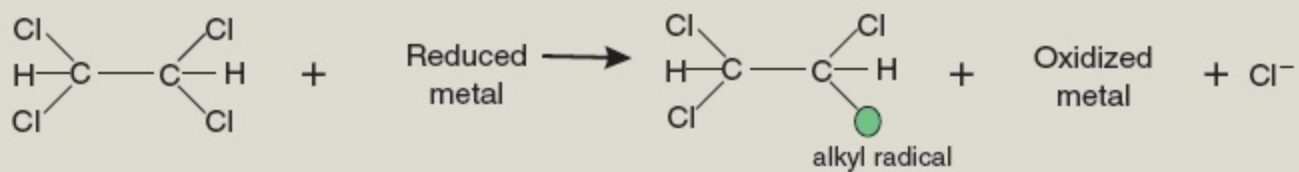


FIGURE 20.17 Reductive dehalogenation of tetrachloroethane to trichloroethane (A) or dichloroethene (B).

Produção Natural de solventes Clorados

● Produção natural de organohalogenados

➔ Mas de 3800 compostos organohalogenados naturais identificados

● Oxidação de ácidos húmicos do solo

➔ Tricloroacetico, cloreto de vinila, clorometano e clorofórmio

● Fungos, plantas e algas do mar

➔ **Algas do Mar:** fonte natural de tetracloroetano e tricloroetano

➔ **Plantas e Fungos:** fonte natural de clorometano

● Escala de Produção Natural

➔ **Clorometano:** 4,000,000 t/a

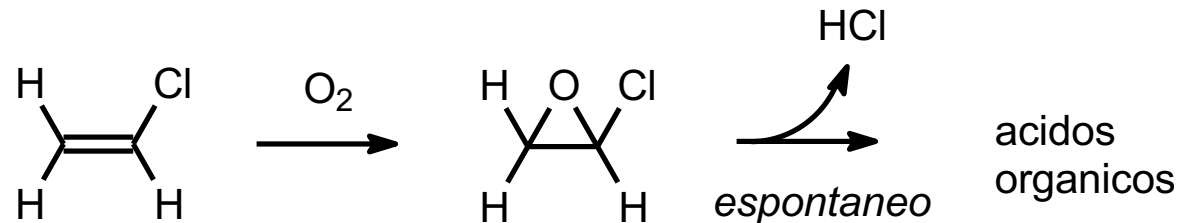
➔ **Cloroformo:** 700,000 t/a

As 5 Fisiologias da Biodegradação de solventes Clorados

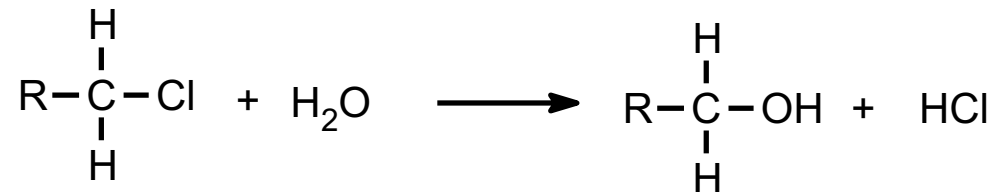
- **Aeróbio: Substrato de Crescimento**
 - ➔ solvente Clorado é Substrato Primário (fonte de carbono e energia)
- **Aeróbio: Co-oxidação**
 - ➔ solvente Clorado é Oxidado Fortuitamente durante a Oxidação Biológica de outro Substrato Primário
- **Anaeróbio: Substrato de Crescimento**
 - ➔ solvente Clorado é Substrato Primário (fonte de carbono e energia) durante respiração anóxica e fermentação
- **Anaeróbio: Cometabolismo**
 - ➔ solvente Clorado é Reduzido Fortuitamente por Enzimas Redutivas ou Cofatores Reduzidos durante o uso de outro Substrato
- **Anaeróbio: Halorespiração**
 - ➔ solvente Clorado serve como Aceptor de Elétron que apoia o Crescimento sobre outro Doador de Eletron (causa desalogenação redutiva)

Mecanismos Gerais de Desalogenação

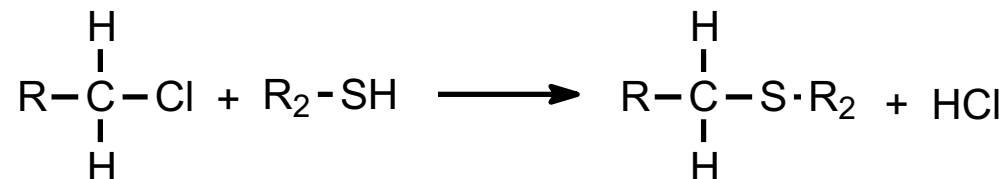
- **Oxigenolítico:** incorporação de uma molécula de oxigênio



- **Hidrolítico:** substituição nucleofílica com OH é originado da água

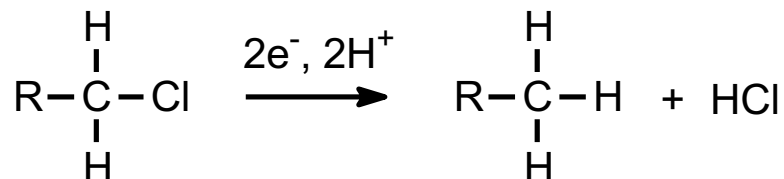


- **Tiolítico:** substituição nucleofílica com grupo sulfidrilica

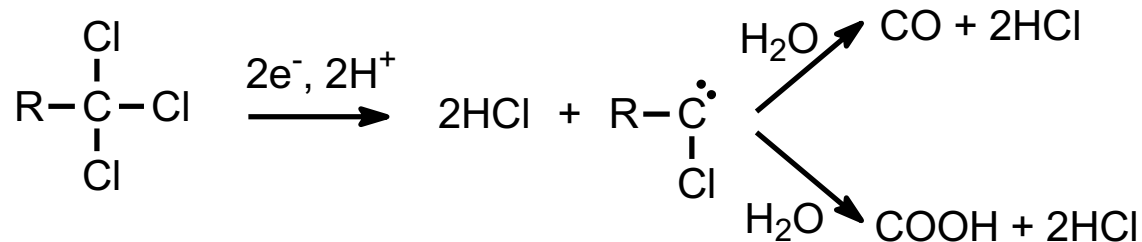


Mecanismos Gerais da Desalogenação

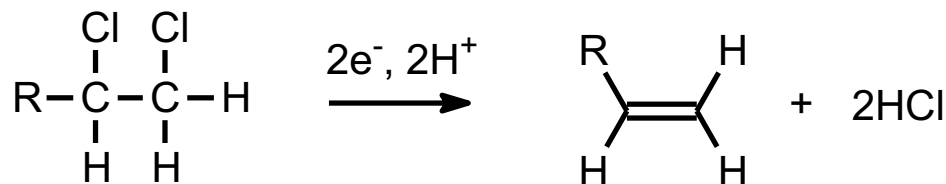
- **Hidrogenólise Redutiva:** halogênio se substituí com H



- **Hidrólise Redutiva:** reação de radical reduzido com água

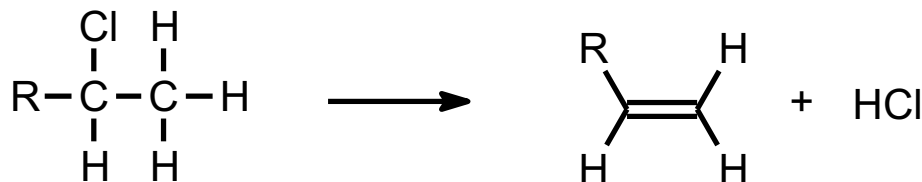


- **Eliminação Redutiva Dicloreto:** formação de ligação dupla devido a eliminação de dois cloretos vicinais

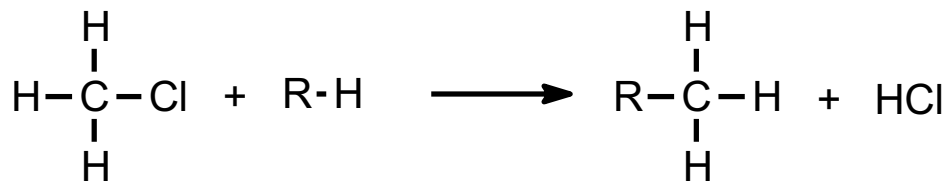


Mecanismos Gerais da Desalogenação

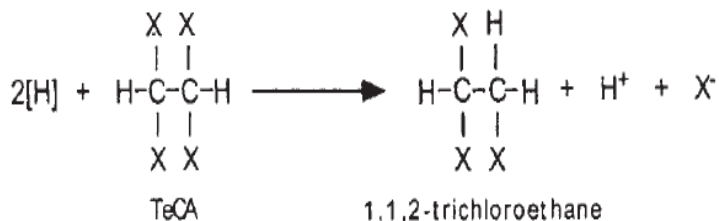
- **Eliminação Desidrocloreto:** formação de ligação dupla devido a eliminação de HCl de grupos vicinais



- **Transferência de Grupo Metila:**



Hydrogenolysis



**Deshalogenação
redutiva e
Reações Hidrolíticas**

Dihaloelimination

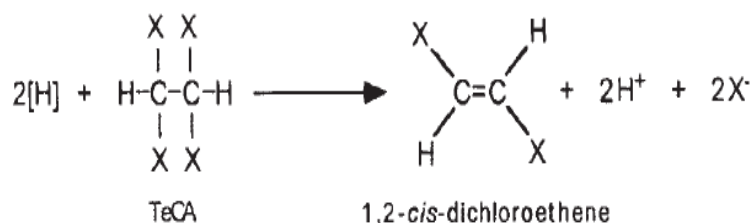


Figure 8.2 Two common types of reductive dehalogenation reactions (shown for 1,1,2,2-tetrachloroethane, TeCA). X = halogen.

Acid derivatives



Halogenated organics



Figure 8.3 Model reactions for hydrolysis of acid derivatives and halogenated organics, where R and R' = C or H; Y = O, NR, or S; Z = C, P, or S; and X = halogen.

Tabela 21.7 Características dos principais gêneros de bactérias capazes de realizar a descloração reductiva

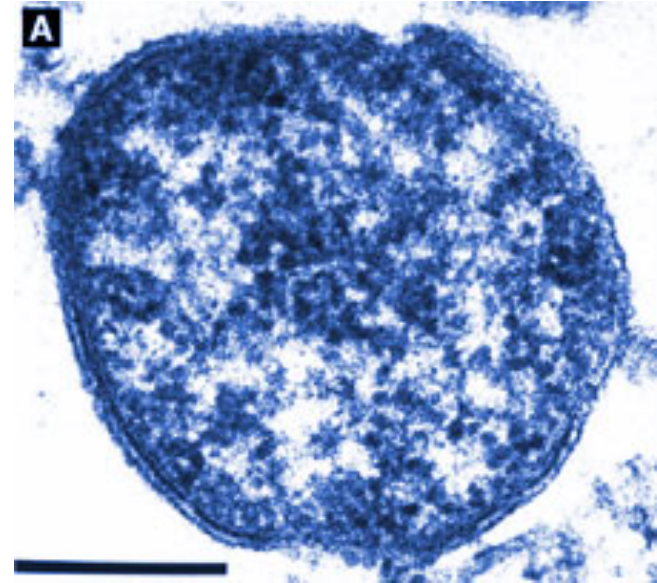
Propriedade	Gênero			
	<i>Dehalobacter</i>	<i>Desulfomonile</i>	<i>Desulfitobacterium</i>	<i>Dehalococcoides</i>
Doadores de elétrons	H ₂	H ₂ , formato, piruvato, lactato, benzoato	H ₂ , formato, piruvato, lactato	H ₂ , lactato
Aceptores de elétrons	Tricloroetileno, tetracloroetileno	Metaclorobenzoatos, tetracloroetileno, SO ₄ ²⁻ , SO ₃ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻	Orto-, meta-, ou para-clorofenóis, NO ₃ ⁻ , fumarato, SO ₃ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	Tricloroetileno, tetracloroetileno
Produto da redução de tetracloroetileno	Dicloroetileno	Dicloroetileno	Tricloroetileno	Eteno
Outras propriedades ^a	Contém citocromo <i>b</i>	Contém citocromo <i>c</i> ₃ ; requer fonte orgânica de carbono; pode crescer pela fermentação de piruvato	Também pode crescer pela fermentação	Desprovido de peptidoglicano
Filogenia ^b	Relacionado às <i>Bacteria</i> Gram-positivas	Relacionado às <i>Deltaproteobacteria</i>	Relacionado às <i>Bacteria</i> Gram-positivas	Relacionado às <i>Bacteria</i> verdes não sulfurosas (grupo <i>Chloroflexus</i>)

^aTodos os organismos são anaeróbios obrigatórios.

