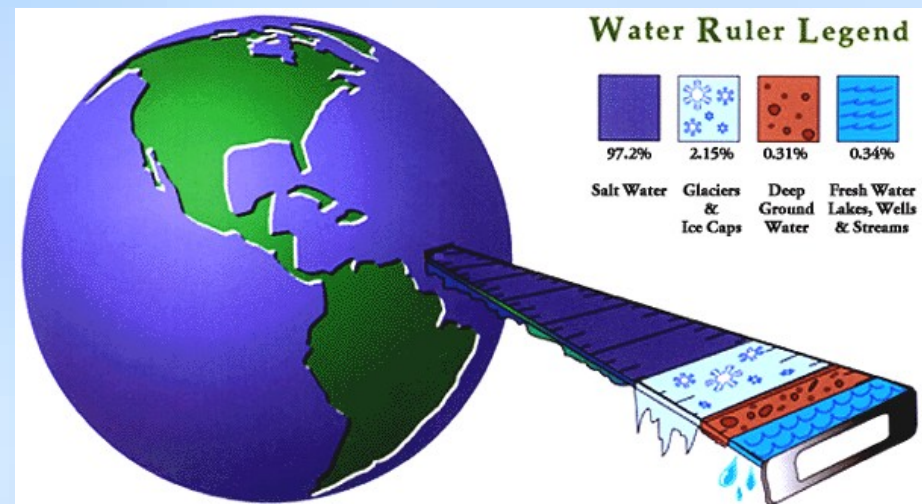
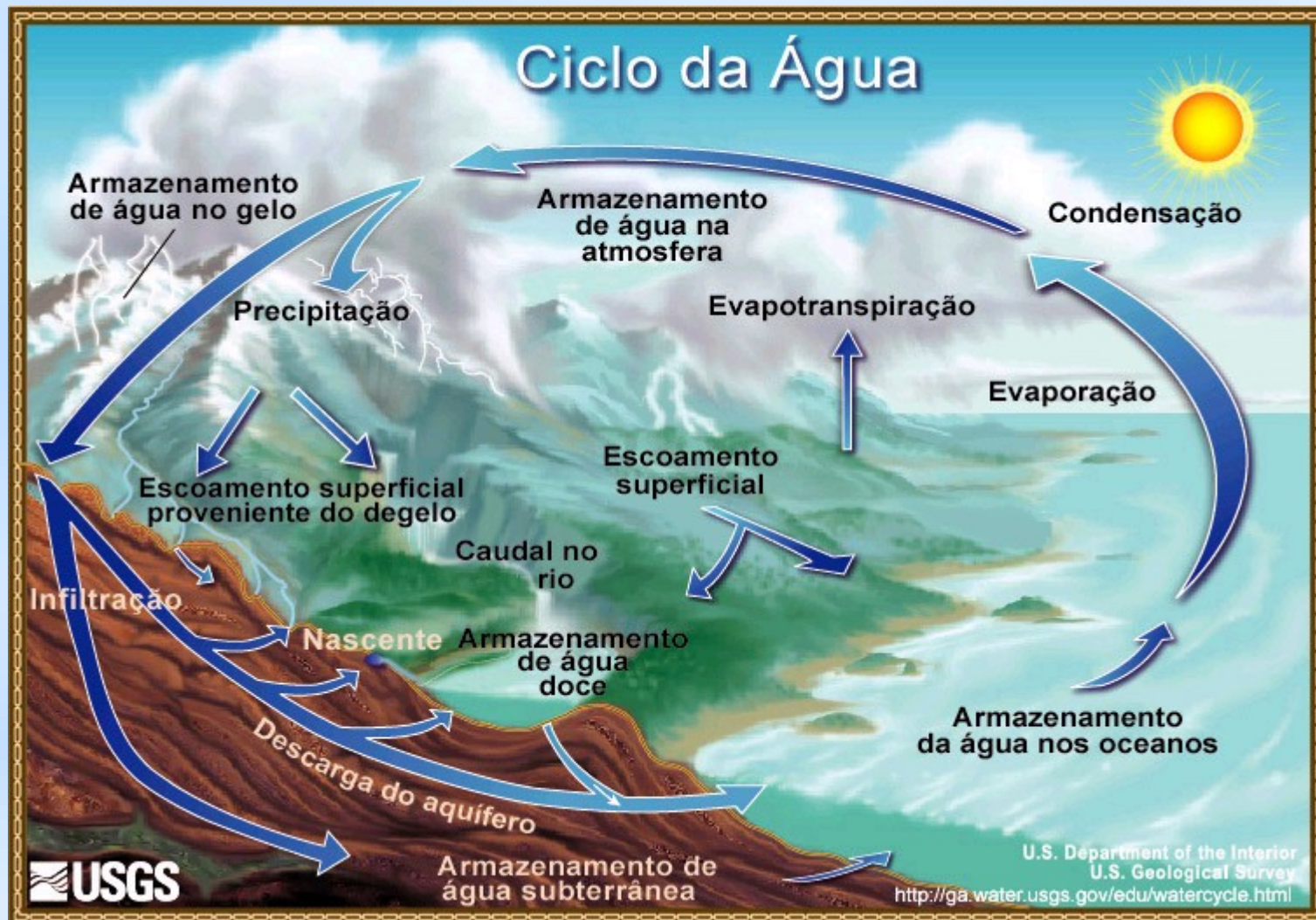


# Microbiología de sistemas acuáticos

- Água cobre 70% da superfície terrestre
- 96% da água está nos oceanos
- 30% da água da chuva chega aos oceanos através dos rios
- 70% é evaporada ou transpirada pelas plantas
- Dos restantes 30%, cada pessoa teria em média acesso a 12 000 L/dia
  - 2 L/dia são suficientes para suportar a vida humana
  - consumo agrícola e industrial e diversos tipos de poluição afectam a qualidade e disponibilidade desta água





Microbiologia de sistemas aquáticos

## Doenças relacionadas com a qualidade da água

- Diversas doenças estão relacionadas com a utilização da água
  - a cada 8 seg morre uma criança por doença relacionada com a água
  - 50% dos habitantes dos países em desenvolvimento sofrem de doenças relacionadas com a água
  - 80% das doenças dos países em desenvolvimento são causadas por água contaminada
    - diarreias
    - dengue
    - malária
    - poliomielite
    - ...



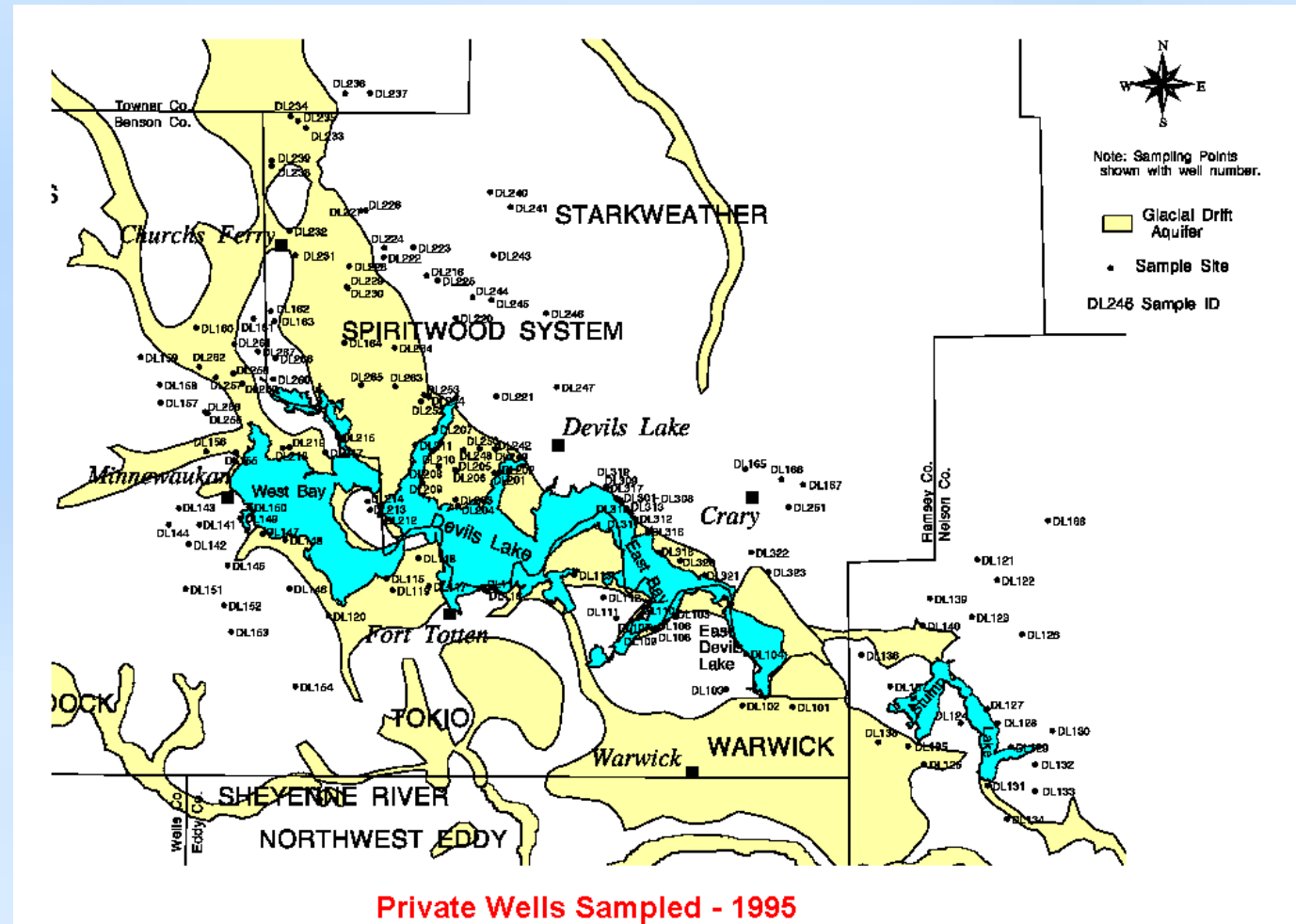
## Água doce superficial

- Difícil obter amostras representativas e extrair e analisar os microrganismos presentes
- Devem considerar-se 2 características ambientais:
  - parâmetros **morfométricos**
    - profundidade, dimensão, geologia, distribuição de sedimentos, correntes, fluxo da água, ...
  - parâmetros **físico-químicos**
    - temperatura, pH, substâncias inorgânicas, perfis de oxigênio,  $O_2$ , ...



# Água doce superficial

- Amostras devem provir das diversas zonas



Microbiologia de sistemas aquáticos

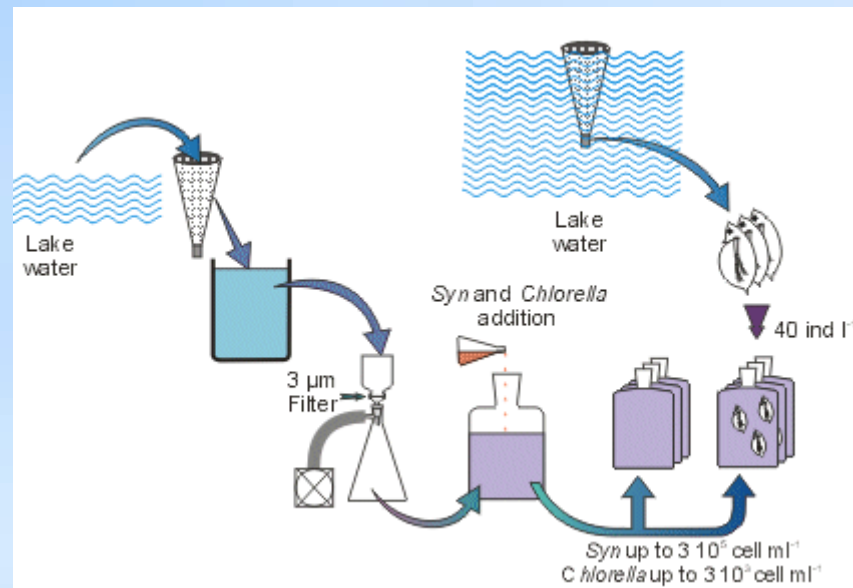
## Água doce superficial

- Testes efectuados para contar e identificar patogénios (**coliformes totais**, **coliformes fecais**, *Pseudomonas*) também podem ser utilizados para identificar outras bactérias, fungos ou protozoários presentes na água ou sedimentos
- Testes podem medir **biomassa** (microrganismos viáveis) ou **microrganismos totais** (mortos e vivos)
- Pode também medir-se a **actividade** microbiana
  - respiração
  - fotossíntese
  - metabolitos



## Água doce superficial

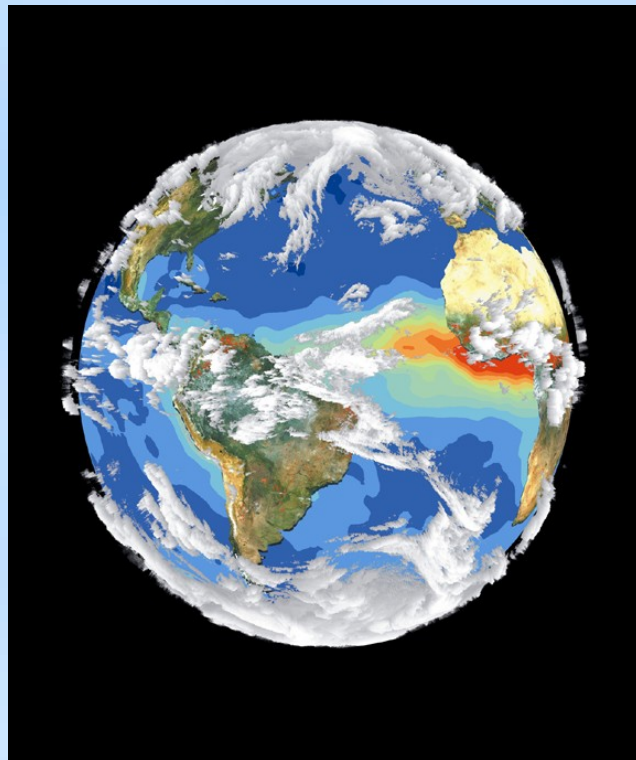
- Procedimento típico:
  - retirar amostras de água, colocar em frascos de vidro
    - duplicados em frascos escuros
  - adicionar  $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$
  - suspender as garrafas na profundidade de amostragem, durante 20 min – 6 h
  - retirar garrafas e filtrar em filtros de membranas
  - medir radioactividade das células incorporadas nas membranas