^bVer Capítulos 14-16.

Desalogenação redutiva do PCE

- Outros gêneros que fazem :
Dehalobacter restrictus (wild *et al.*, 1996),
- *Desulfitobacterium*, *Dehalospirilum multivorans* (Neumann *et al.*, 1996),
- *Dehalococcoides ethenogenes*,
- *Dehalobacterium*
- *Methanosarcina* (também envolvida na descloração de PCP)



Dehalococcoides ethenogenes

Fonte: Maymo-Gatell, X. *et al.* 1997

Biodegradabilidade de poluentes

Melhora da Biodegradabilidade

Hidrocarbonetos alifáticos

Biodegradabilidade diminui com aumento do comprimento da molécula e aumento do número de ramificações

Hidrocarbonetos aromáticos

Compostos com um ou dois anéis degradam rapidamente, degradação diminui muito para compostos com mais de 4 anéis

Álcoois, ésteres

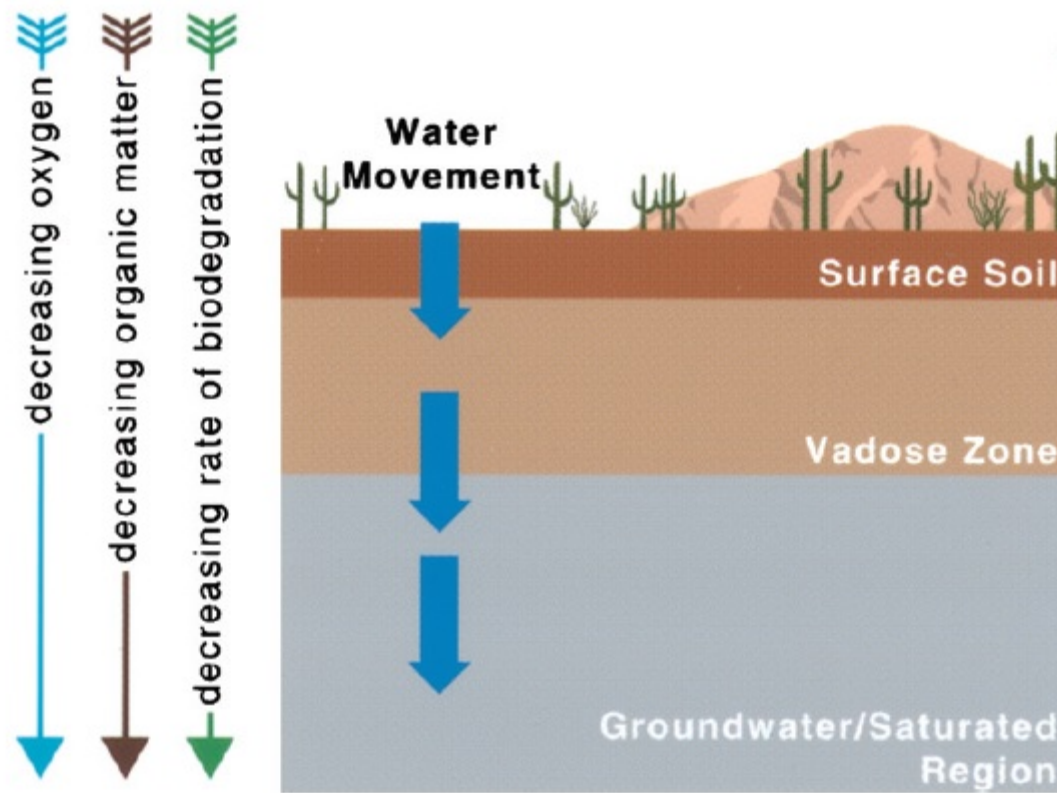
Nitrobenzenos e nitroéters

Organoclorados

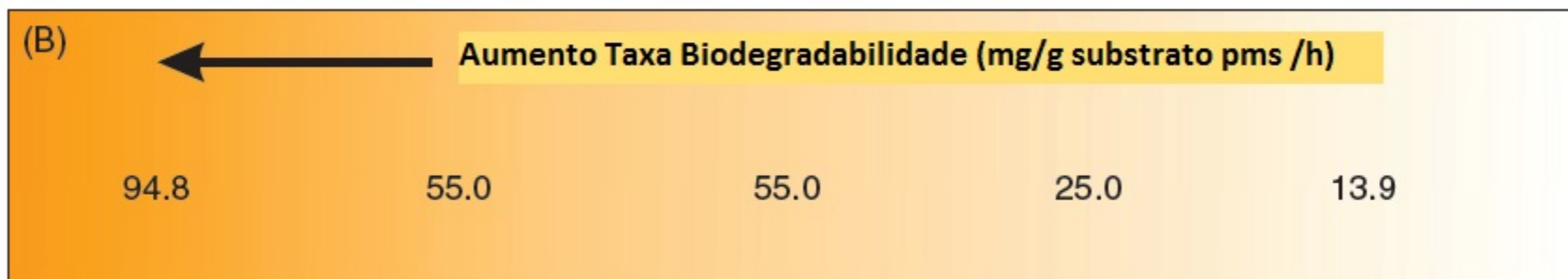
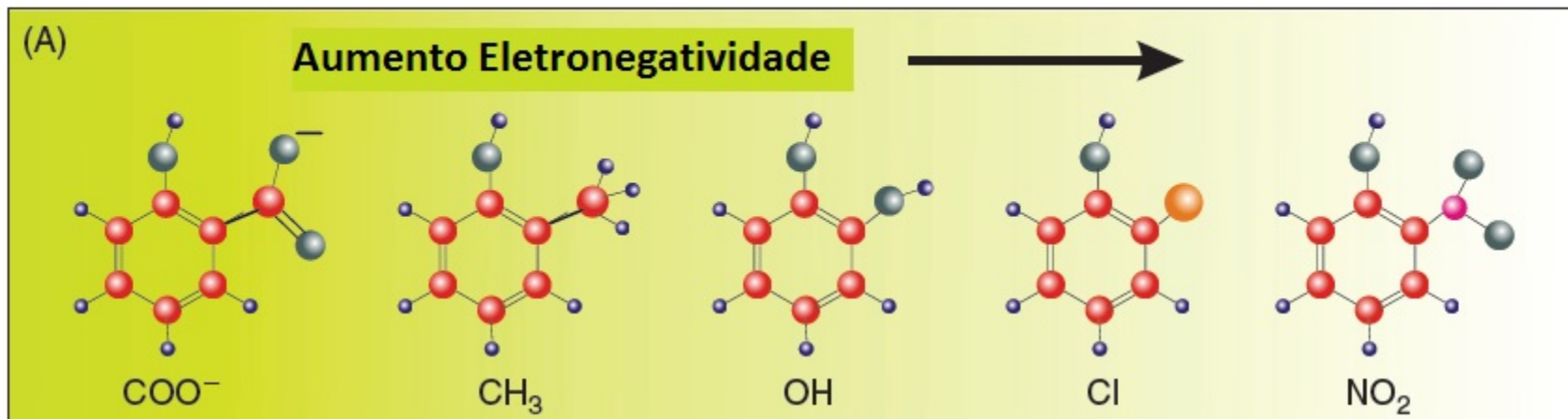
Compostos com até três átomos de cloro degradam rapidamente, compostos altamente clorados geralmente recalcitrantes em ambientes aeróbios.

Pesticidas

Degradação muito variável, depende muito da estrutura da molécula.



Esquema de perfil do solo com as 3 grandes divisões onde as contaminações podem ocorrer em ecossistemas terrestres: zona superficial, zona vadosa e zona saturada, em relação aos níveis de água subterrânea. A disponibilidade do oxigênio e matéria orgânica varia consideravelmente influenciando a velocidade de biodegradação de compostos aí presentes.



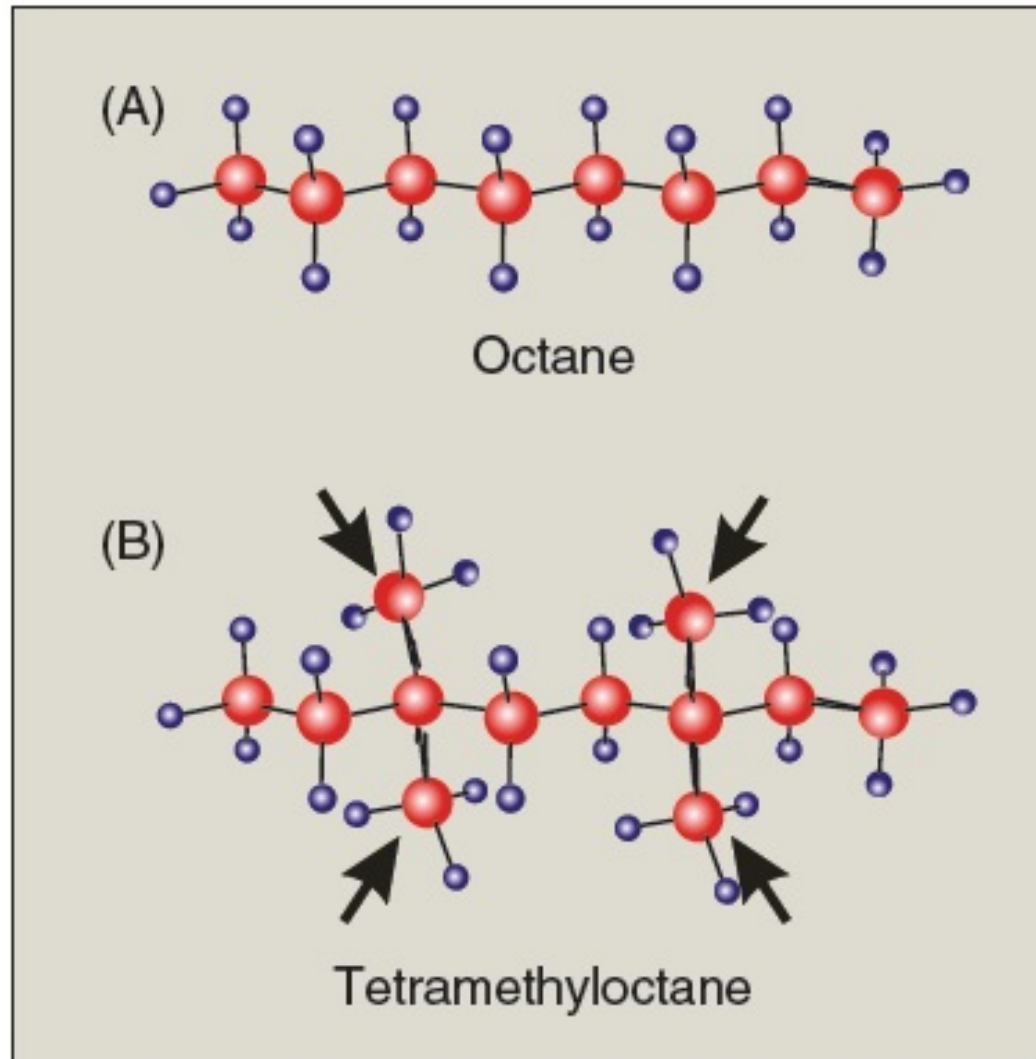


FIGURE 20.8 The structure of (A) octane, which is readily degradable, and (B) a tetramethyl-substituted octane that is not degraded because the methyl groups block the enzyme-substrate catalysis site.