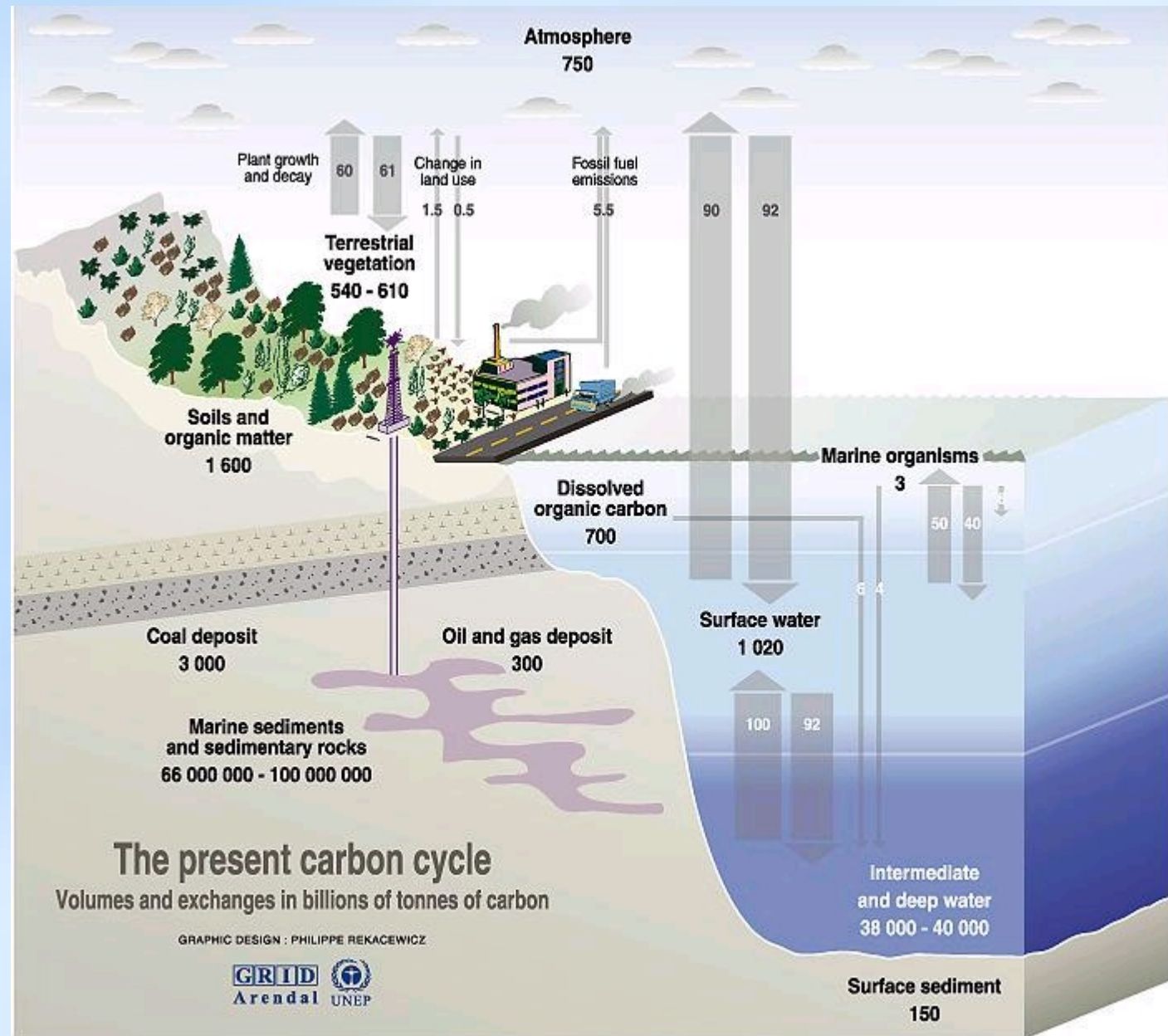
## Microrganismos em sistemas aquáticos

- Diversos microrganismos estão envolvidos nos ciclos geoquímicos existentes em águas doces e salgadas e seus sedimentos:
  - ciclo do carbono
  - ciclo do azoto
  - ciclo do enxofre
  - ciclo do fósforo



# Microrganismos em sistemas aquáticos

## Ciclo do carbono

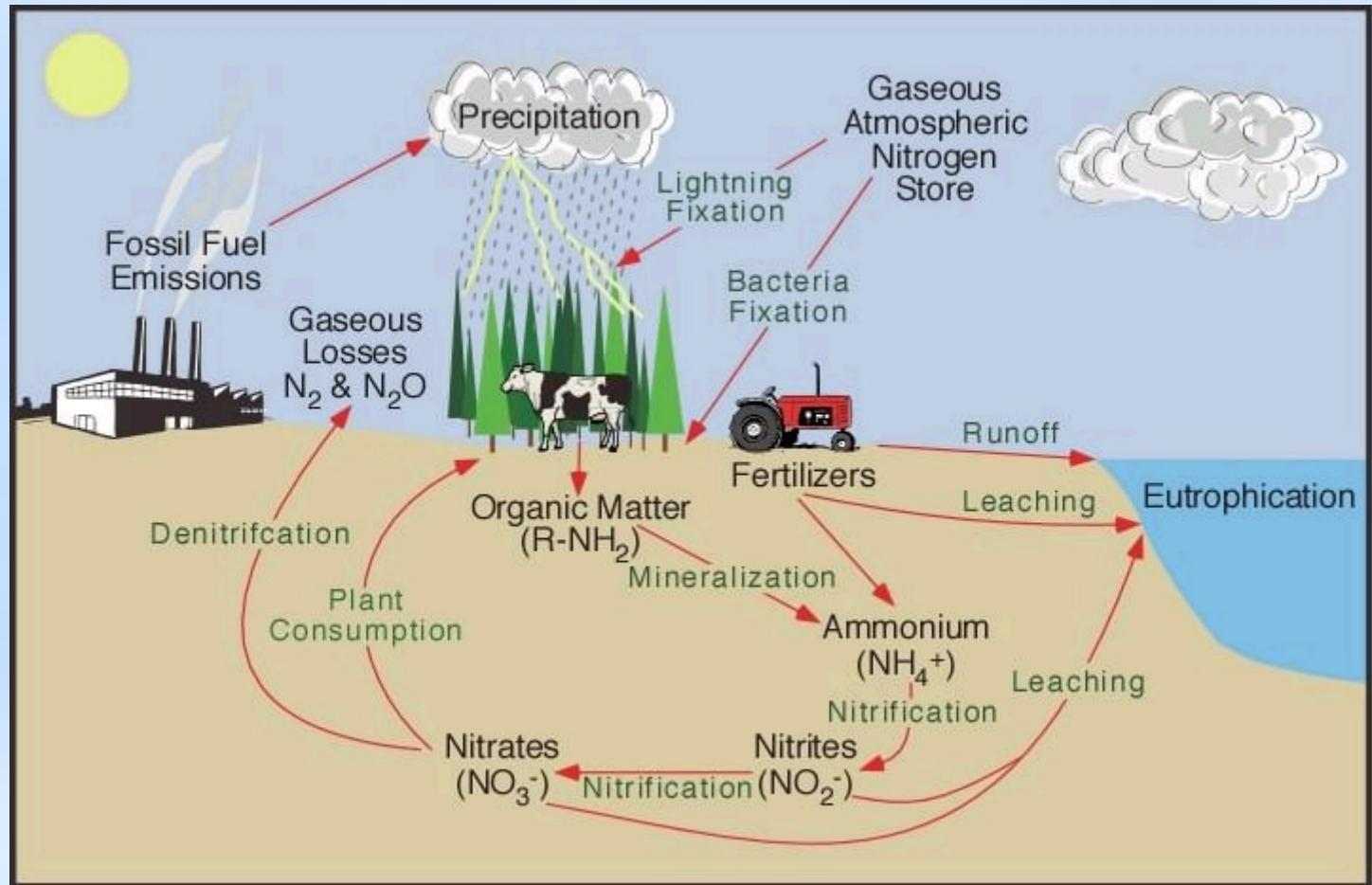


Sources: Center for climatic research, Institute for environmental studies, university of Wisconsin at Madison; Okanagan university college in Canada, Department of geography; World Watch, November-December 1998; Climate change 1995, The science of climate change, contribution of working group 1 to the second assessment report of the intergovernmental panel on climate change, UNEP and WMO, Cambridge press university, 1996.

Microbiologia de sistemas aquáticos

# Microrganismos em sistemas aquáticos

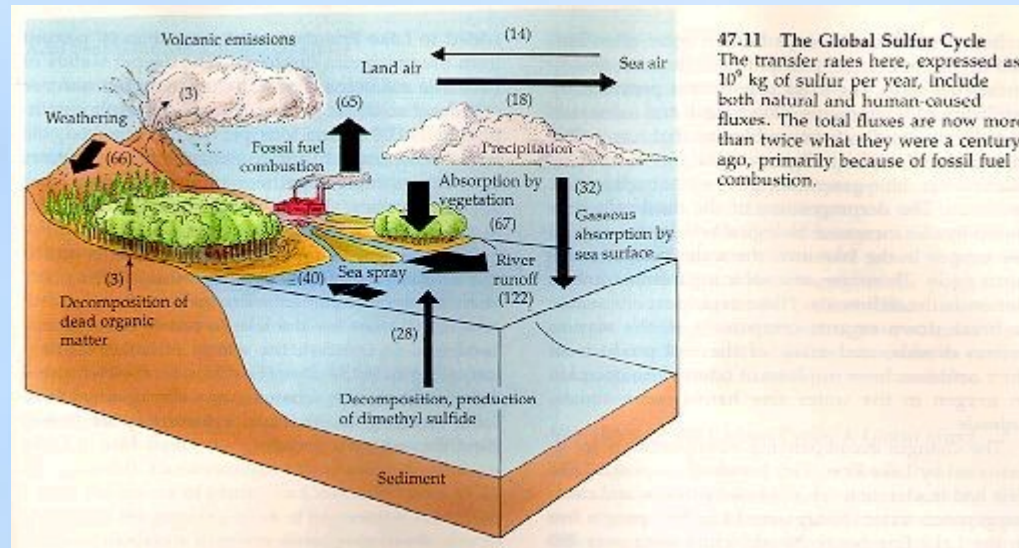
## Ciclo do azoto



Microbiologia de sistemas aquáticos

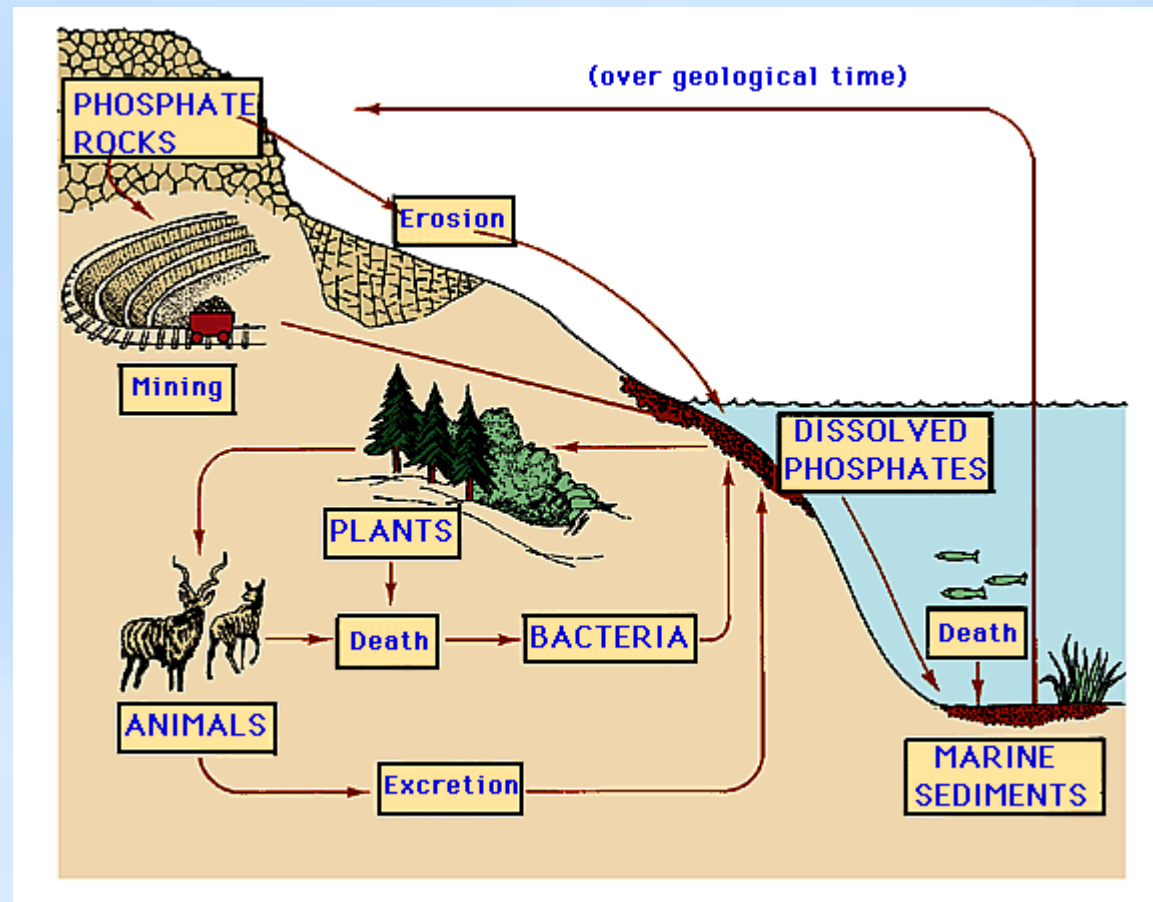
# Microrganismos em sistemas aquáticos

## •Ciclo do enxofre

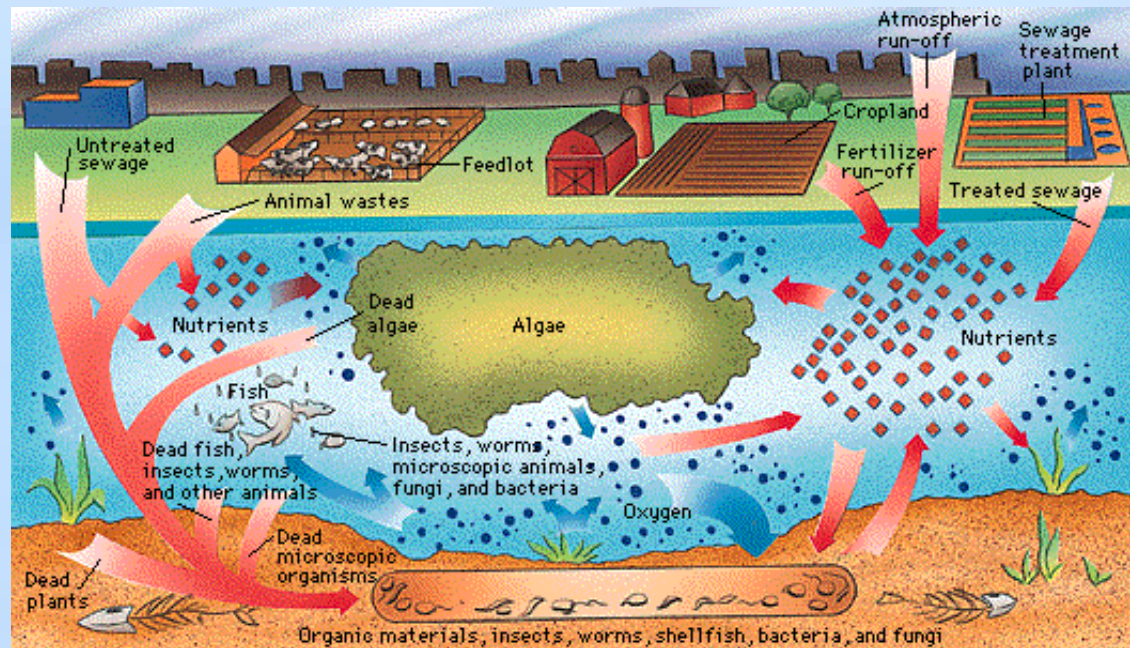


# Microrganismos em sistemas aquáticos

## •Ciclo do fósforo



# Poluição de sistemas aquáticos



Microbiologia de  
sistemas aquáticos

## Poluição de sistemas aquáticos

- Efeitos dos poluentes nos processos microbianos
  - compostos orgânicos que se degradam provocando problemas de carência bioquímica de oxigênio (CBO)
    - elevado consumo de  $O_2$  durante a degradação
  - processos de mineralização de compostos orgânicos produzem compostos inorgânicos
    - fosfatos, nitratos, metais, compostos radioativos
  - compostos xenobióticos
    - pesticidas, detergentes, solventes industriais
  - aumento da temperatura
    - devido à proximidade de instalações para produção de energia

## Poluição de sistemas aquáticos

- Poluição da água por microrganismos
  - microrganismos patogénicos podem tornar água imprópria para consumo (humano ou animal)
  - microrganismos patogénicos podem tornar água imprópria para irrigação

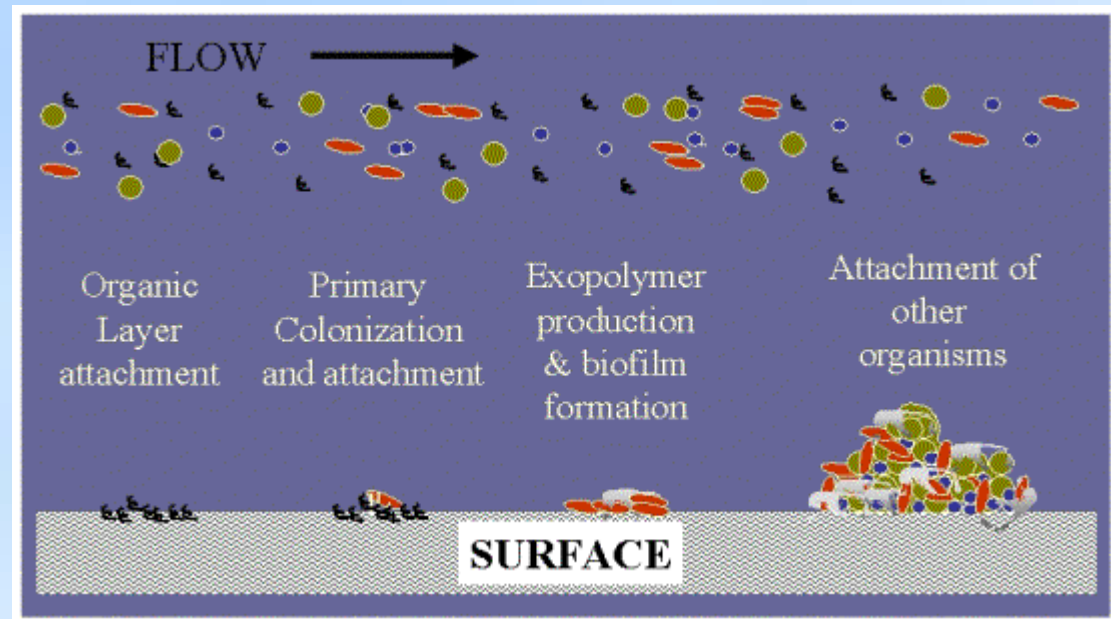




# Poluição de sistemas aquáticos

## • Biofilmes

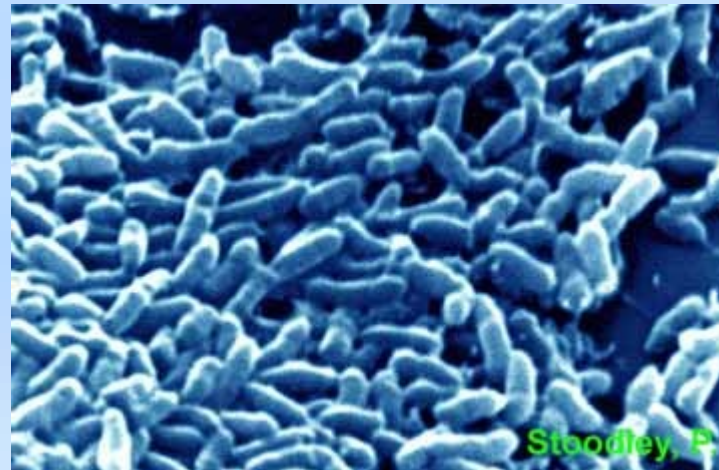
- populações ou comunidades microbianas que aderem a superfícies ambientais
- geralmente encapsulados em polissacáridos que eles próprios sintetizam
- requerem humidade e nutrientes adequados



## Poluição de sistemas aquáticos

- Biofilmes

- microrganismos em biofilmes produzem muitas proteínas não encontradas em células livres



## Microbial Biofilms: Sticking Together for Success

Single-celled microbes readily form communities in resilient structures that provide advantages of multicellular organization.

### Waiting to grow

Bacteria can shrink to a spore-like state to wait in water, soil—even rock or tissue—until conditions are right for active growth.

### Meeting the challenge

While antimicrobials damage outer cell layers, the biofilm community can survive.

### Going with the flow

Propelled by shear forces, aggregated cells can break loose, roll, or ripple along a surface in sheets and remain in their protected biofilm state.

### Finding a niche

Chemical gradients create micro-environments for different microbial species or levels of activity.

### Changing their spots

Active bacteria will attach to virtually any surface. Within minutes, changes in gene expression transform "swimmers" to "stickers."

### Getting breakfast in bed

Nutrients diffuse into the matrix as they flow by.

### Sending the right signals

Close proximity of cells facilitates the exchange of molecular signals that regulate behavior.

### Building houses of slime

Attached bacteria multiply and encase their colonies with a slimy matrix.


"Wall formers"

"Dispersers"

### Dividing the labor?

Genetic regulation may allow a degree of differentiation among cells of a single species to serve the community as a whole.

Peg Dirckx, Center for Biofilm Engineering

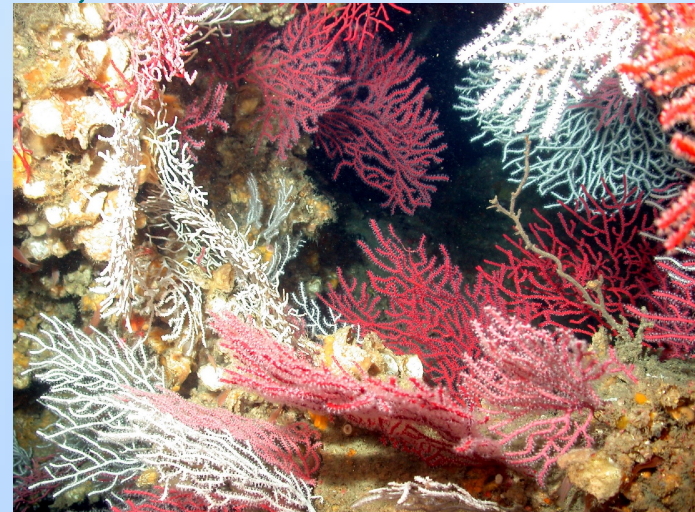


# Microbiologia marinha

Microbiologia de  
sistemas aquáticos

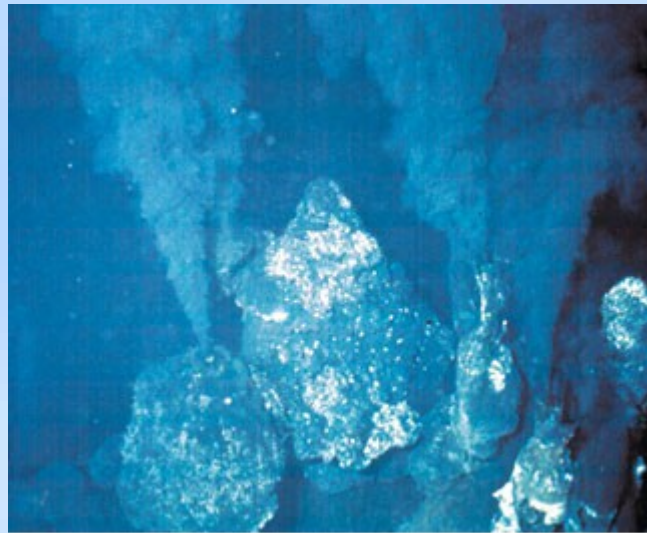
## Microbiologia marinha

- Diferentes condições de pressão levam à existência de diversos tipos de microrganismos nos oceanos
  - **barófilos**
    - moderados
      - crescem melhor a 400 atm, embora capazes de crescer até 1 atm
    - extremos
      - crescem apenas a pressões elevadas
  - **barotolerantes**
    - crescem melhor a baixas pressões, mas toleram até 400 atm



## Microbiologia marinha

- Maioria da água dos oceanos está nas zonas profundas (>1000 m)
  - muito pouco conhecido sobre a microbiologia nessas zonas



Deep Sea Vent "Black Smoker"

# Microbiologia marinha

- Factores que afectam a microbiologia marinha:
  - **salinidade**
    - maioria dos sais necessários à actividade biológica encontra-se em quantidade suficiente nos oceanos
    - pH entre 6.5 e 8.3 (média ligeiramente > 7.0)
  - **gases dissolvidos**
    - $\text{CO}_2$  é o gás mais importante
      - na água do mar, está presente como  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  e  $\text{HCO}_3^-$ 
        - $\text{HCO}_3^-$  predomina a pH próximo da neutralidade
        - a pH 9.4 predomina  $\text{CO}_3^{2-}$  e precipita como  $\text{CaCO}_3$

# Microbiologia marinha

- Factores que afectam a microbiologia marinha:
  - **correntes oceânicas**
    - correntes mais profundas movem-se frequentemente em direcções diferentes das superficiais
    - por vezes há recirculação de nutrientes das correntes profundas para as superficiais
      - maior crescimento do fitoplancton e consequentemente de peixes
  - **temperatura**
    - temperatura óptima de crescimento para bactérias marinhas é de 18 °C
    - maioria da água do mar está a cerca de 2 °C



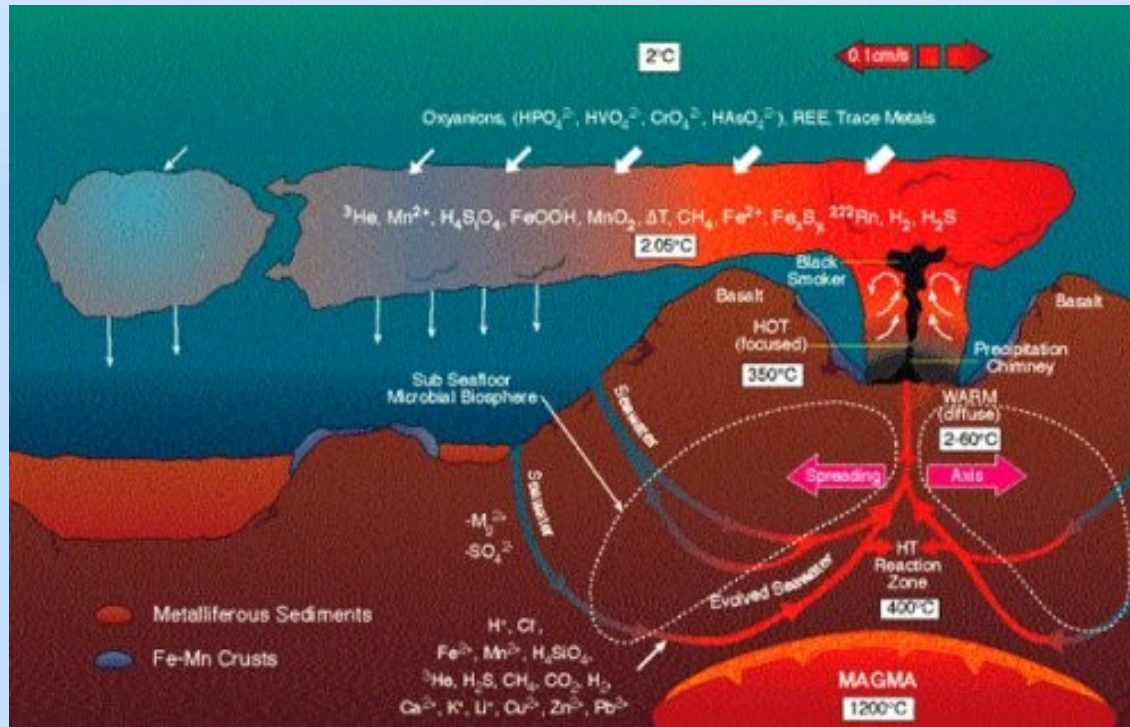
## Microbiologia marinha

- Factores que afectam a microbiologia marinha:
  - **pressão**
    - a pressão aumenta de 1 atm por cada 10 m de profundidade
    - nas partes mais profundas dos oceanos, pressão >1000 atm
    - altas pressões afectam reacções bioquímicas
      - maioria das bactérias não barófilas mostram um aumento na velocidade das reacções bioquímicas a ~100 atm, e uma diminuição para pressões superiores

## Microbiologia marinha

- Factores que afectam a microbiologia marinha:
  - **chaminés vulcânicas**
    - temperaturas elevadas
    - níveis de enxofre elevados
    - variadas formas de vida
    - fonte de energia é a redução aeróbica e anaeróbica de  $\text{CO}_2$  a carbono orgânico, usando compostos inorgânicos reduzidos por via geoquímica
  - sistema quimiosintético que não recorre à energia solar, nem directa nem indirectamente