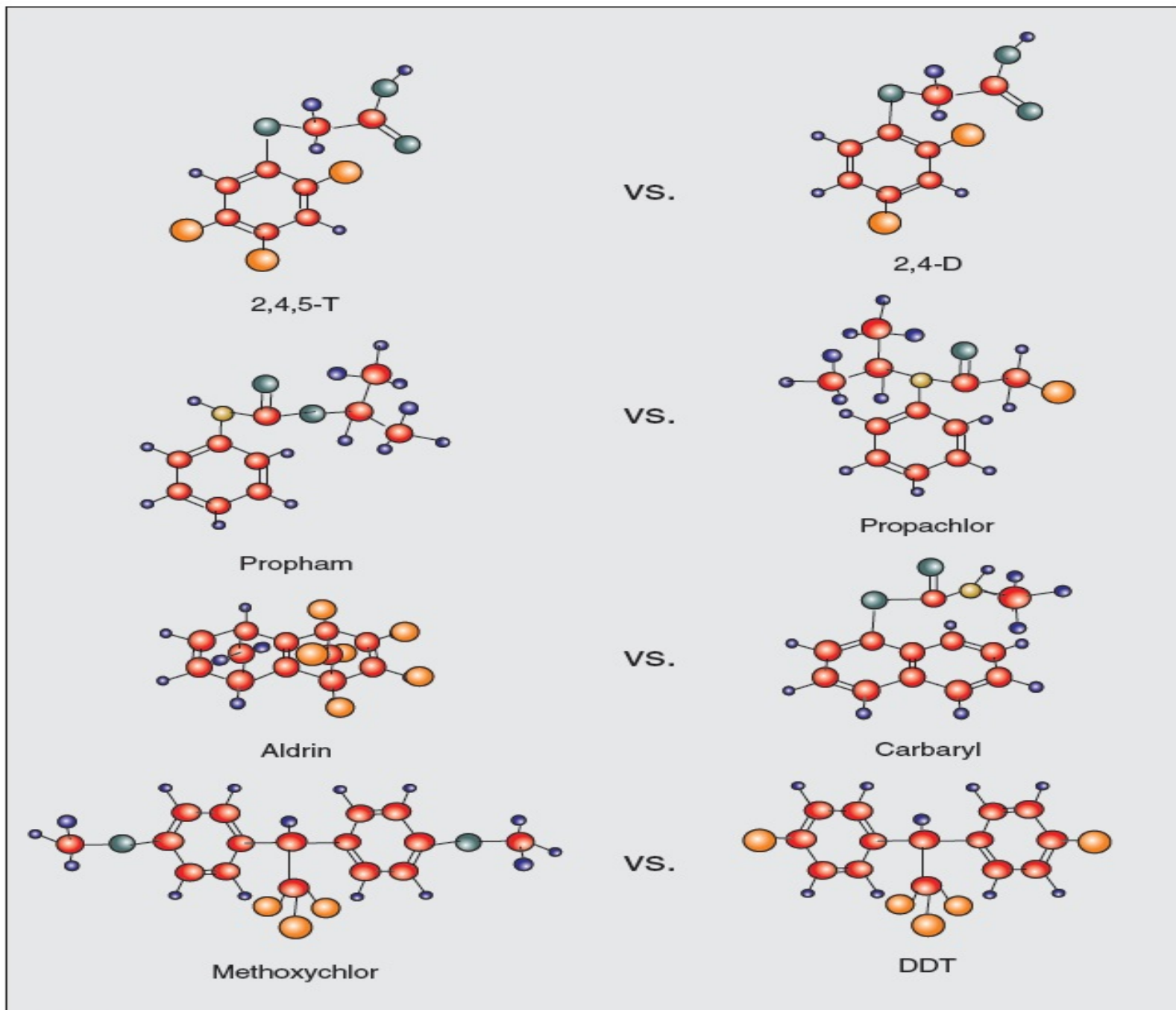


FIGURE 20.26 Comparison of four sets of pesticides. Examine the structure and functional groups of each set of pesticides and then predict which of each set is more easily biodegraded.

Requisitos para Biodegradação

1. Presença de microrganismo específico na região contaminada com potencial de biodegradação. Exemplo:

Species	Degradation Rate	Occurrence of Species	Compound Supporting Growth					
			B	T	E	<i>m</i> -X	<i>p</i> -X	<i>o</i> -X
1	Fast	Rare	+	+	-	-	-	-
2	Fast	Widespread	-	+	+	-	-	-
3	Slow	Widespread	-	+	-	+	-	-
4	Slow	Rare	-	-	+	+	+	-

Neste exemplo hipotético, B seria degradado rapidamente em alguns locais, T sempre seria degradado rapidamente, E seria degradado rapidamente/ lentamente ou não em todos, mX sempre seria degradado lentamente, pX seria degradado lentamente, mas apenas em alguns ambientes e o-X não seria degradado. Considere o que aconteceria em um local nas proximidades, se apenas as espécies 3 e 4 estivessem presentes.

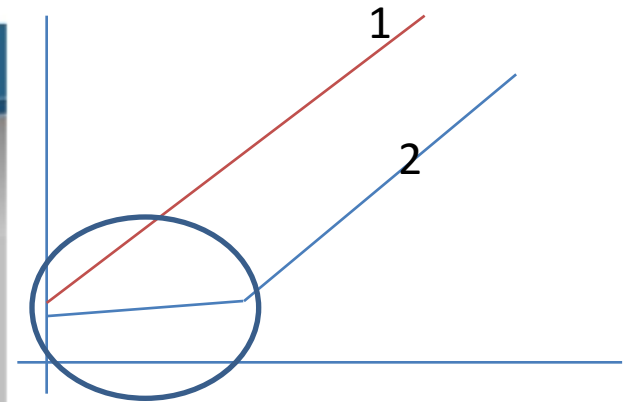
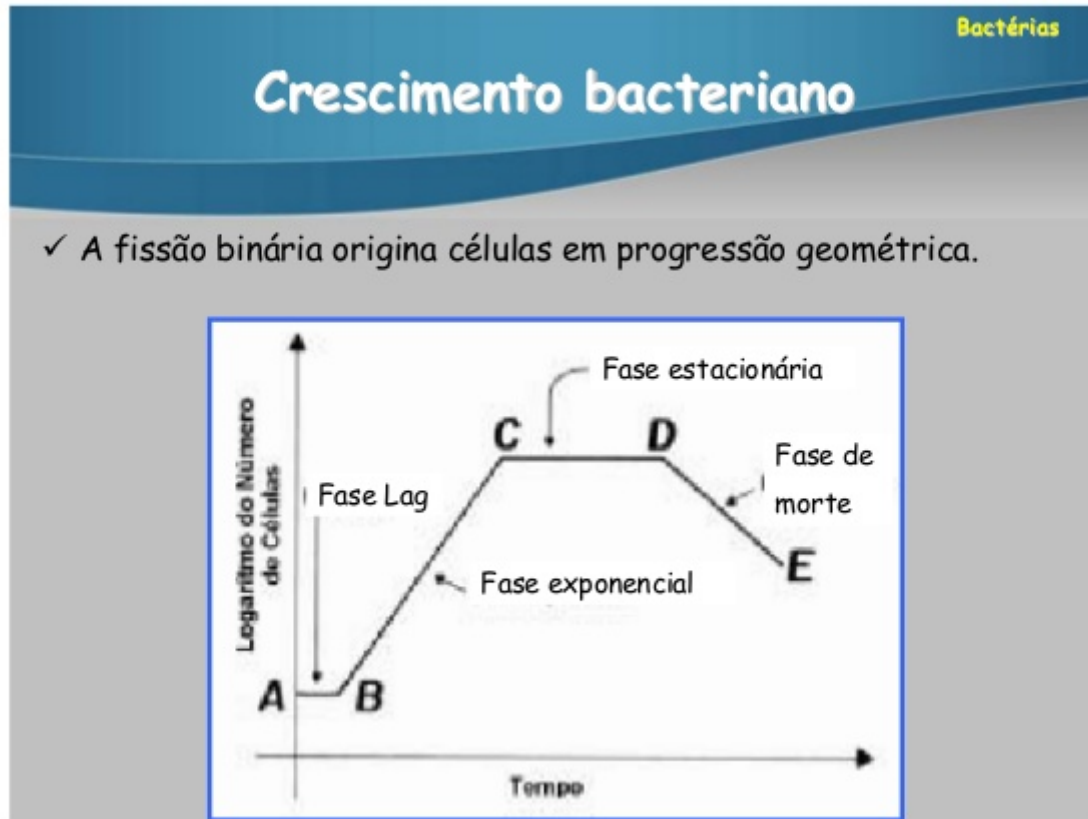
Razões para Recalcitrância Molecular

1. Organismos com a capacidade de biodegradação necessárias estão ausentes, ou presente, em concentrações muito baixas
2. A especificidade da enzima (s) é demasiado restritiva. existem apenas algumas vias metabólicas centrais
3. A falta de substrato primário para dirigir co-metabolismo.
4. A falta de um nutriente ou receptor de elétrons essencial.
5. 5. condições ambientais desfavoráveis
6. 6. concentrações tóxicas do composto alvo ou dos seus produtos de degradação.
7. 7. A inibição ou inactivação de enzimas
8. 8. Falha do poluente para entrar na célula.
9. A concentração do composto-alvo é demasiado baixa para sustentar uma população microbiana viável.
10. 10. A falta de biodisponibilidade

3.2.1. Implications of Recalcitrance

Recalcitrance is a term used for organic compounds that are relatively resistant to biodegradation. This resistance is generally due to physiological limitations of the bacteria present and/or environmental properties. There are several levels of recal-

Aclimatação



1. Forma acimatizada
2. Forma em aclimatização

Períodos de Aclimação reportados na literatura para alguns poluentes orgânicos

COMPOSTO	AMBIENTE	Tempo (h d s) de aclimação antes da biodegradação
Several aromatic compounds	Soil	10–30 h
Dodecyltrimethyl-ammonium chloride	Fresh water	24 h
4-Nitrophenol	Water sediment	40–80 h
Amitrole	Soil	7 days
Chlorinated benzenes	Biofilm	10 days to 5 months
Dinitro- <i>ortho</i> -cresol (DNOC)	Soil	16 days
Pentachlorophenol (PCP)	Stream water	21–35 days
Mecoprop	Enrichments	30–37 days
Nitriloacetic acid (NTA)	Estuary	50 days
Halobenzoates	Anaerobic sediments	3 weeks to 6 months
2,4,5-Triphenoxyacetic acid (2,4,5-T)	Soil	4–10 weeks

Adapted from Alexander (1999).