# Microbiologia marinha



Microbiologia de sistemas aquáticos

## Microbiologia marinha

- Características das bactérias marinhas:
  - muitas bactérias marinhas necessitam de Na, K e Mg
  - algumas também necessitam de  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Fe}^{3+}$
  - maioria da matéria orgânica nos oceanos é produzida até aos 300 m
    - 80% dessa matéria metabolizada antes de cair para maiores profundidades
    - pouca matéria orgânica a grandes profundidades
      - maioria das bactérias adaptadas a essas condições
      - inibidas por concentrações mais elevadas
    - muitas bactérias marinhas são psicrotróficas ou psicrófilas



# Microbiología estuarina

Microbiología de  
sistemas acuáticos

## Microbiologia estuarina

- Estuários são locais onde se dá precipitação de sedimentos
- Interface entre habitats marinhos e de água doce
  - organismos adaptados a estas condições, mas também organismos de água doce e de água salgada
- Elevado nível de nutrientes atrai muitos organismos
  - material vegetal das margens degradado por microrganismos
  - nutrientes transportados pela corrente do rio e pelas marés
    - usados pelo plancton e plantas fotossintéticas para seu crescimento
- Baixa diversidade de espécies como resultado de:
  - salinidade
  - temperatura

## Microbiologia estuarina

- As rápidas variações nas propriedades físicas e químicas dos estuários levam ao estabelecimento de comunidades microbianas únicas
  - algas
  - diatomáceas
  - bactérias



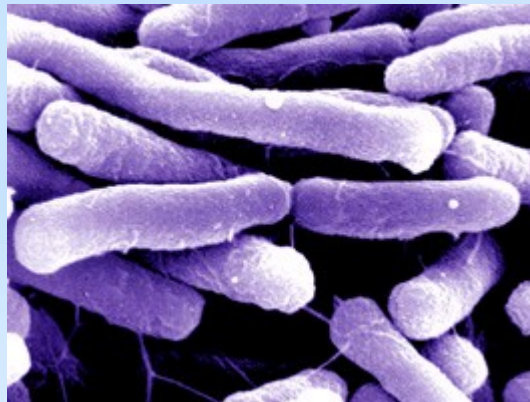
# Patogénios na água





## Patogénios na água

- 40% da contaminação das águas provém de microrganismos patogénicos
- Transmissão de patogénios da água pode ser epidémica ou endémica
- Propagação pode ser um ciclo vicioso
  - introduzidos nas fontes de água a partir de efluentes domésticos
  - infectam parte da população
  - população reintroduz resíduos contaminados nas fontes de água



## Patogénios na água

- Maioria dos patogénios da água são vírus, bactérias ou protozoários
- provocam sobretudo doenças intestinais

Agente	Doença
<b>Vírus</b>	
Hepatite A	Hepatite infecciosa
Polio	Poliomielite
<b>Bactérias</b>	
<i>Salmonella typhi</i>	Febre tifóide
<i>Shigella sp.</i>	Shigelose
<i>Salmonella paratyphi</i>	Salmonelose
<i>E.coli</i>	Gastroenterite
<i>Campylobacter sp.</i>	
<i>Francisella tularensis</i>	Tularemia
<i>Leptospira sp.</i>	Tularemia
<i>Vibrio comma</i>	Cólera
<b>Protozoários</b>	
<i>Entamoeba histolytica</i>	Desenteria
<i>Giardia lamblia</i>	Giardiase

## Patogénios na água

### •Vírus

- encontram-se em esgotos e rios poluídos
- difícil testar água para a presença de vírus
- um único vírus poderá ser suficiente para provocar uma infecção

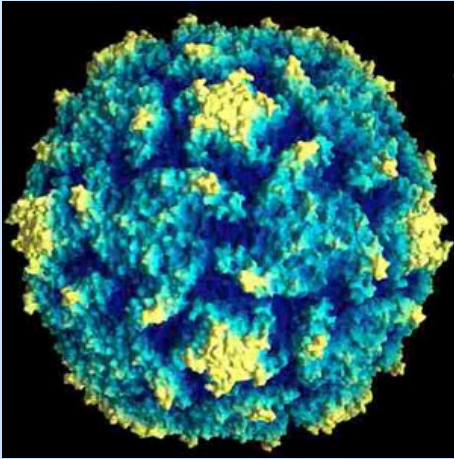
### •Bactérias

- maior grupo de patogénios da água
- necessárias várias centenas ou milhares para causar uma infecção

### •Protozoários

- encontram-se geralmente em forma de quistos, após ingeridos
- pequeno número suficiente para provocar infecção

# Patogénios na água



Vírus da poliomielite



*Salmonella typhi*



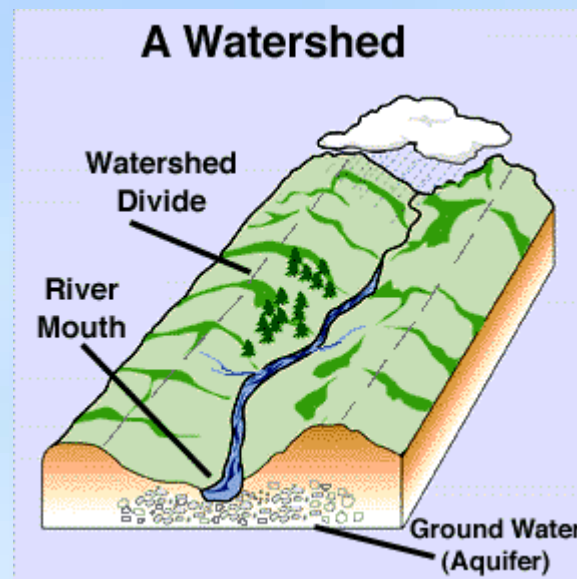
*Giardia lamblia*

## Patogénios na água

- Existem em baixas concentrações na água
- Maioria dos testes para patogénios na água são de pouca confiança e lentos
  - necessidade de um **organismo indicador**
    - está presente simultaneamente com o patogénio
    - não está presente se o patogénio não estiver
    - tem características constantes
    - não é prejudicial ao ser humano
    - presente em maior número que o patogénio
    - é fácil, rápida e rigorosamente detectado

## Patogénios na água

- Para além dos esgotos, patogénios podem provir de:
  - vertentes com vida selvagem
  - quintas
  - lixeiras
  - fossas sépticas
- Águas subterrâneas contêm menos patogénios devido à sua acção filtrante



## Patogénios na água

- Mais de 50% dos patogénios da água morre em 2 dias; 90% morre numa semana
  - reservatórios de armazenamento são eficazes para os controlar
  - fontes de água podem ser desinfectadas por cloro ou ozono
    - cloração deixa resíduos clorados na água, os quais protegem de recontaminação
    - cloração conduz à formação de trihalometanos, alguns dos quais carcinogénios
    - ozono é mais eficaz contra vírus e protozoários
    - ozono é caro
    - frequente utilização conjunta

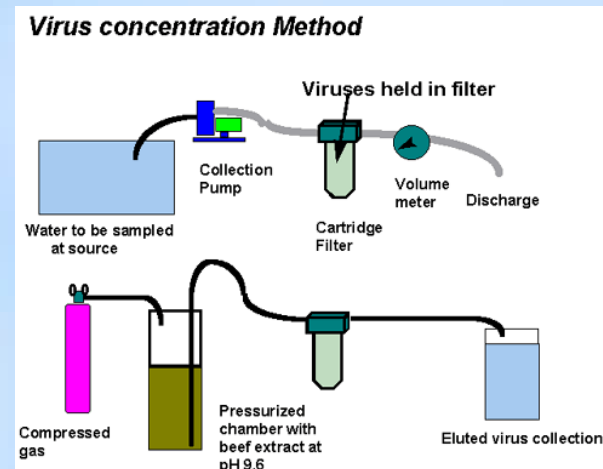
## Patogénios na água

- Outros sistemas germicidas:
  - radiação UV
  - prata
  - radiação ionizante
  - filtração



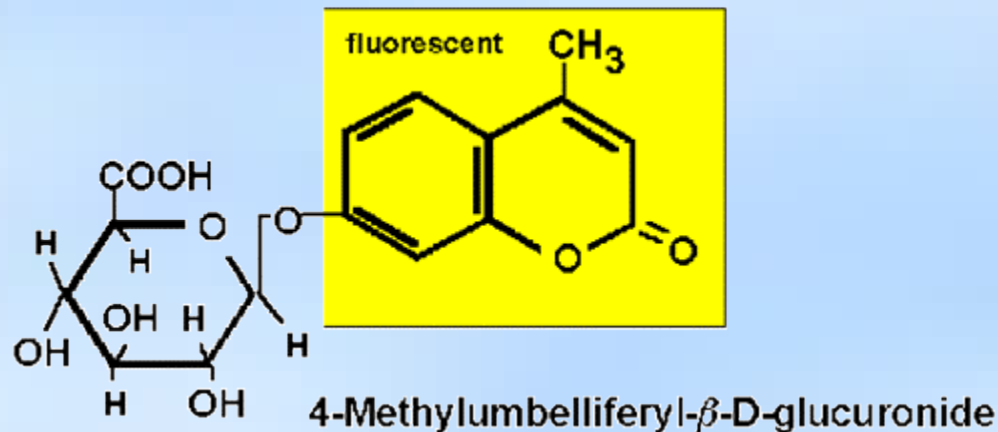
# Patogénios na água

- Métodos para detecção de vírus e bactérias patogénios em amostras de água:
  - vírus
    - primeiro passo é a concentração dos vírus por métodos electrostáticos
    - detecção efectuada por cultura dos vírus em tecidos humanos ou de primatas
    - mais recentemente, têm sido usados a imunofluorescência, ELISA, sondas de ácidos nucleicos, PCR, ...

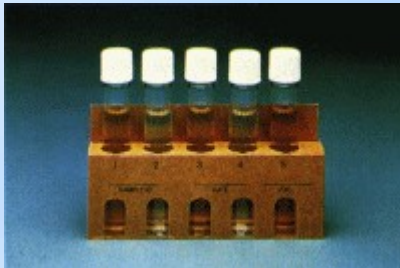
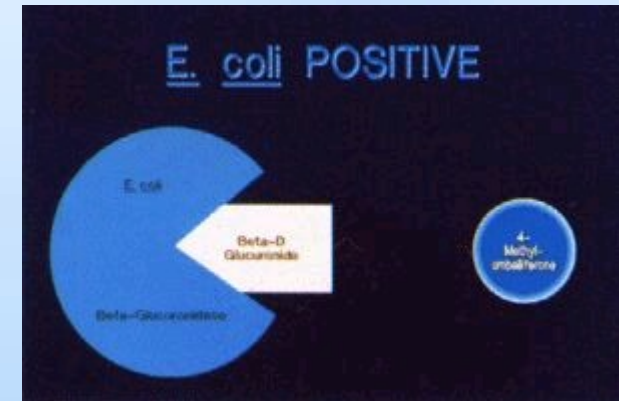
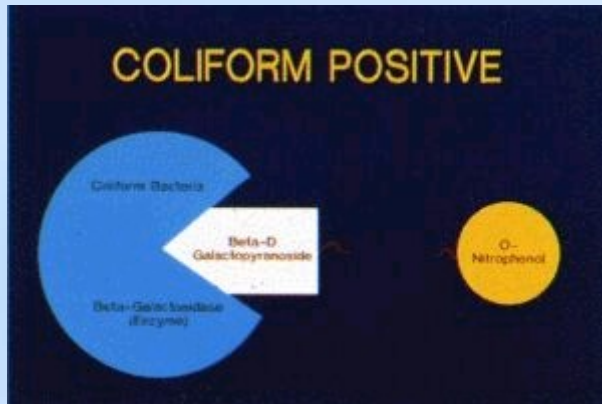


## Patogénios na água

- bactérias
  - mais vulgar é o teste de coliformes
  - testes mais rápidos demoram 24 h
    - por vezes demasiado lento
  - testes mais rápidos foram desenvolvidos
    - baseados na capacidade que as bactérias têm de hidrolisar compostos que servem de marcadores
      - 4-metilumbeliferona- $\beta$ -D-galactosido
      - 4-metilumbeliferil- $\beta$ -D-glucoronido



# Patogénios na água

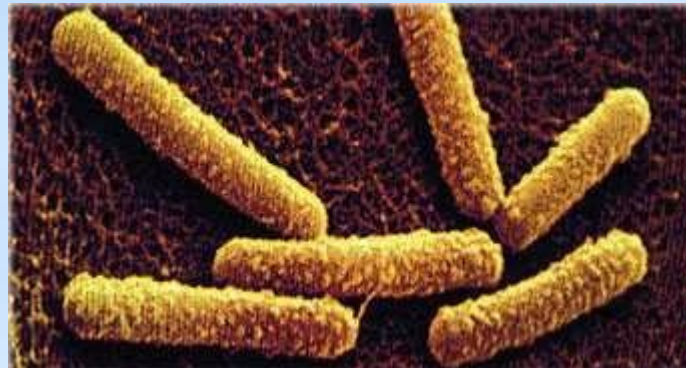


## Patogénios na água

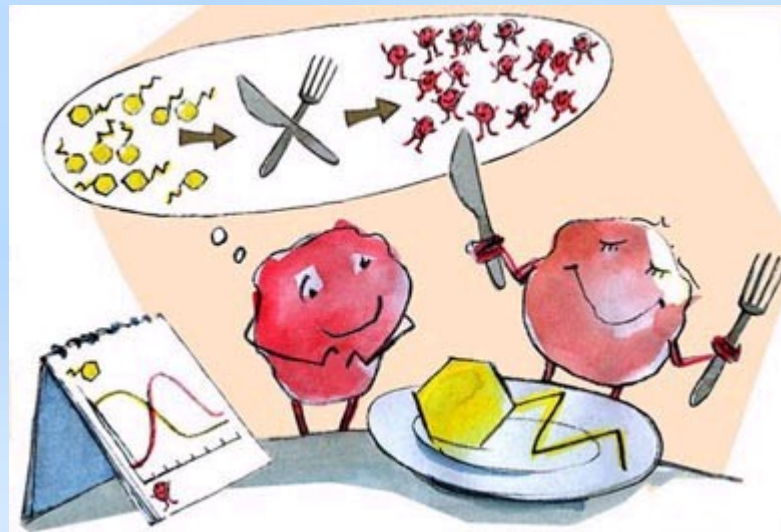
- Métodos para detecção de protozoários em amostras de água:
  - não existem métodos de cultura para *Giardia* nem *Cryptosporidium*
  - único método de detecção é o exame microscópico da água

## Patogénios na água

- Os 4 géneros de coliformes não têm o mesmo período de persistência na água
  - *Escherichia coli* mais sensível a stress ambiental
  - *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Enterobacter* são mais persistentes e tendem a crescer em águas ricas em matéria orgânica
- podem formar biofilmes nos sistemas de distribuição
  - tornam-se resistentes à cloração e outros métodos de desinfecção