Table 3.4. Common Plasmids that Code for Catabolic Enzymes

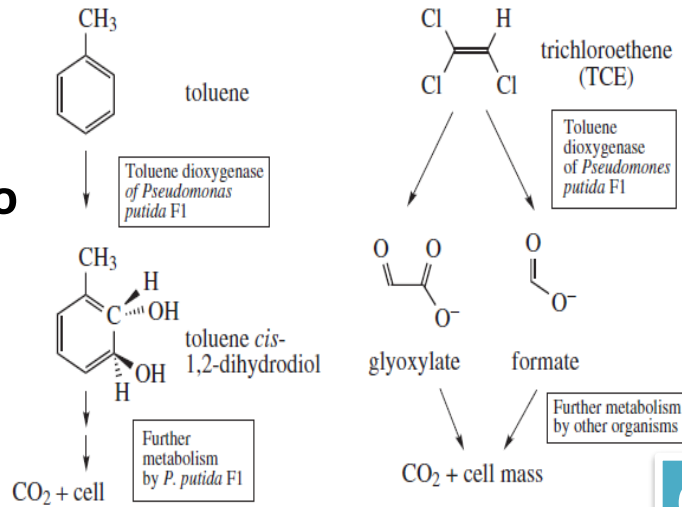
Plasmid	Compounds	Transmissibility
CAM	Camphor	+
OCT	<i>n</i> -Octane	—
SAL	Salicylate	+
NAH	Naphthalene	+
TOL	Toluene/ <i>m</i> - <i>p</i> -xylene	+
XYL-K	Xylene/toluene	+
2-HP	2-Hydroxypyridine	?
NIC	Nicotine/nicotinate	+
pJP1	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid	+
pAC8	Xylene/toluene	+
pAC21	<i>p</i> -Chlorobiphenyl	+
pAC25	3-Chlorobenzoate	+

Source: Chakrabarty (1982).

Classificação das Reações de Biodegradação

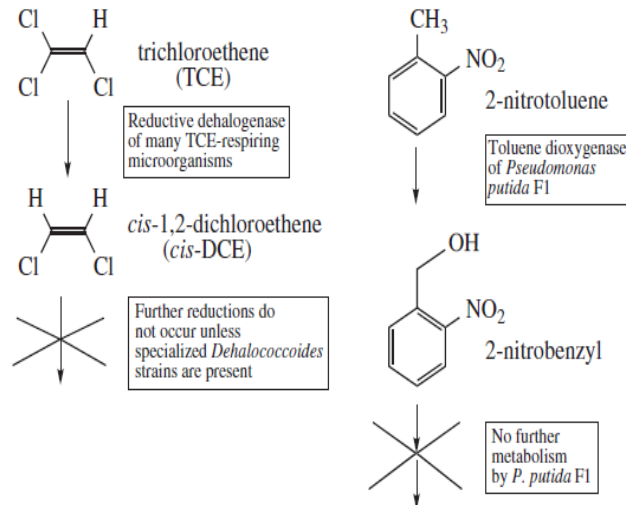
biodegradação — Metabolismo co-metabolismo

Mineralização



Compara Biodegradação Metabolismo x CoMetabolismo

Biotransfor- mação



^aThe potential for successful bioremediation is highest for metabolic reactions that lead to mineralization and lowest for co-metabolic substrates that undergo minor biotransformations.

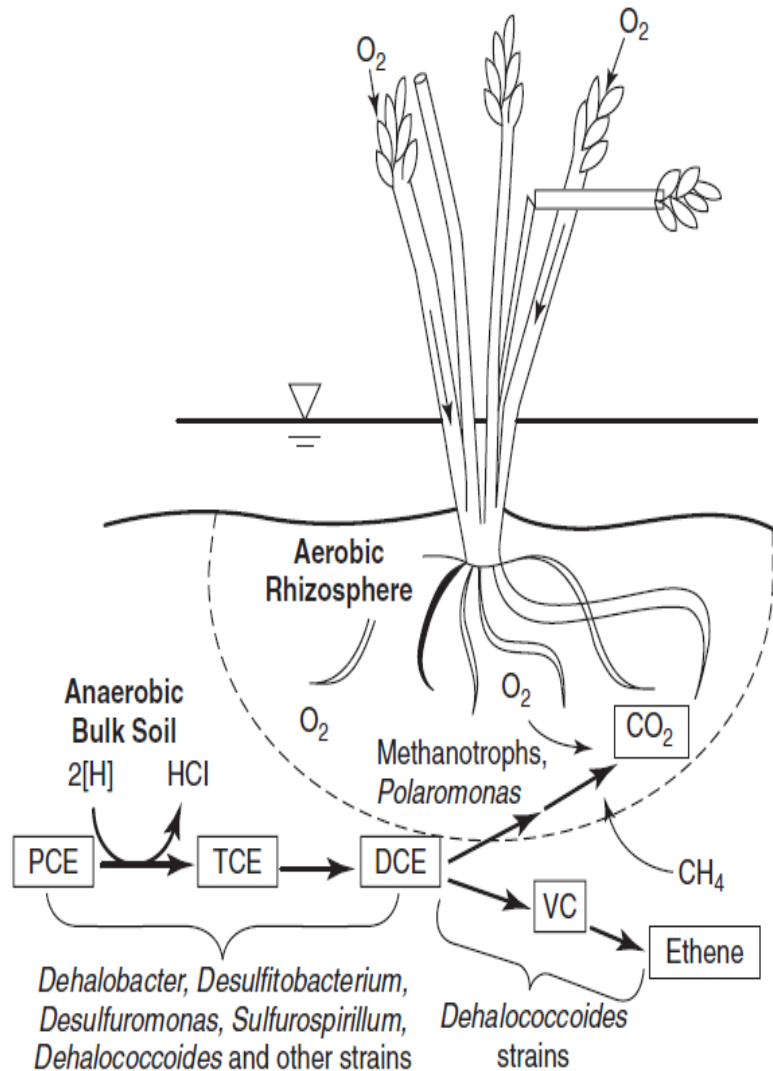
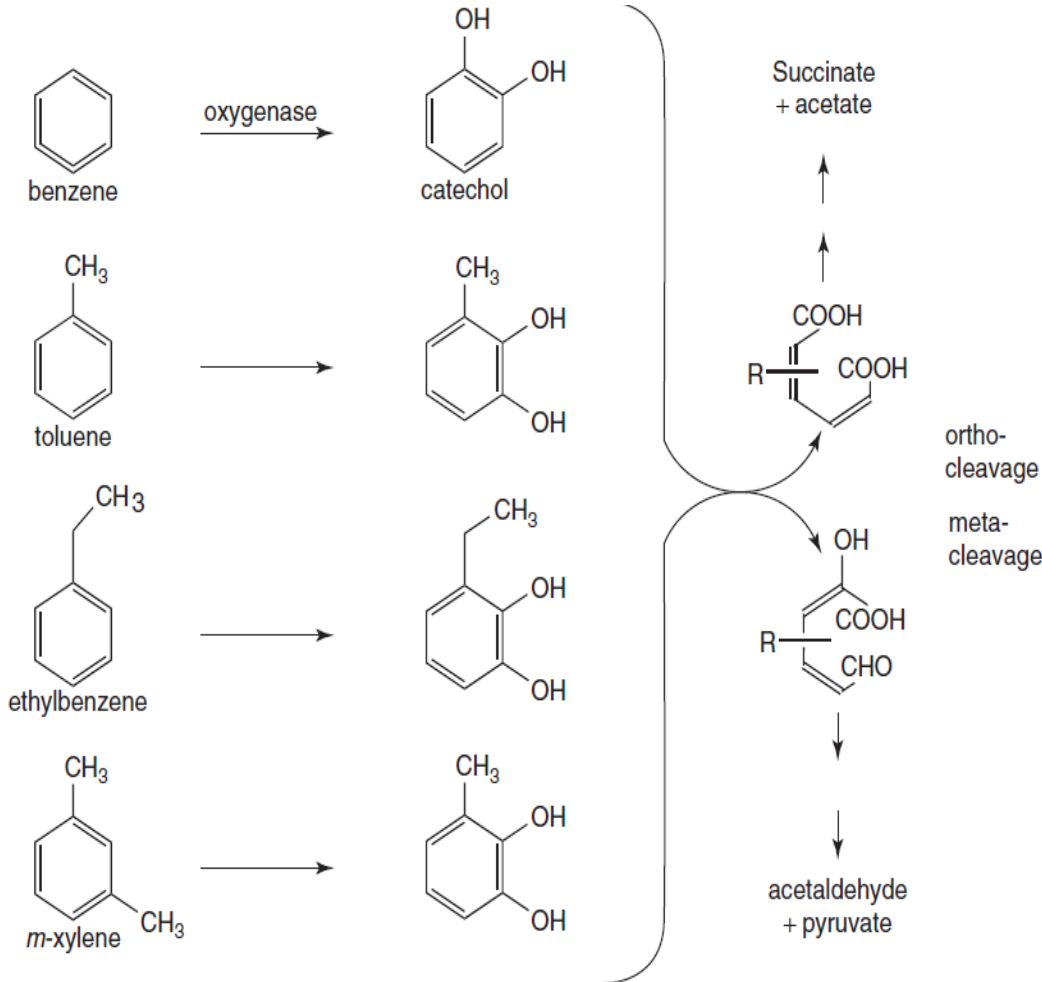


Figure 8.1 Potential pathways leading to complete detoxification of PCE in wetland environments, which typically contain anaerobic bulk soils and aerated zones within the rhizosphere. Certain strains within the genera listed can transform individual chlorinated ethenes metabolically via dehalorespiration or, in the case of *Polaromonas*, via oxidation. Some methanotrophs can oxidize lesser chlorinated ethenes co-metabolically.

BTEX: Bacteria que consegue realizar a biodegradação aerobia de compostos BTEX são, geralmente, autotocnes em areas contaminadas. A degradação aerobia de compostos BTEX é iniciada por variedade de monooxigenases e/ou dioxigenases que pode reagir com estes compostos.



Biodegradação de Compostos Mono Aromaticos (BTEX)

Biodegração de Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xilenos (BTEX) via reações catalisadas inicialmente por oxigenases que promovem a formação de CATECOL seguindo-se a clivagem do anel e convertidos a intermediarios metabolicos. → multiplas reações

Por que substâncias com elevado potencial de biodegradação não são degradadas sob determinadas condições?

- ⇒ **A conc. da substância pode ser alta o suficiente para inibir o crescimento e o metabolismo microbiano**
- ⇒ **Um ou mais nutrientes necessários ao crescimento microbiano estão presentes em níveis muito baixos**
- ⇒ **A própria substância pode estar presente a uma conc. muito baixa para sustentar o crescimento microbiano**
- ⇒ **A SUBSTÂNCIA PODE NÃO ESTAR DISPONÍVEL PARA OS M-ORGS. (BIODISPONIBILIDADE)**

A não disponibilidade de uma molécula resulta de:

- ⊖ **sorção aos sólidos**
- ⊖ **presença em fases líquidas não aquosas (NAPLs)**
- ⊖ **encapsulamento em matriz física do solo, sedimento ou aquífero**

Sorção à superfícies sólidas:

- ☞ **altera a disponibilidade de substâncias orgânicas**
- ☞ **muda os níveis de vários nutrientes orgânicos e inorgânicos**
- ☞ **modifica o pH e os níveis de O.D.**
- ☞ **torna inibidores menos tóxicos**
- ☞ **retém os microrganismos**
- ☞ **reduz a atividade de enzimas extracelulares**

Biodegradação de poluentes orgânicos: condicionantes

- Poluente deve servir como fonte de **C, N, S ou P**.
- Poluente deve ter afinidade para o sítio ativo de alguma enzima do metabolismo microbiano.
- A enzima de biodegradação deve estar sendo produzida (induzida) pela bactéria nas condições ambientais.
- Poluente deve atravessar as barreiras celulares – membranas!
- As condições ambientais devem ser adequadas para a indução dos sistemas enzimáticos das vias metabólicas de biodegradação: **pH (6-8,5), temperatura (aumento de 10°C duplica a taxa de degradação), potencial redox (potencial redox depende dos aceptores finais de elétrons disponíveis no ambiente), atividade de água (a catálise biológica depende da disponibilidade de água).**
- O ambiente deve fornecer todos os nutrientes e outros insumos necessários para a biodegradação.
- O poluente deve entrar em contato com a célula: **biodisponibilidade!**

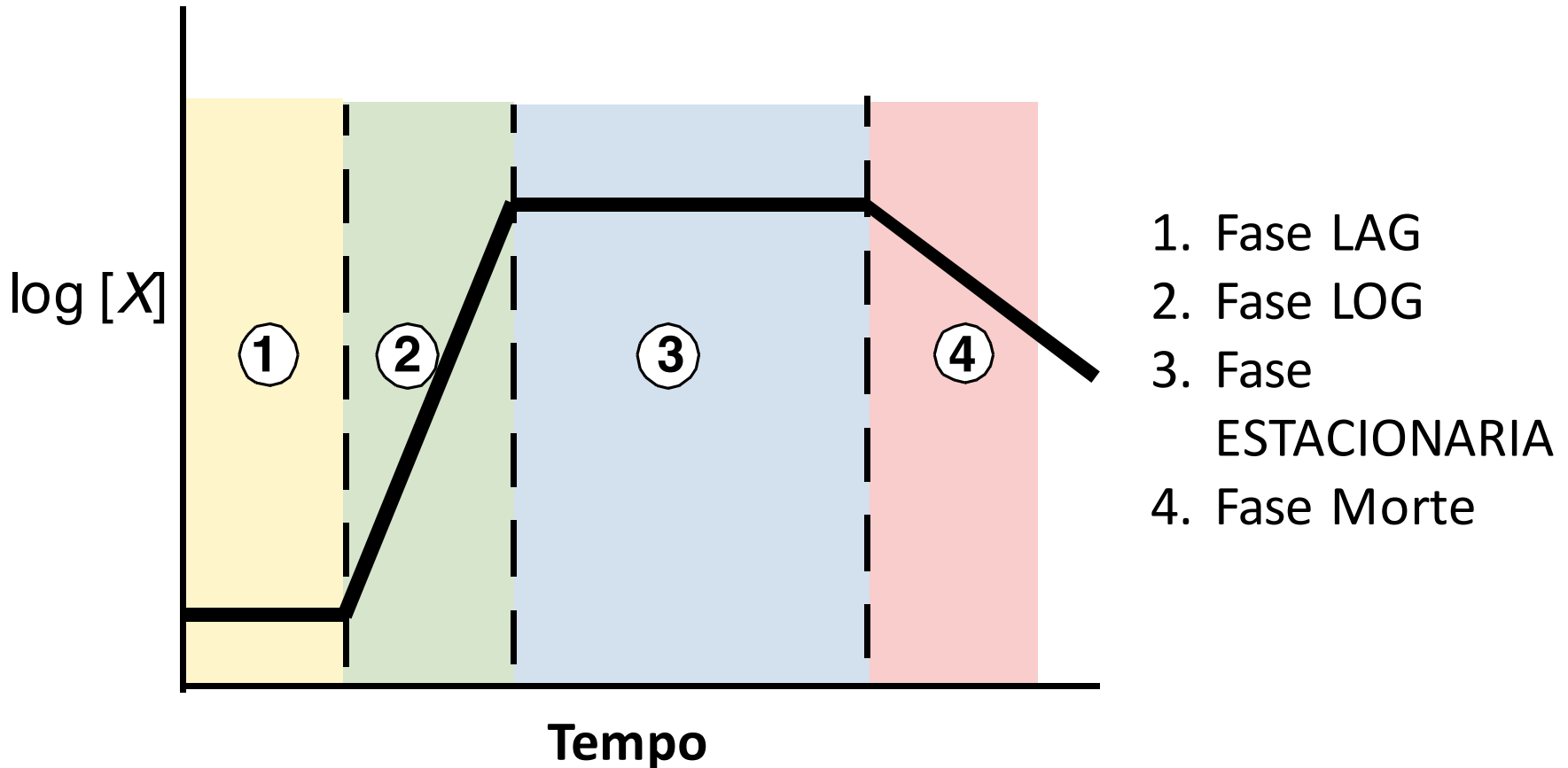
Modelando a Biodegradação: Aspectos de Cinéticos

Duas principais metodologias de avaliação da cinética da biodegradação de compostos contaminantes no ambiente adotando-se o modelo “curve fitting” dos dados:

- Modelos de 1a. Ordem
- Cinética de Monod

- Ambos podem ser utilizados com algumas restrições incluindo-se ambientes aerobios, anaerobios com qualquer tipo de composto.

Crescimento Microbiano



Fase 1 (lag) = Aclimação

$$\text{Fase 2 (log)} = \frac{dX}{dT} = k X$$

Velocidade (Tempo de reação)

Variação da concentração de um reagente ou de um produto na unidade de tempo

Lei de velocidade Equação diferencial que relaciona velocidade de reação com concentração de reagentes

$$\text{Fase 2 (log): } dX / dT = k X$$

Ordem : Soma dos expoentes dos termos de concentração da equação de lei de velocidade. Não depende da estequiometria da reação

Modelagem de Decaimento 1ª. ordem

$$\bullet C = C_0 e^{-k\Delta t}$$

Onde: C = Concentração C_0 = Concentração inicial


K = constante de decaimento t = tempo

- Assume todas condições favoráveis
- Taxa (constante k) é proporcional à concentração Substrato ou Produto (C)
- Geralmente utilizada como primeira abordagem da biodegradação observando certas limitações do modelo.

LEI DE VELOCIDADE DE PRIMEIRA ORDEM



Equação diferencial da lei de velocidade de primeira ordem


$$\frac{dx}{dt} = k(a - x)$$

A velocidade de formação de B em cada instante é proporcional à concentração de reagente remanescente

Portanto a velocidade de reação *decrece* continuamente com o tempo

Reações de primeira ordem

$$\frac{d[C]}{dt} \propto [C]^n \rightarrow \frac{d[C]}{dt} = k[C]^n$$

k = constante de decaimento

Para reação ordem 1, n = 1

$$-\frac{d[C]}{dt} = kC \rightarrow \int_{C_0}^C \frac{dC}{C} = -k \int_0^t dt$$

Valor negativo, [C] implica decaimento com o tempo

unidade de k é tempo⁻¹

$$\ln \frac{C}{C_0} = -kt \quad \text{or} \quad \frac{C}{C_0} = e^{-kt} \rightarrow C = C_0 e^{-kt}$$

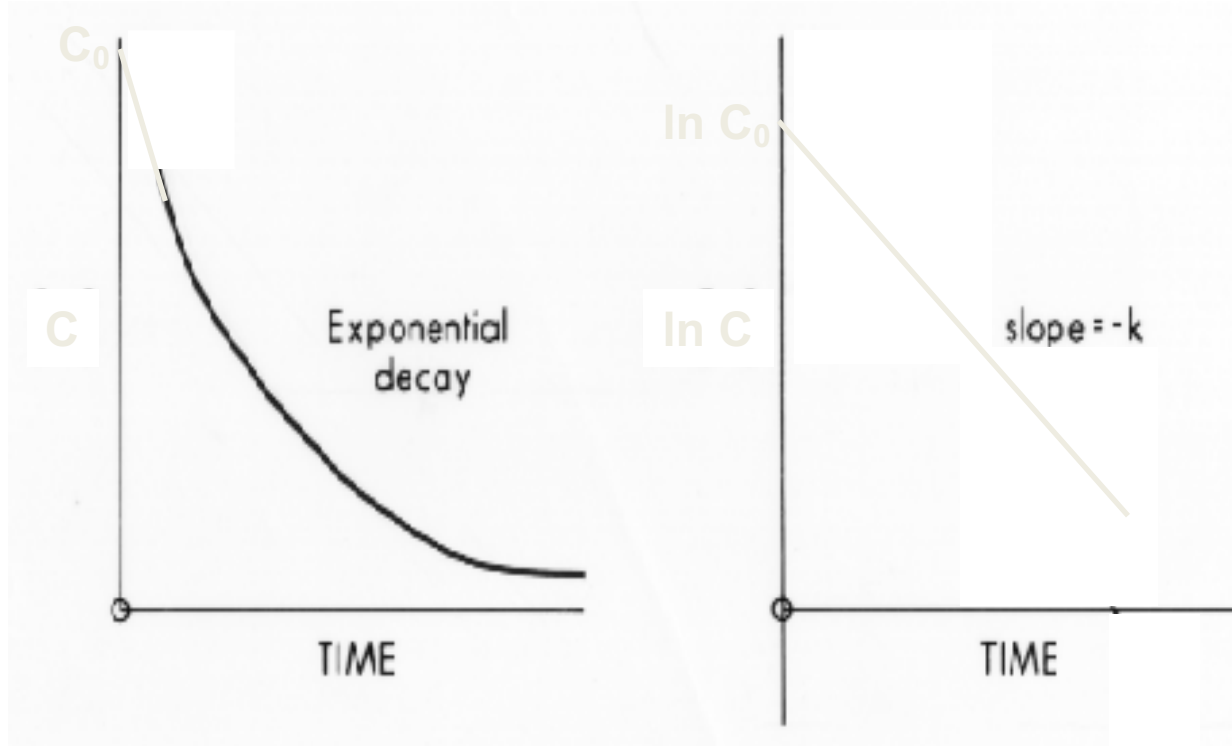
$$\ln C - \ln C_0 = -kt \quad \text{or} \quad \ln C = \ln C_0 - kt$$