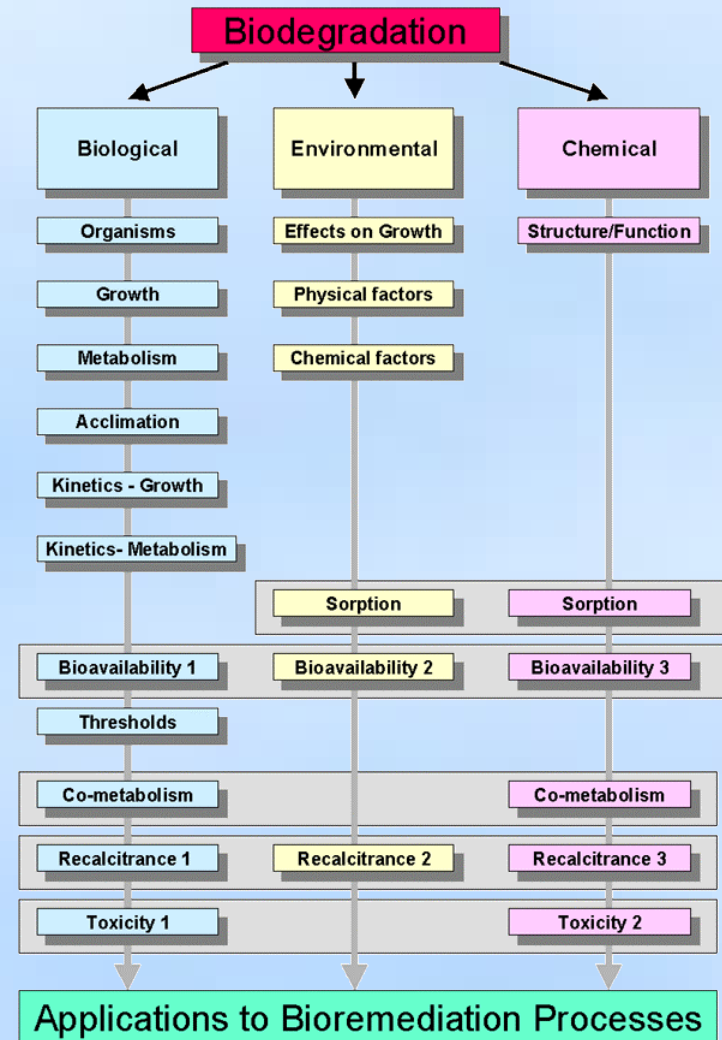


# Biodegradação



# Biodegradação

- Conversão total ou parcial de um composto nos seus elementos
- geralmente mediada por microrganismos



## Biodegradação

- Xenobióticos e xenoforos
  - moléculas novas no ambiente tendem a ser mais resistentes que as mais antigas
  - microrganismos ainda não “adaptaram” vias de biodegradação às novas moléculas
    - causa da existência de poluentes como DDT, PCBs
  - adição de certos grupos substituintes em posições específicas das moléculas torna-as mais persistentes
  - halogénios, nitritos, grupos metoxilo, grupos ácido sulfónico, ...



## Biodegradação

- Factores físicos
  - pH, temperatura, pressão osmótica, pressão, salinidade, humidade do solo afectam a capacidade biodegradativa
- Factores químicos
  - nutrientes,  $[O_2]$ , potencial redutor do ambiente, presença de compostos tóxicos, compostos inorgânicos, pH, níveis de  $CO_2$  e outros gases
  - afectam a capacidade dos microrganismos degradarem substratos

# Biodegradação

## • Metabolismo

- enzimas hidrolíticas excretadas pelos microrganismos degradam macromoléculas em moléculas mais pequenas e solúveis
  - degradação da celulose e linhina
- moléculas mais pequenas insolúveis podem entrar nas células por 3 mecanismos:
  - a pequena quantidade solúvel em água entra na célula
    - restante só pode entrar após partição na fase aquosa
  - microrganismos excretam compostos que convertem a molécula em pequenas gotículas, as quais podem ser assimiladas pelos organismos
  - passagem directa através da membrana celular
    - solubilização na fase lipídica das membranas

# Biodegradação

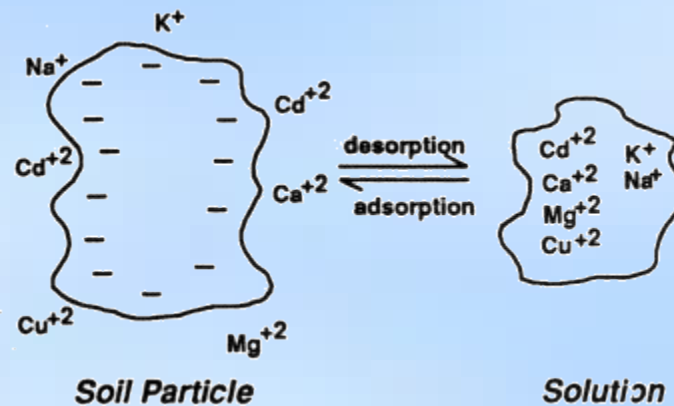
## • Aclimatação

- alguns compostos (especialmente pesticidas) sofrem degradações mais rápidas após a primeira aplicação
- razões:
  - crescimento inicial de pequenas populações microbianas, com capacidade para metabolizar o composto
  - presença de compostos tóxicos (incluindo o próprio composto a degradar)
    - inibição de alguns dos microrganismos capazes de degradação)
  - processos de mutação e selecção microbiana
  - microrganismos degradam primeiro substratos mais facilmente metabolizáveis
  - indução enzimática e fase “lag”

# Biodegradação

## • Sorção

- interacção de um contaminante com um sólido
- **adsorção**
  - excesso de concentração do contaminante na superfície de um sólido
- **absorção**
  - penetração mais ou menos uniforme de um contaminante no sólido



## Biodegradação

- superfícies arenosas são pouco sortivas
- lamas e argilas (sobretudo aquelas com muita matéria orgânica) são fortemente sortivas
- coeficiente de sorção  $k_p$ 
  - descreve a distribuição de contaminantes entre a água e a matriz sólida
- fenômenos de sorção podem interferir nos processos de bioremediação, que necessitam de bombear a água para a superfície

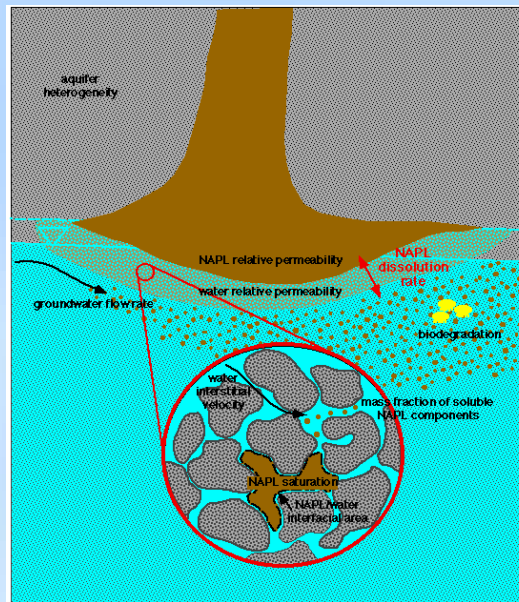
$$K_p = \frac{\text{Concentration}_{\text{Solid Phase}}}{\text{Concentration}_{\text{Solution}}}$$

# Biodegradação

- Biodisponibilidade
  - razões pelas quais um composto pode não ser biodegradável:
    - falta dos nutrientes necessários
    - condições ambientais inadequadas
    - concentração demasiado elevada de substâncias tóxicas
    - composto pode estar em concentração demasiado baixa
    - composto pode não ser biodisponível

# Biodegradação

- Biodisponibilidade depende de:
  - sorção em materiais sólidos
  - presença em líquidos não aquosos
    - geralmente derivados do petróleo
  - retenção em matrizes sólidas ou líquidas
  - complexação

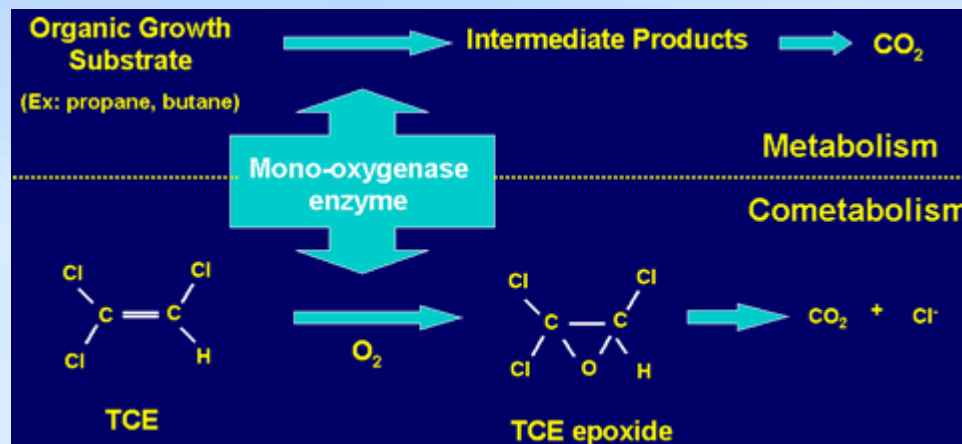


This figure depicts the pore- and field-scale limitations on NAPL dissolution. At the pore scale, past research has indicated that aqueous phase interstitial velocity, the interfacial area between the NAPL and water phases, NAPL saturation, and the mass fraction of soluble NAPL components, can all limit the rate of dissolution. Due to the difficulty involved in analyzing field-scale NAPL dissolution, we can only infer the field-scale limitations on NAPL dissolution. Past research has indicated that the bulk aqueous phase flow rate, fluid relative permeabilities, aquifer heterogeneity, and the rate of biodegradation, could limit field-scale NAPL dissolution.

# Biodegradação

## • Co-metabolismo

- transformação de um composto orgânico por um microrganismo incapaz de usar o substrato ou um dos seus elementos constituintes como fonte de energia
- microrganismo não prolifera
- microrganismo cresce por utilização de outro substrato, ao mesmo tempo que co-metaboliza o composto em questão





# Biodegradação

- Mecanismos de co-metabolismo
  - enzimas alteram o substrato para um produto que não pode ser metabolizado pelas outras enzimas do organismo
  - substrato original transformado num produto que inibe as enzimas seguintes na sequência metabólica ou que inibe o crescimento do organismo
  - o organismo necessita de um segundo substrato (que não está disponível) para uma reacção subsequente

# Biodegradação

- Toxicidade

- dados sobre toxicidade de substâncias químicas

- <http://www.epa.gov/iris/stand-al.htm>



Microbiologia de  
sistemas aquáticos

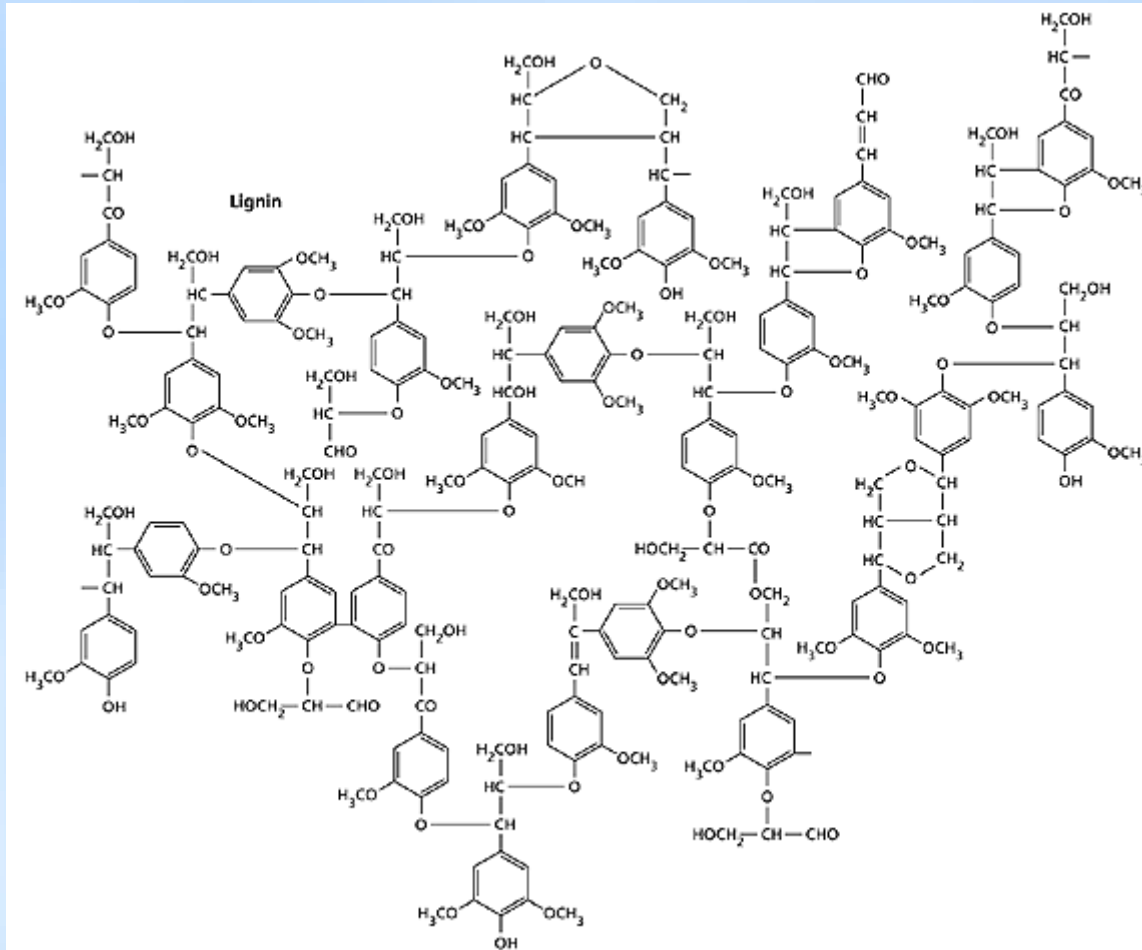
## Biodegradação

- Degradação microbiana de contaminantes é uma importante via para a sua remoção do ambiente
- Série complexa de reacções bioquímicas
  - por vezes variam de microrganismo para microrganismo



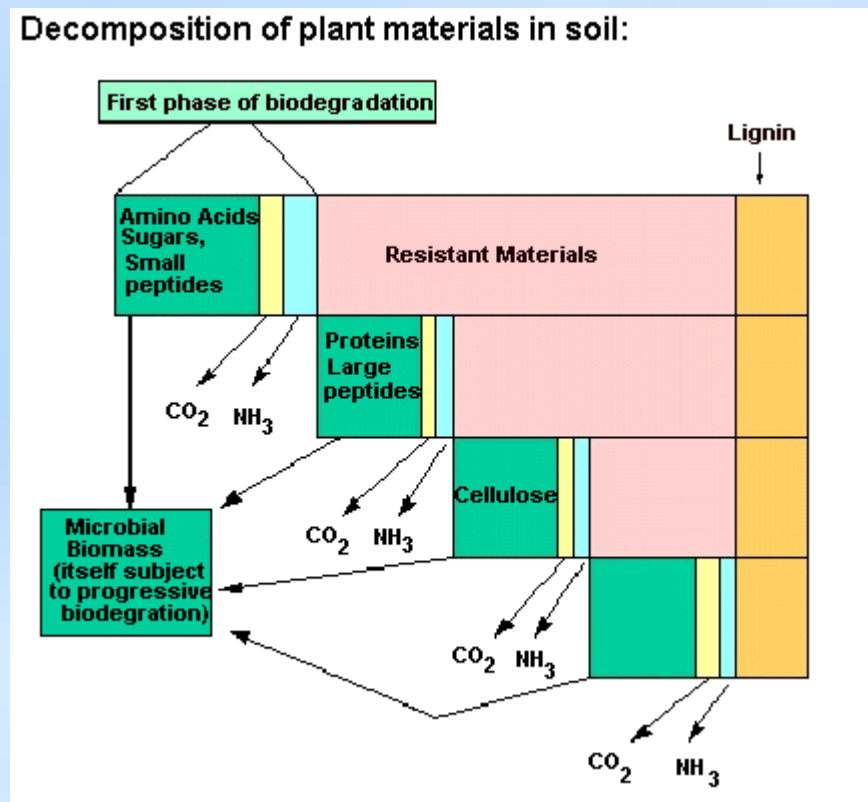
# Biodegradação

- Biodegradação de compostos naturais
  - **linhina** é um polímero complexo originado na decomposição de material vegetal na água ou no solo



# Biodegradação

- moléculas de linhina degradadas por alguns fungos e bactérias



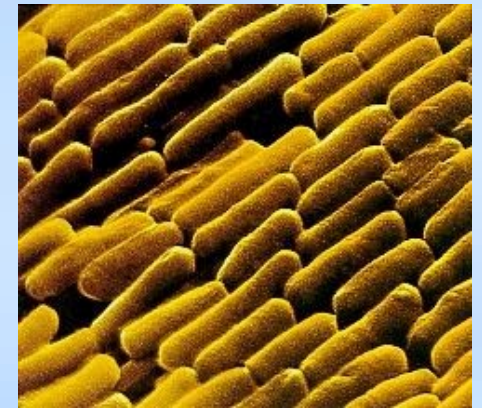
# Biodegradação

- fungos de decomposição branca:
  - *Agaricaceae*
  - *Hydnaceae*
  - *Polyporaceae*
  - *Thelephoraceae*
  - *Chaetomium spp.*
  - *Paecilomyces*
  - *Allescheria spp.*



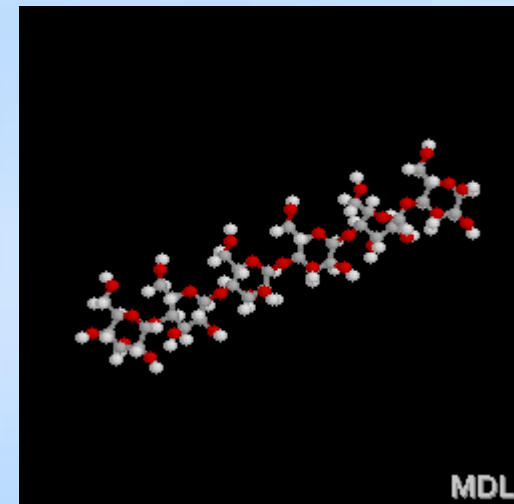
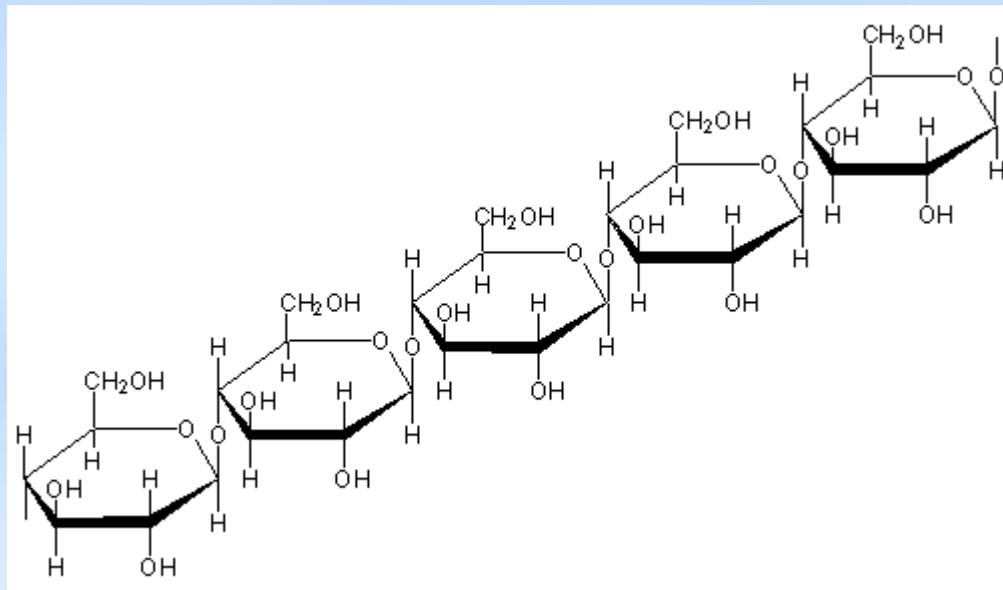
# Biodegradação

- bactérias:
  - *Pseudomonas*
  - *Xanthomonas*
  - *Acinetobacter*
  - *Bacillus*
  - *Arthrobacter*
  - *Micrococcus*
  - *Aeromonas*
  - *Chromobacterium*
  - *Flavobacterium*



# Biodegradação

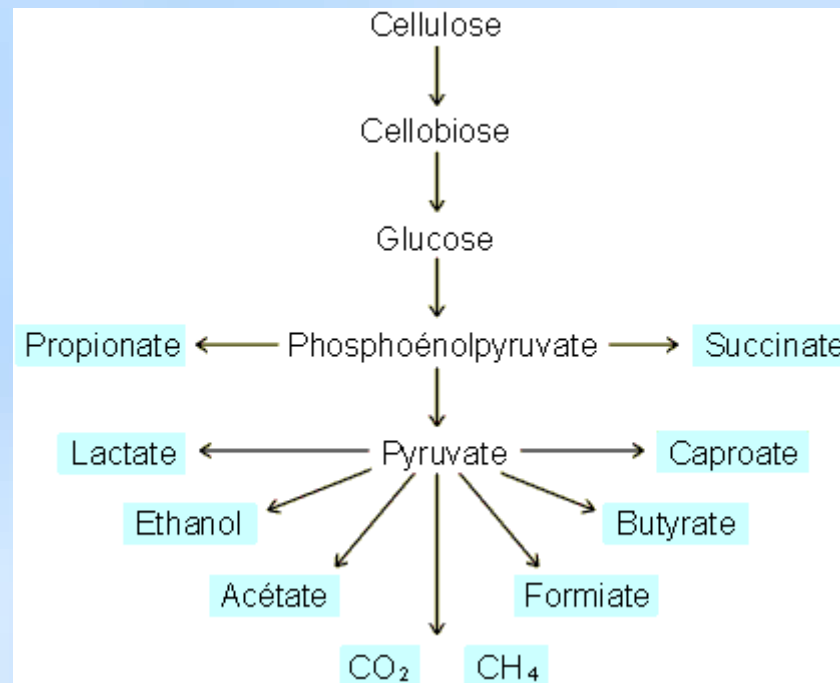
- Biodegradação de compostos naturais
  - **celulose** é um hidrato de carbono constituído por unidades de glucose ligadas numa cadeia linear por ligações glicosídicas  $\beta$  1-4





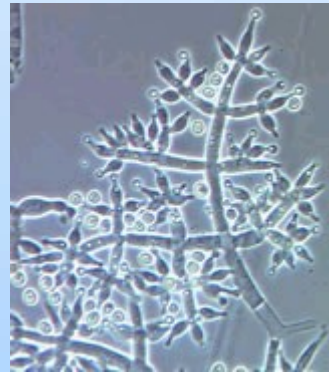
# Biodegradação

- celulose é degradada por diversos fungos e bactérias e em diversas condições ambientais



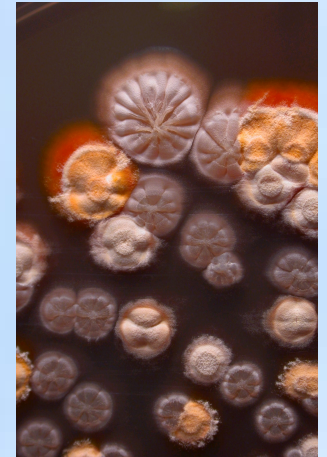
## Biodegradação

- fungos activos na decomposição da celulose, no solo:
  - *Trichoderma*
  - *Chaetomium*
  - *Aspergillus*
  - *Fusarium*
  - *Phoma*



## Biodegradação

- bactérias que efectuam degradação aeróbica de celulose:
  - *Streptomyces*
  - *Cytophaga*
  - *Cellulomonas*
  - *Nocardia*
  - *Vibrio*
    - CO<sub>2</sub> é o principal produto de decomposição
    - degradação aeróbica mais eficaz que a anaeróbica
      - maior formação de CO<sub>2</sub> e biomassa



© 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

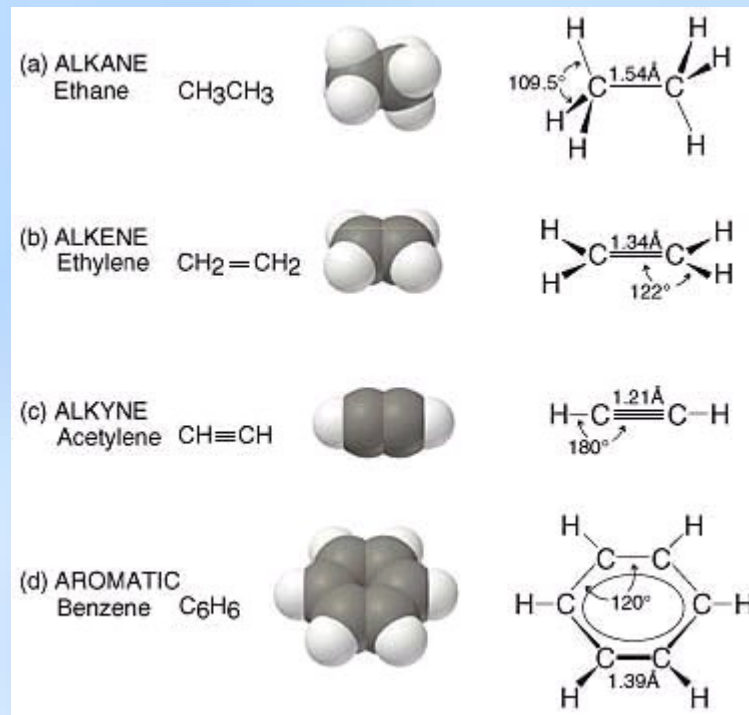
## Biodegradação

- bactérias que efectuam degradação anaeróbica de celulose:
  - *Clostridium*
    - *C. thermocellum* degrada celulose a temperaturas muito elevadas
    - ácidos gordos de baixo peso molecular e  $\text{CO}_2$  são os principais produtos de decomposição



# Biodegradação

- Biodegradação de compostos naturais
  - **hidrocarbonetos** são compostos constituídos apenas por átomos de C e H



## Biodegradação

- relevância da microbiologia de hidrocarbonetos:
  - derrames de petróleo
  - degradação do petróleo armazenado
  - uso de hidrocarbonetos para produção de alimentos por via microbiana
  - prospecção de petróleo através da distribuição microbiana no solo e no ar
  - utilização de bactérias para libertar petróleo da areia
  - produção de metano a partir de resíduos

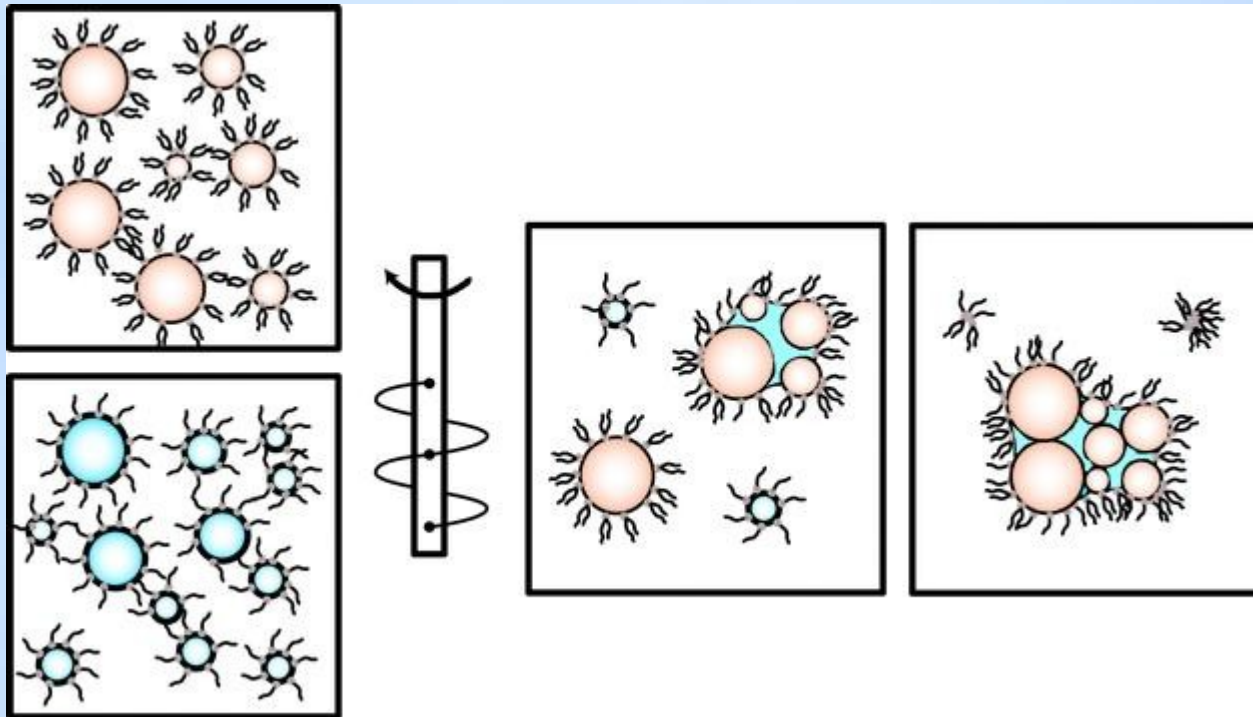


## Biodegradação

- mecanismos de degradação de hidrocarbonetos:
  - degradação só ocorre em água
  - não há crescimento microbiano em hidrocarbonetos
  - todos os hidrocarbonetos são parcialmente solúveis em água
    - permite iniciar o processo de degradação
  - formação de emulsão necessária para a degradação
    - **emulsão óleo em água**
      - mais comum
      - ocorre quando pequenas quantidades de óleo estão suspensas em grandes quantidades de água
    - **emulsão água em óleo**
      - gotículas de água suspensas numa matriz de óleo