Similar a equação de regressão linear
 $y = ax - b$ a = valor K

Representação gráfica

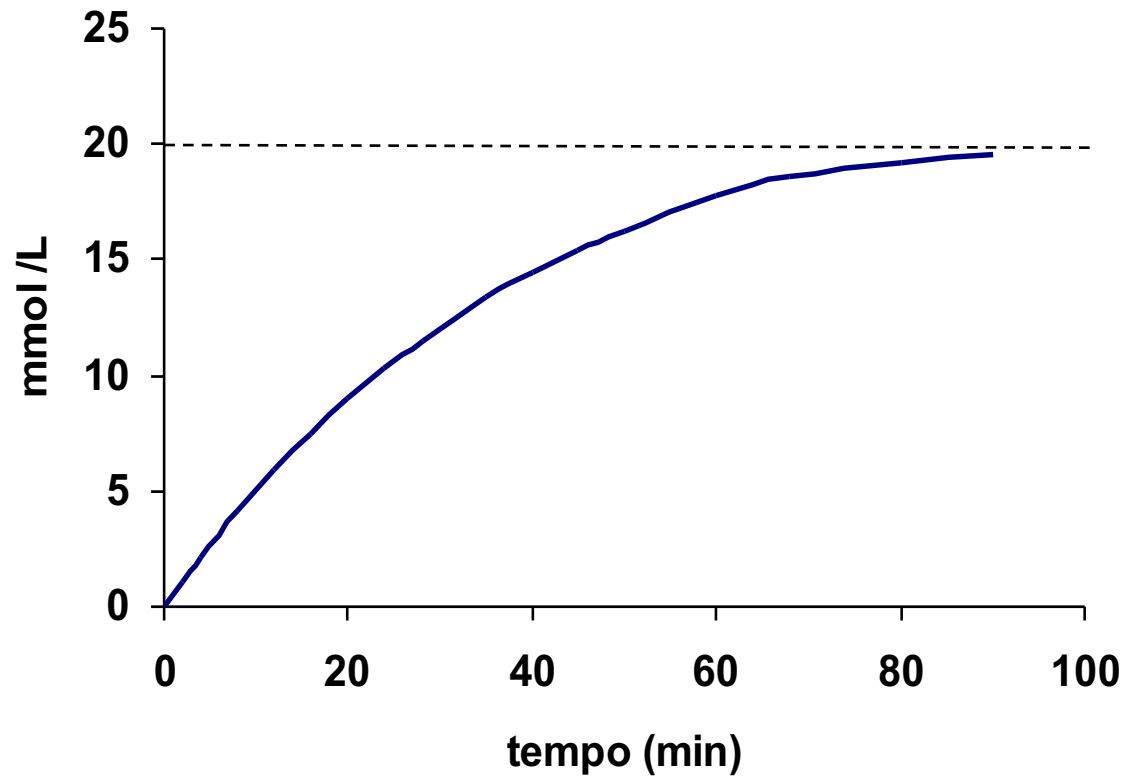
$$\ln C = \ln C_0 - kt$$

$$y = ax + b$$



Reações de 1a ordem: muito comum para engenharia ambiental

Curva típica de formação de um produto através de mecanismo de primeira ordem



Retomando a equação da lei de velocidade de primeira ordem

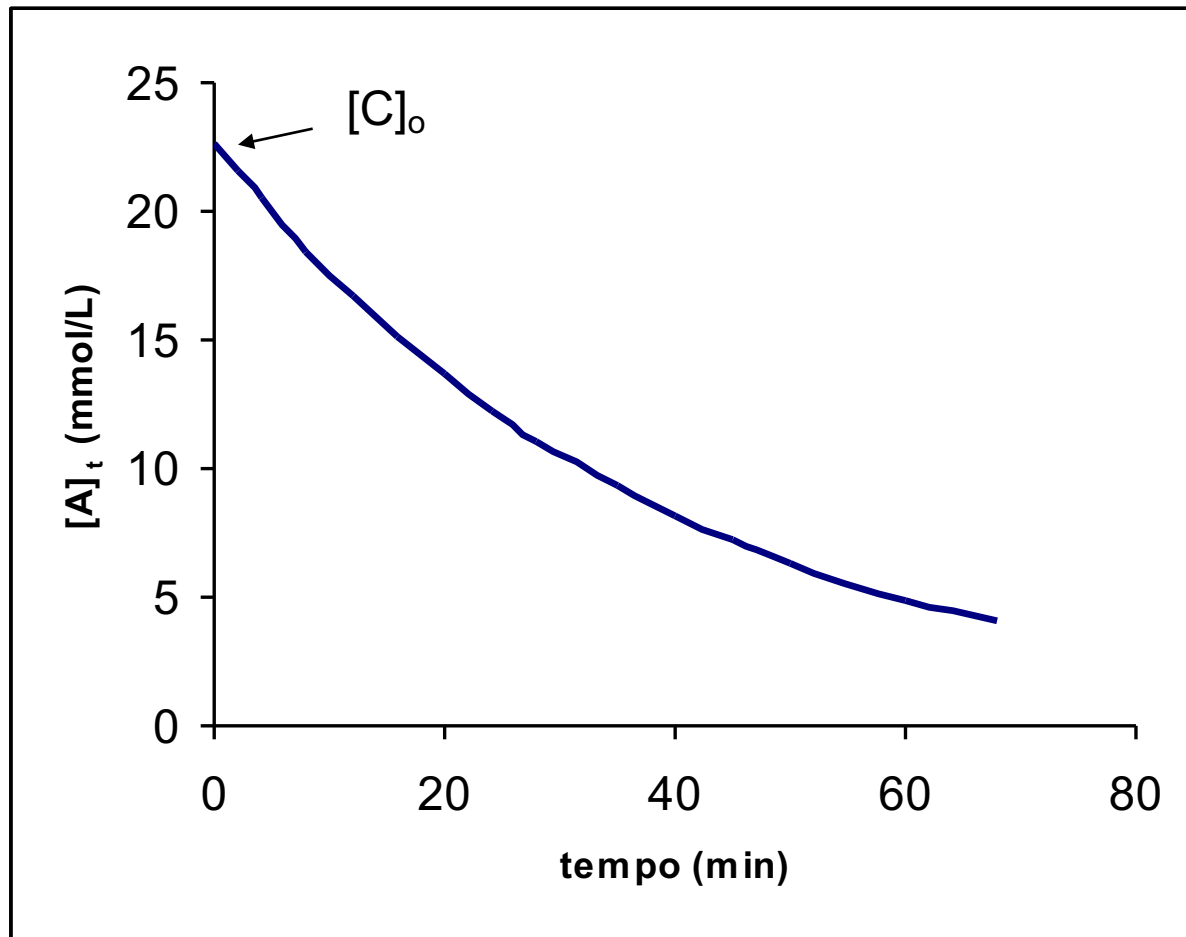
$$\frac{C}{C_0} = e^{-k.t}$$

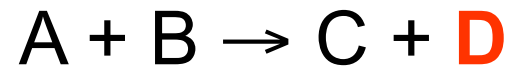
(C) = quantidade de reagente remanescente no tempo t = $[C]_t$

C_0 = quantidade de inicial de reagente no tempo 0 = $[C]_0$

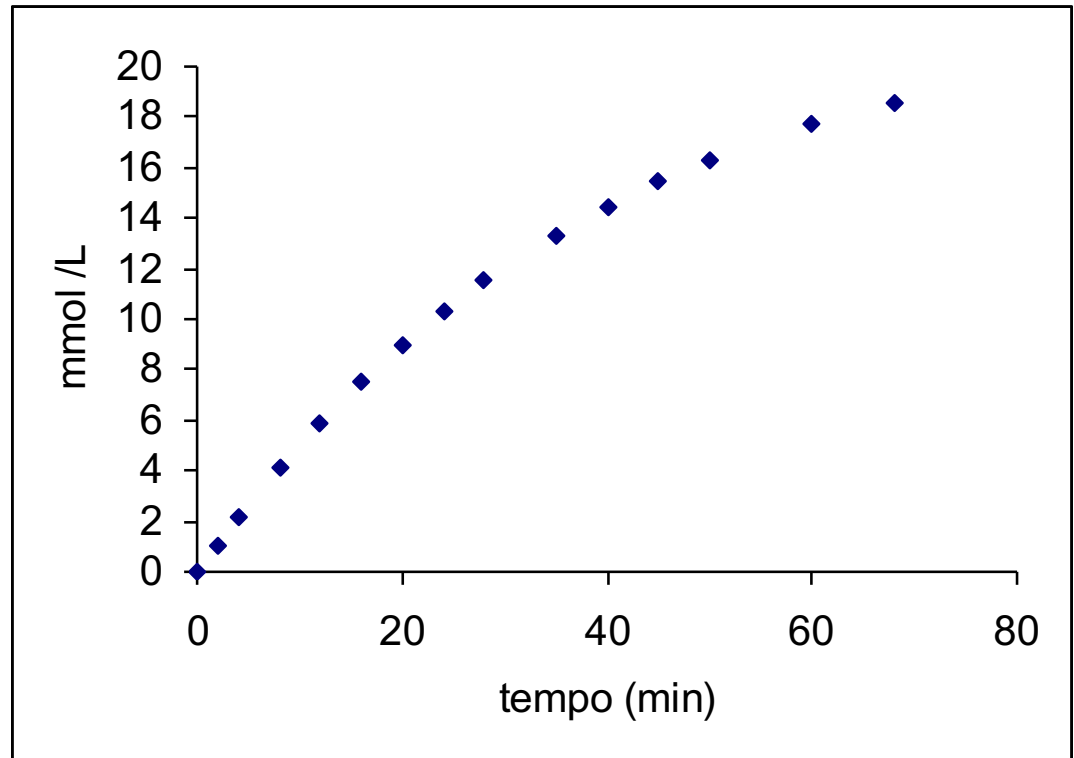
$$[C]_t = [C]_0 \cdot e^{-k.t}$$

Curva típica do consumo de um produto através de mecanismo de primeira ordem

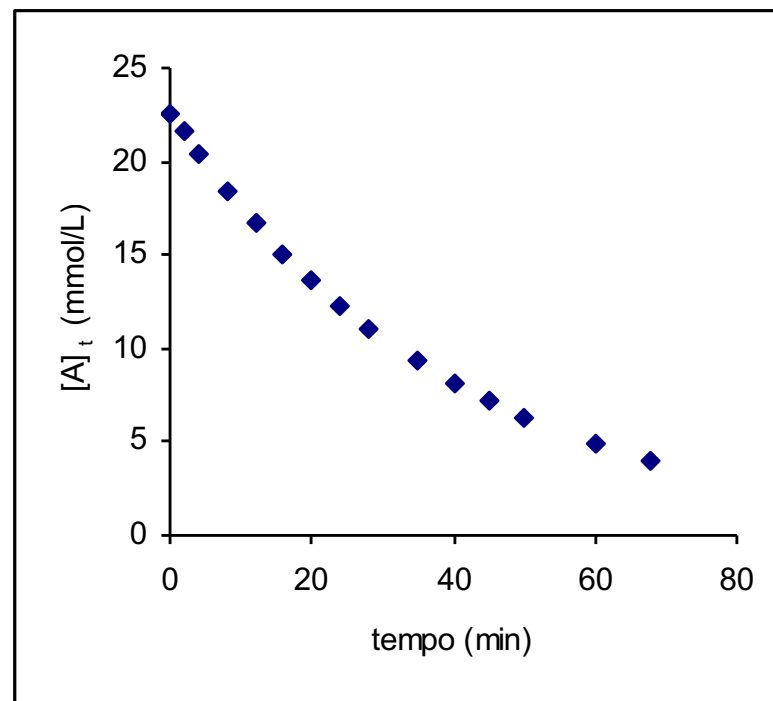




tempo min	[D] mmol/L
0	0,00
2	1,07
4	2,15
8	4,14
12	5,89
16	7,52
20	9,00
24	10,32
28	11,52
35	13,33
40	14,47
45	15,42
50	16,28
60	17,74
68	18,60
200	22,62
infinito	



tempo min	(a-x)
0	22,62
2	21,55
4	20,47
8	18,48
12	16,73
16	15,10
20	13,62
24	12,30
28	11,10
35	9,29
40	8,15
45	7,20
50	6,34
60	4,88
68	4,02



$$[A]_t = (a-x)$$

**(a-x) = quantidade de reagente
remanescente no tempo t**

a = quantidade inicial de reagente

MÉTODO GRÁFICO PARA DE DETERMINAR A ORDEM DA REAÇÃO

tempo min	(a-x)	ln(a-x)
0	22,62	3,1188
2	21,55	3,0704
4	20,47	3,0190
8	18,48	2,9167
12	16,73	2,8172
16	15,10	2,7147
20	13,62	2,6115
24	12,30	2,5096
28	11,10	2,4069
35	9,29	2,2289
40	8,15	2,0980
45	7,20	1,9741
50	6,34	1,8469
60	4,88	1,5851
68	4,02	1,3913

$$\ln \frac{(a-x)}{a} = -kt$$

$$\ln(a-x) - \ln a = -kt$$

$$\ln(a-x) = -kt + \ln a$$

$$y = -0,0255.t + 3,1211$$

$$R = 0,99999$$

$$k = 0,0255 \text{ min}^{-1}$$

MEIA VIDA $t_{1/2}$

Período de tempo necessário para ocorrer metade da reação

Período de tempo para consumir de metade dos reagentes

$$x = C_0/2$$

$$\ln \frac{(C)}{C_0} = -kt$$

$$-\ln 2 = -kt$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

$$k = 0,0255 \text{ min}^{-1}$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} = \frac{0,6931}{0,0255} = 27,2 \text{ dias}$$