# Biodegradação






## Biodegradação

- problema dos **derrames de petróleo** causado por emulsões água em óleo
- camada espessa de petróleo na superfície da água liga-se a 50% do seu peso em água e fica a flutuar como um líquido oleoso
- pode espalhar-se pela superfície da água formando um filme
  - eventualmente dispersa-se e é degradado
- quando o teor de água atinge 80% torna-se uma massa semi-sólida espessa



## Biodegradação

- diversos microrganismos têm capacidade de degradação de hidrocarbonetos
- bactérias autotróficas
  - *Thiobacillus* e *Desulfovibrio* capazes de metabolizar o enxofre contido no crude
  - *Thiobacillus* metaboliza S a  $H_2SO_4$
  - *Desulfovibrio* faz metabolização anaeróbica do  $H_2SO_4$  a  $S^{2-}$
  - ácido sulfúrico e sulfureto podem atacar os metais que contêm e transportam petróleo
  - cuidado de não ter água presente 



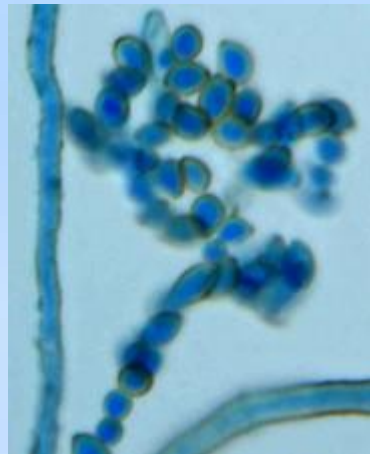
## Biodegradação

- bactérias heterotróficas
  - utilizam hidrocarbonetos como fonte de C e de energia, para produzir biomassa
  - *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Mycobacteria* e actinomicetas



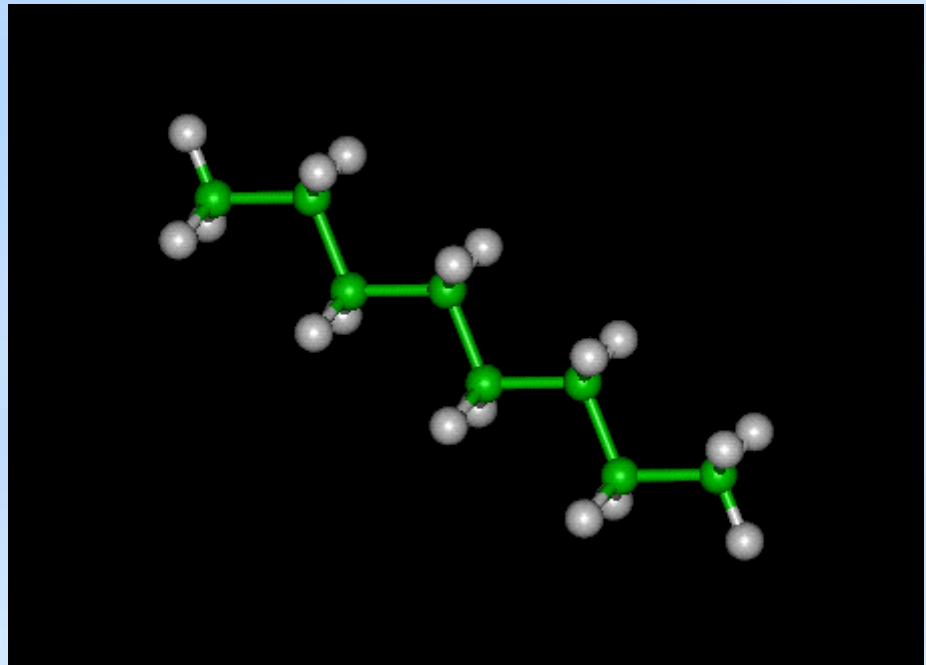
## Biodegradação

- fungos
  - muitas leveduras degradam hidrocarbonetos no solo e na água
  - fungos produtores de micélios
    - *Trichoderma*, *Aspergillus* e *Cladosporium*



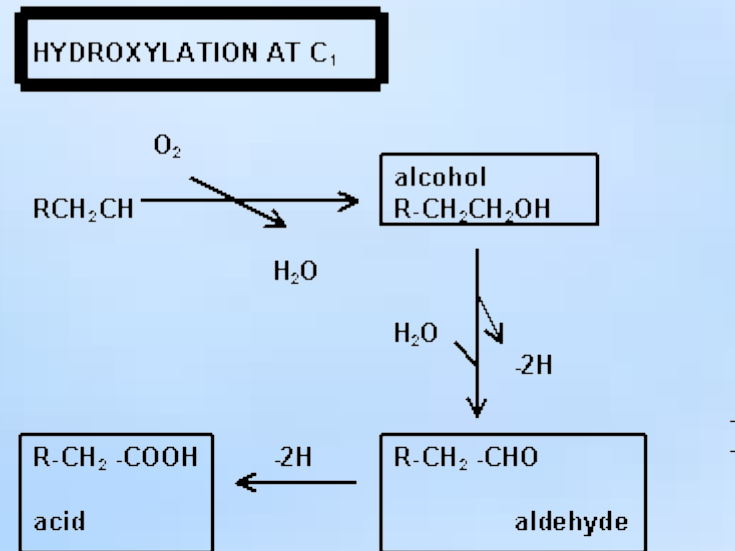
## Biodegradação

- bioquímica da degradação de hidrocarbonetos (**alifáticos**)
- reacções mais frequentes:
  - hidroxilação em C<sub>1</sub>
  - hidroperoxidação
  - desidrogenação
  - reacções subterminais

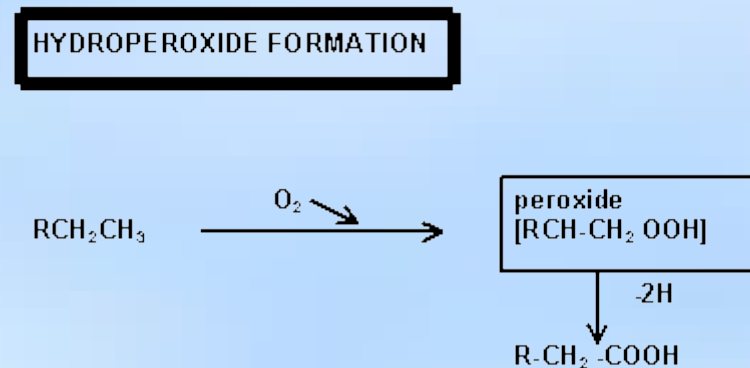


# Biodegradação

- hidroxilação em C<sub>1</sub>



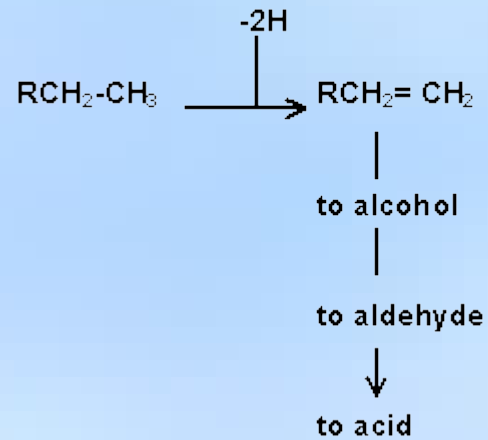
- hidroperoxidação



# Biodegradação

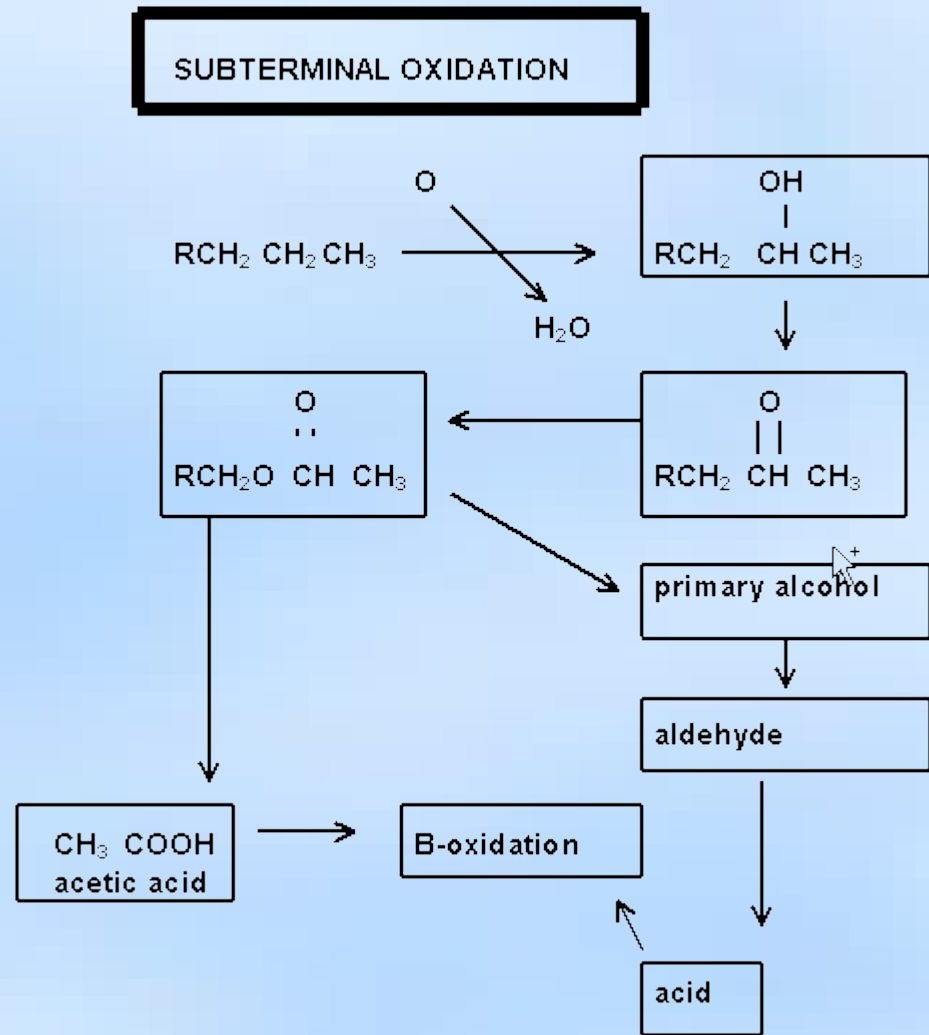
- desidrogenação

## DEHYDROGENATION



# Biodegradação

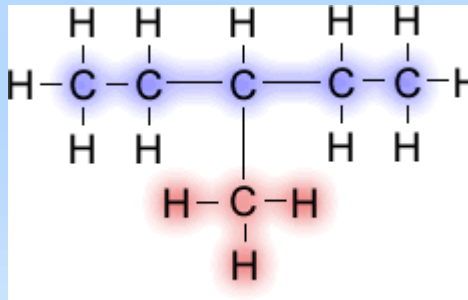
- oxidação subterminal





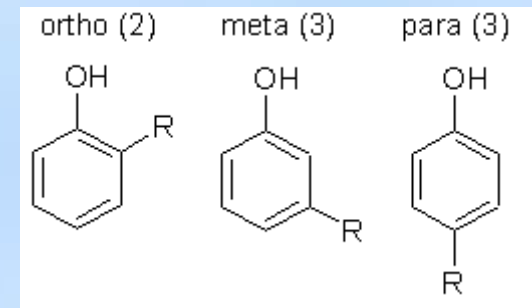
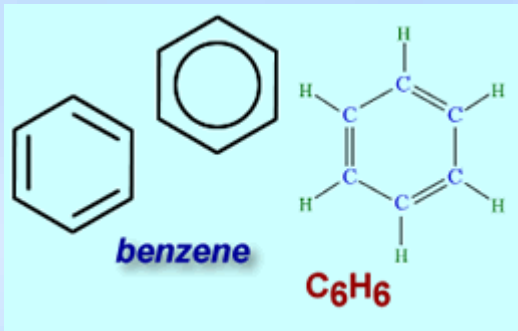
## Biodegradação

- comprimento da cadeia afecta a biodegradabilidade
- diminuição do grau de saturação aumenta a biodegradabilidade
  - alcinos > alcenos > alcanos
- ramificação diminui a biodegradabilidade



# Biodegradação

- bioquímica da degradação de hidrocarbonetos (aromáticos)
- adição de grupos substituintes ao benzeno altera a biodegradabilidade



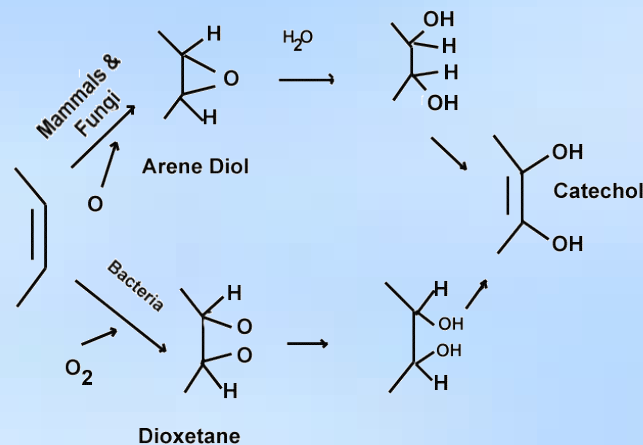
Group added to benzene	Persistence (half-life) Days
-COOH	1
-OH	1
-NO <sub>2</sub>	+64
-NH <sub>2</sub>	4
-OCH <sub>3</sub> (methoxy)	8
-SO <sub>3</sub> H (sulfoxy)	16

## Biodegradação

- efeito dos substituintes:
  - um único substituinte no benzeno afecta a biodegradabilidade na ordem:
    - $\text{COOH}, \text{OH} > \text{NH}_2 > \text{OCH}_3 > \text{SO}_3\text{H} > \text{NO}_2$
  - substituição por halogenetos na posição meta do fenol produz elevada persistência
  - substituições em orto e para têm menos efeito
  - aumento da cloração ou bromação diminui a biodegradabilidade