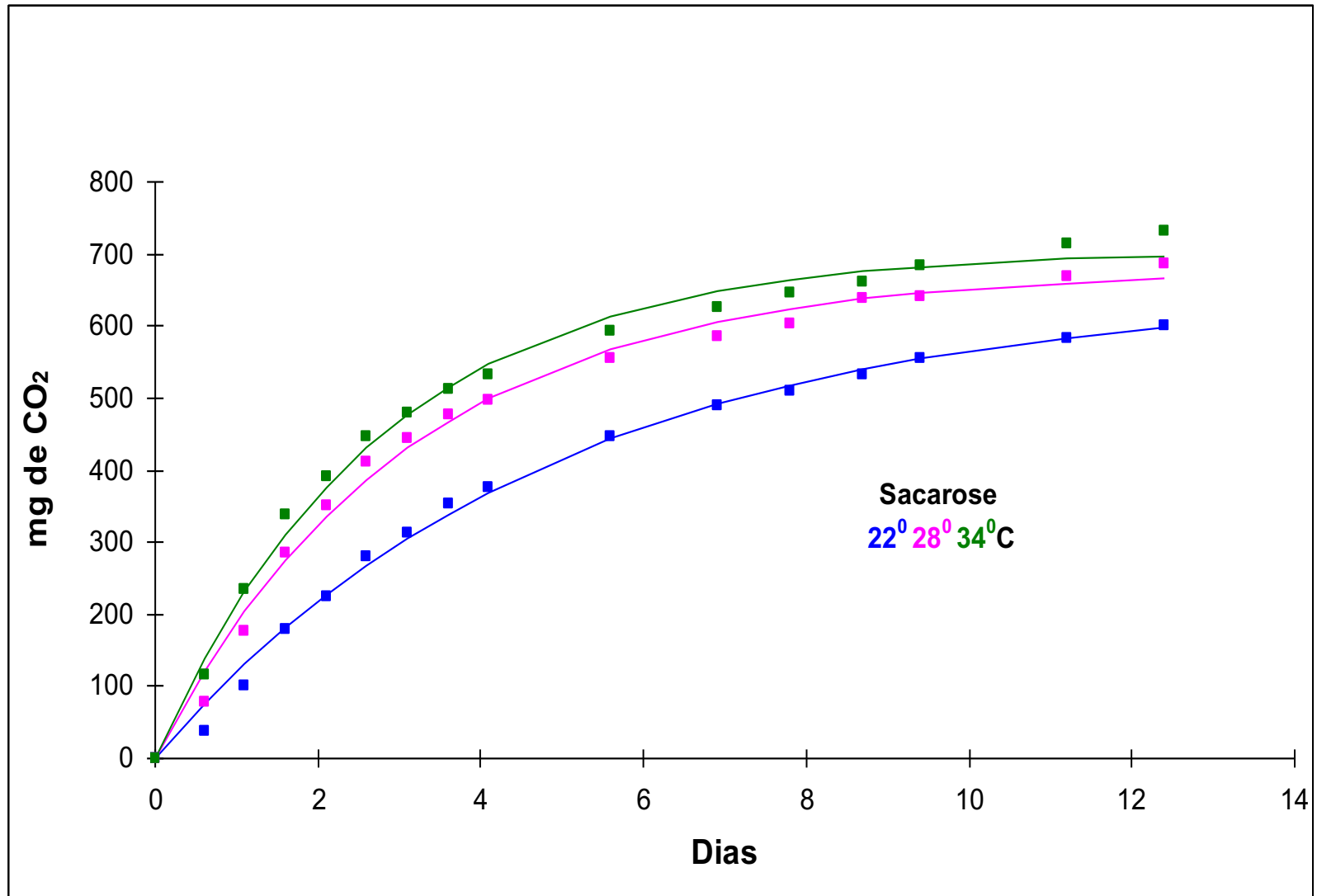
APLICAÇÃO MAIS FREQUENTE

Modelo de primeira ordem na decomposição de materiais orgânicos no solo

Limitações:

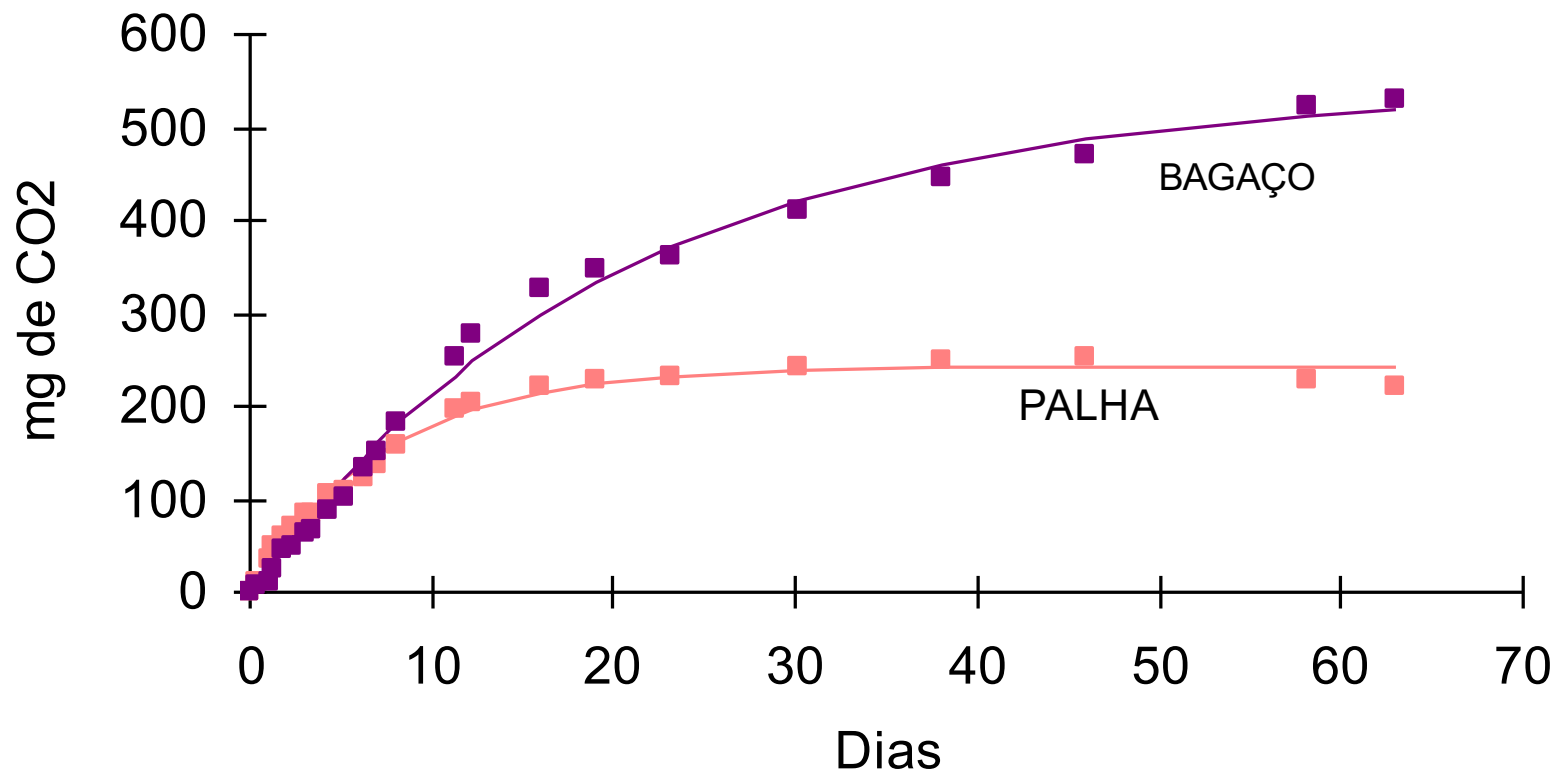
- Não é uma reação química “comportada”
- Difícil definir quais compostos estão participando da reação
- Depende da atividade microbiológica

EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE A DECOMPOSIÇÃO DE SACAROSE NO SOLO



Tratamentos	CO₂	C	C decomposto	k
	mg	mg	%	dia⁻¹
Tanino-22	251,3	68,5	20,6	0,122
Tanino-28	339,0	92,5	27,7	0,087
Tanino-34	382,3	104,3	31,3	0,085
Sacarose-22	599,5	163,5	49,0	0,205
Sacarose-28	685,4	186,9	56,1	0,327
Sacarose-34	731,1	199,4	59,8	0,364

Palha de Cana e Bagaço de Cana



Em ensaio de respirometria 2,45g de resíduo com 18,7 %C é incorporado a 1 kg de solo

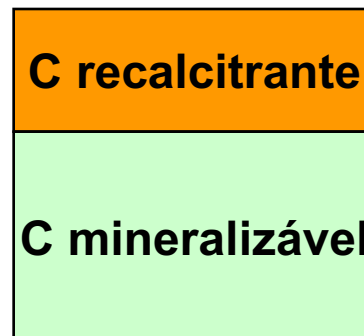
Massa de carbono incorporada = $2450 \times 0,187 = 458,2 \text{ mg C}$

Massa de CO_2 teoricamente produzida = 1679,9 mg



Massa de CO_2 evoluída em 58 dias = 785,9 mg

458,2 mg C



Cinética tipo “Monod” (Saturação)

- Adota a Taxa de biodegradação (μ e μ_{\max}) como foco do problema e suas conversões
- Crescimento Microbiano e consumo do Substrato são intimamente interligados assumindo parametros de afinidades (K_s).

$$-\frac{dC}{dt} = \frac{\mu_{\max} C M_t}{K_s + C}$$

- C = concentração Substrato [mg/L]
- M_t = concentração biomassa [mg/ L]
- μ_{\max} = taxa maxima de consumo do substrato [sec^{-1}]
- K_s = constante de afinidade (ou half-saturation coefficient)[mg/L]

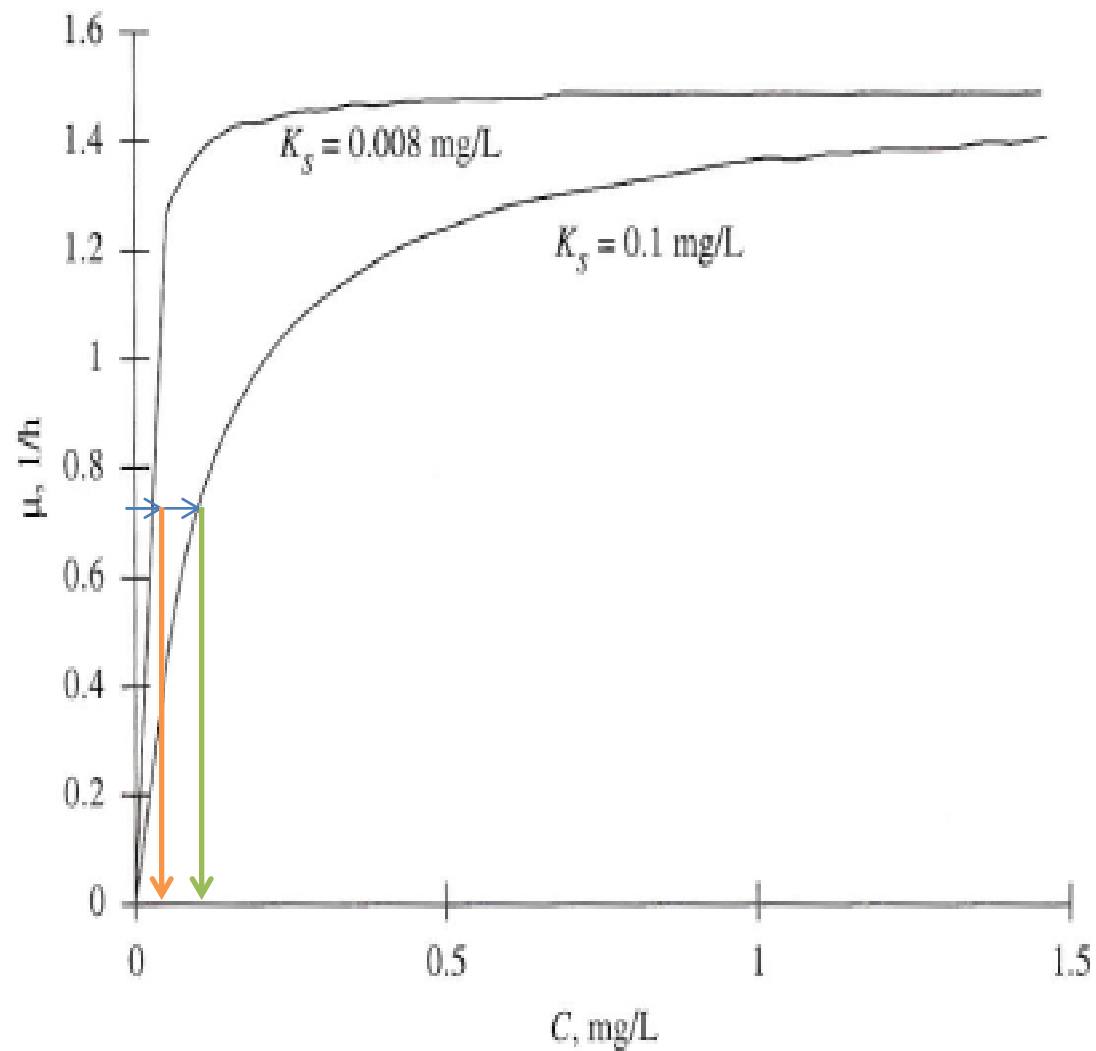
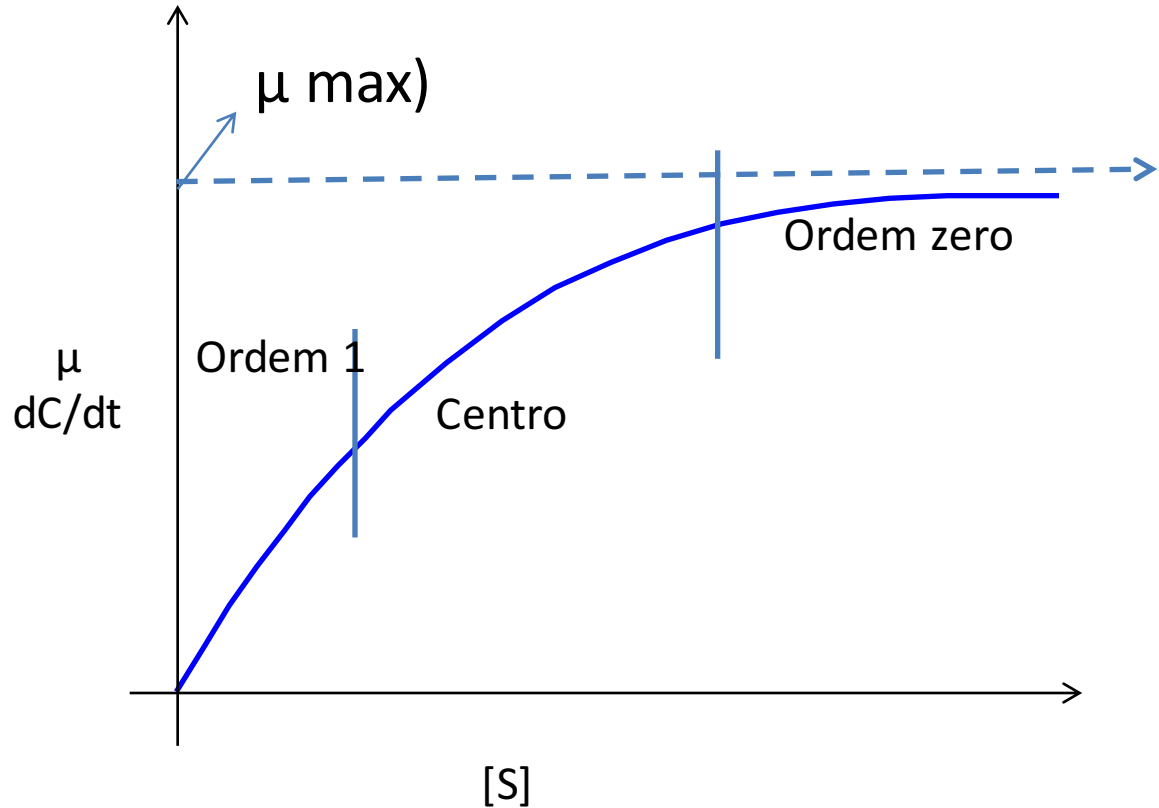


FIGURE 4.4

Change in specific growth rate for different values of K_S , and a μ_{\max} value of 1.5/h.

Implicações do modelo Monod

- Região ordem 1, $C \ll K_s$ descrita com equação de decaimento exponencial ($C = C_0 e^{-kt}$)
- Região Central onde o modelo Monod deve ser utilizado
- ZeroRegião ordem zero, $C \gg K_C$ com equação de decaimento linear ($C = C_0 - kt$)



$$-\frac{dC}{dt} = \frac{kCM_t}{K_s}$$

tion will then shift to the first-order degradation model that is commonly used in analytical models.

Monod (1949) proposed a hyperbolic equation to describe the growth of bacterial cultures as a function of a limiting nutrient concentration:

$$\mu = -\frac{dX/dt}{X} = \frac{\mu_{\max}C}{K_s + C} \quad [3.26]$$

where μ = specific growth rate; that is, growth rate normalized to the cell concentration (day^{-1})

X = microbial concentration (mg-cells/L)

μ_{\max} = maximum specific growth rate (day^{-1})

C = limiting substrate concentration in the bulk liquid (mg-substrate/L)

K_s = half-saturation coefficient (mg-substrate/L), which is the substrate concentration corresponding to a specific growth rate equal to one-half of the maximum

$-\frac{dC}{dt} =$ specific substrate utilization rate, U (g-substrate/g-cells/day)

This equation was modified by Lawrence and McCarty (1970) to describe the rate at which microorganisms remove a target pollutant when this is the limiting substrate:

$$-\frac{dC}{dt} = \frac{kCX}{K_s + C} \quad [3.27]$$

where $-\frac{dC}{dt}$ = substrate utilization rate (mg-substrate/L/day)

k = maximum specific substrate utilization rate (g-substrate/g-cells/day)

All other terms are as previously defined. Note that K_s in this case corresponds to the substrate concentration that results in a specific substrate utilization rate equal to one-half of the maximum (i.e., $U = k/2$, Figure 3.34). Lower K_s values indicate a higher affinity for the substrate since this is conducive to higher growth and degradation rates at a given substrate concentration.

Note also that the growth rate is directly proportional to the degradation rate:

$$\frac{dX}{dt} = Y \left(-\frac{dC}{dt} \right) \quad [3.28]$$

where Y is the cell yield coefficient (g-cell produced/g-substrate degraded). Thus, the maximum specific growth and degradation rates are also proportional:

$$\mu_{\max} = Yk \quad [3.29]$$

This equation was modified by Lawrence and McCarty (1970) to describe the rate at which microorganisms remove a target pollutant when this is the limiting substrate:

$$-\frac{dC}{dt} = \frac{kCX}{K_s + C} \quad [3.27]$$

where $-\frac{dC}{dt}$ = substrate utilization rate (mg-substrate/L/day)

k = maximum specific substrate utilization rate (g-substrate/g-cells/day)

102 Biodegradation Principles

Specific substrate utilization rate, U

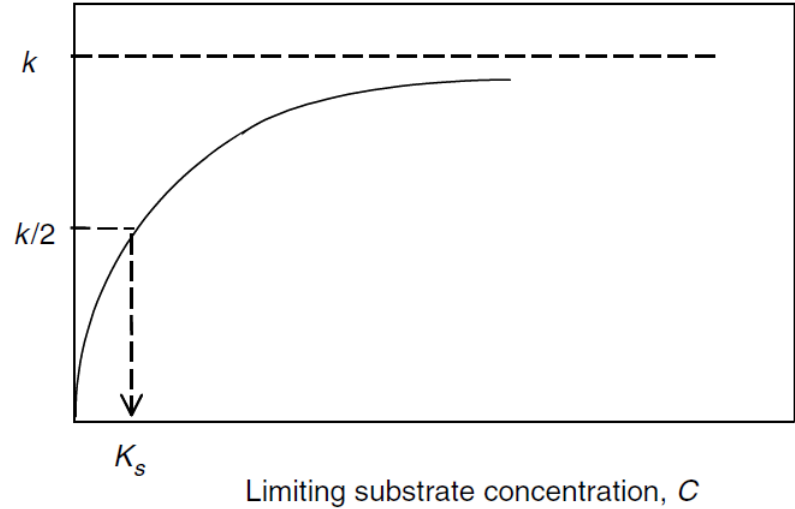


Figure 3.34. Graphic representation of Monod's equation.

$$\mu = -\frac{dX/dt}{X} = \frac{\mu_{\max}C}{K_s + C}$$

where μ = specific growth rate; that is, growth rate normalized to the cell concentration (day^{-1})

X = microbial concentration (mg-cells/L)

μ_{\max} = maximum specific growth rate (day^{-1})

C = limiting substrate concentration in the bulk liquid (mg-substrate/L)

K_s = half-saturation coefficient (mg-substrate/L), which is the substrate concentration corresponding to a specific growth rate equal to one-half of the maximum

$-\frac{dC}{dt} =$ specific substrate utilization rate, U (g-substrate/g-cells/day)

Exemplos Numericos com EXCEL