# Biodegradação

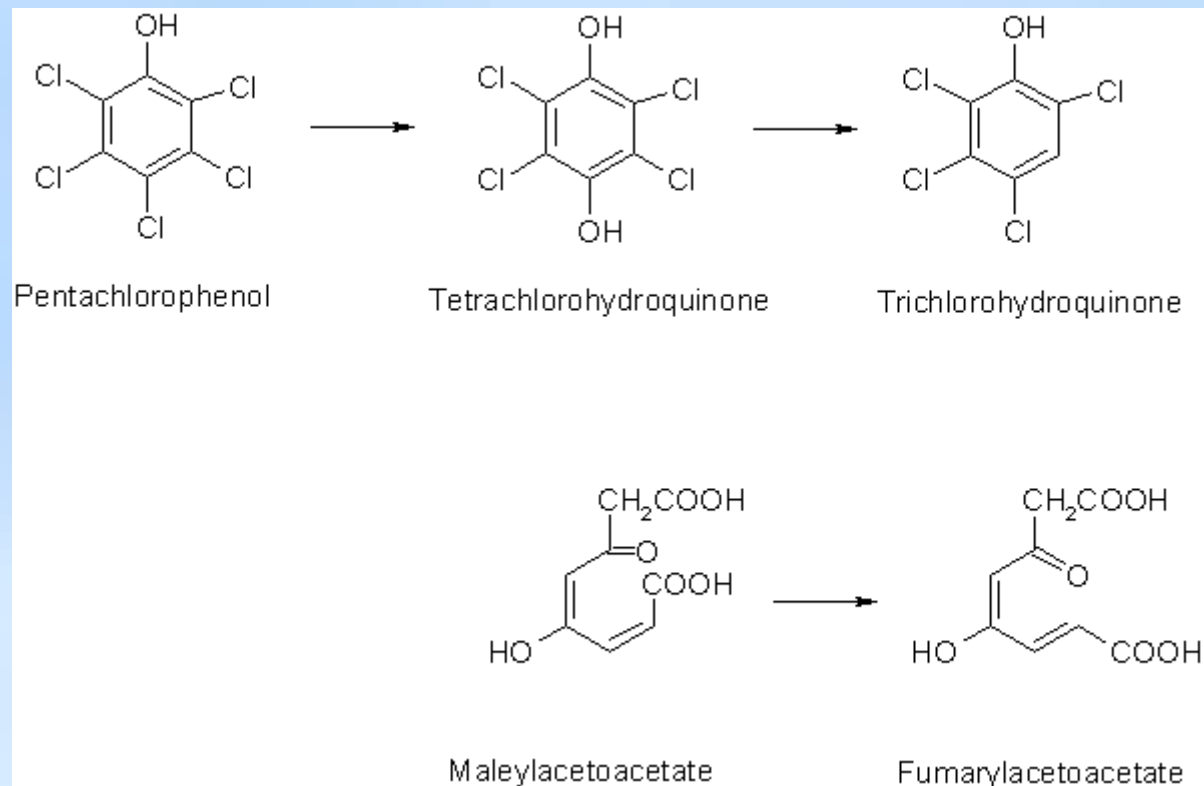
- vias de degradação de hidrocarbonetos aromáticos:
  - na maioria dos casos é formado catecol como intermediário
  - fissão do catecol
    - orto
      - quebra do anel entre os 2 grupos OH
    - meta
      - quebra adjacente aos grupos OH





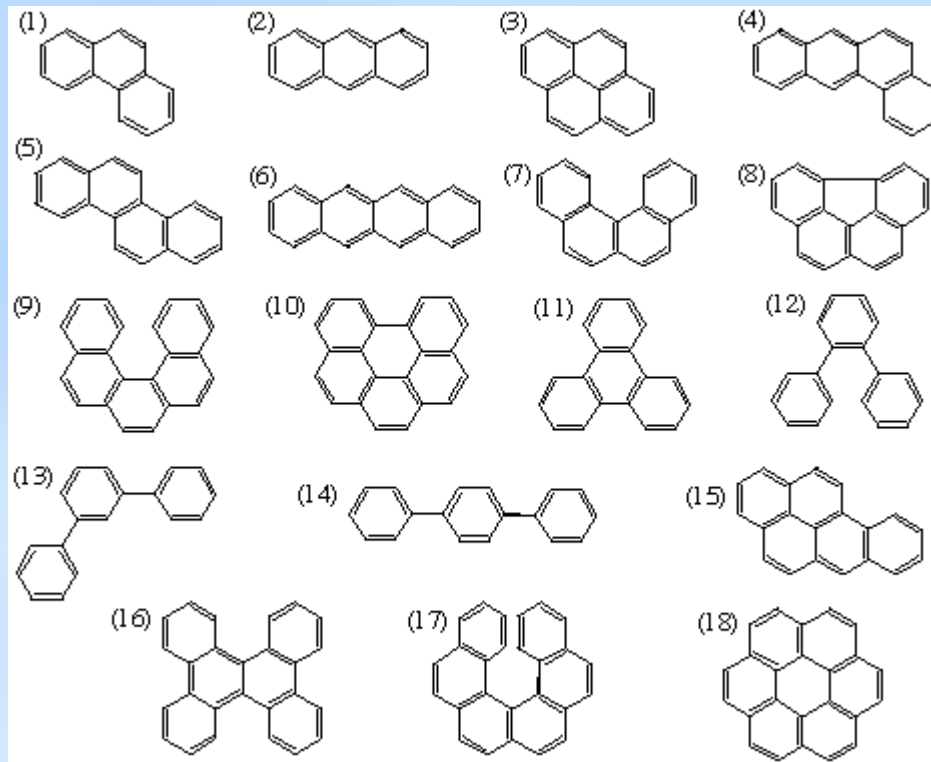
# Biodegradação

- remoção de halogênios é um passo importante na biodegradação de hidrocarbonetos
- processo pode ser aeróbico ou anaeróbico



# Biodegradação

- Biodegradação de compostos naturais
  - hidrocarbonetos poliaromáticos (PAHs) são compostos constituídos por anéis aromáticos (2 – 7) fundidos



# Biodegradação

- PAHs são relativamente resistentes à biodegradação
- biodegradação depende de:
  - nº de anéis
  - nº e posição dos substituintes
  - grau de saturação dos anéis

Oxidation rate	<i>P. putida</i>	<i>Flavobacterium</i> <i>sp.</i>
Compound		
<b>1. a. Effect of number of fused rings on oxidation rate</b>		
Naphthalene	100	79.8
Anthracene	9.8	36
Phenanthrene	67	100
1,2 benzantracene	0	10.1
2,3 benzantracene	2.7	1.1
chrysene	0	27.9
pyrene	1.1	10.1
triphenylene	0	0



# Biodegradação

Oxidation rate	<i>P. putida</i>	<i>Flavobacterium sp.</i>
<b>1. b. Effect of alkyl and phenyl substituents on naphthalene ring oxidation</b>		
1-methylnaphthalene	41.7	60.0
1-ethylnaphthalene	39.0	36.3
1-phenylnaphthalene	0.0	0.0
2-methylnaphthalene	81.0	85.3
2-ethylnaphthalene	70.3	45.0
2-vinylnaphthalene	78.8	40.0
2-phenylnaphthalene	1.4	8.9
1,3-dimethylnaphthalene	39.1	0.0
1,4-dimethylnaphthalene	8.8	19.9
1,5-dimethylnaphthalene	8.8	0.0
1,6-dimethylnaphthalene	1.4	4.4
2,3-dimethylnaphthalene	88.0	84.2
2,6-dimethylnaphthalene	15.5	62.8
2,6-di-tert-butyl-naphthalene	0.0	0.0
2,7-di-tert-butyl-naphthalene	0.0	0.0
2,3,5-trimethylnaphthalene	9.0	17.5
2,3,6-trimethylnaphthalene	7.0	9.6
1,2,3,4-tetramethylnaphthalene	0.0	0.0

# Biodegradação

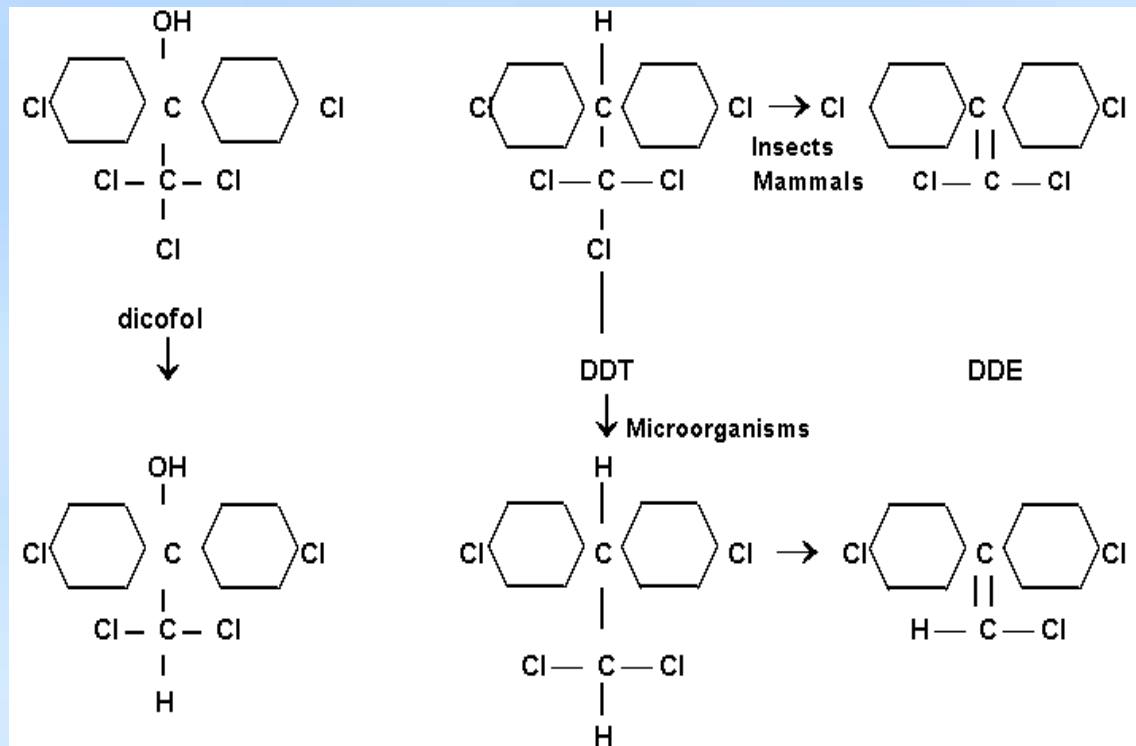
Oxidation rate	<i>P. putida</i>	<i>Flavobacterium sp.</i>
<b>1. c. Effect of position of methyl substituent on oxidation rate</b>		
<b>1. d. Effect of saturation on oxidation rate</b>		
Naphthalene	100	79.8
1,2-dihydronaphthalene	32.2	59.8
Tetralin	15.1	15.2
cis-Decalin	4.4	0
trans-Decalin	4.4	0
Phenanthrene	67.0	0
9,10-dihydrophenanthrene	12.0	23.3
1,2,3,4,5,6,7,8-Octo-phenanthrene	9.3	25.5
Perhydrophenanthrene	1.2	0.7
indene	32.4	14.9
indane	24.6	13.0
Hexahydroindane	6.8	1.0
fluorene	32.4	36.7
perhydrofluorene 0. 3.	0.0	3.0

## Biodegradação

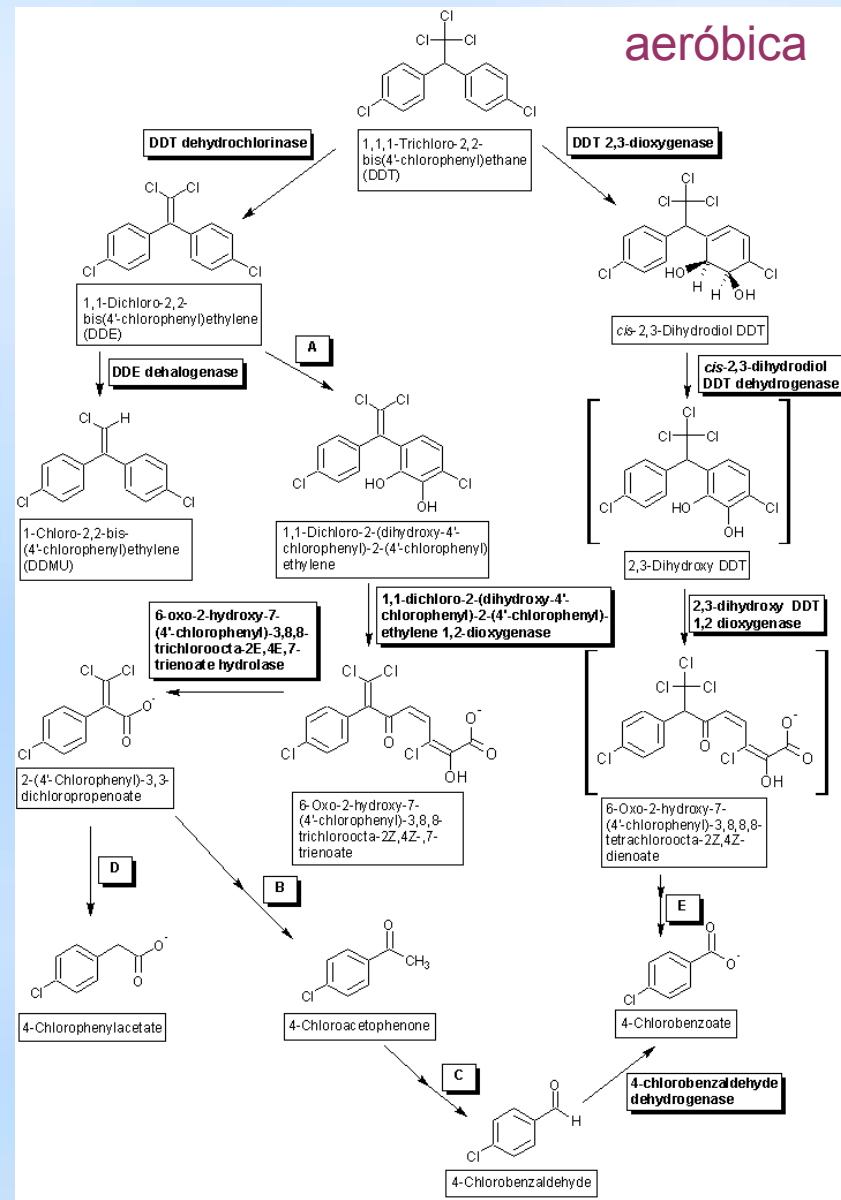
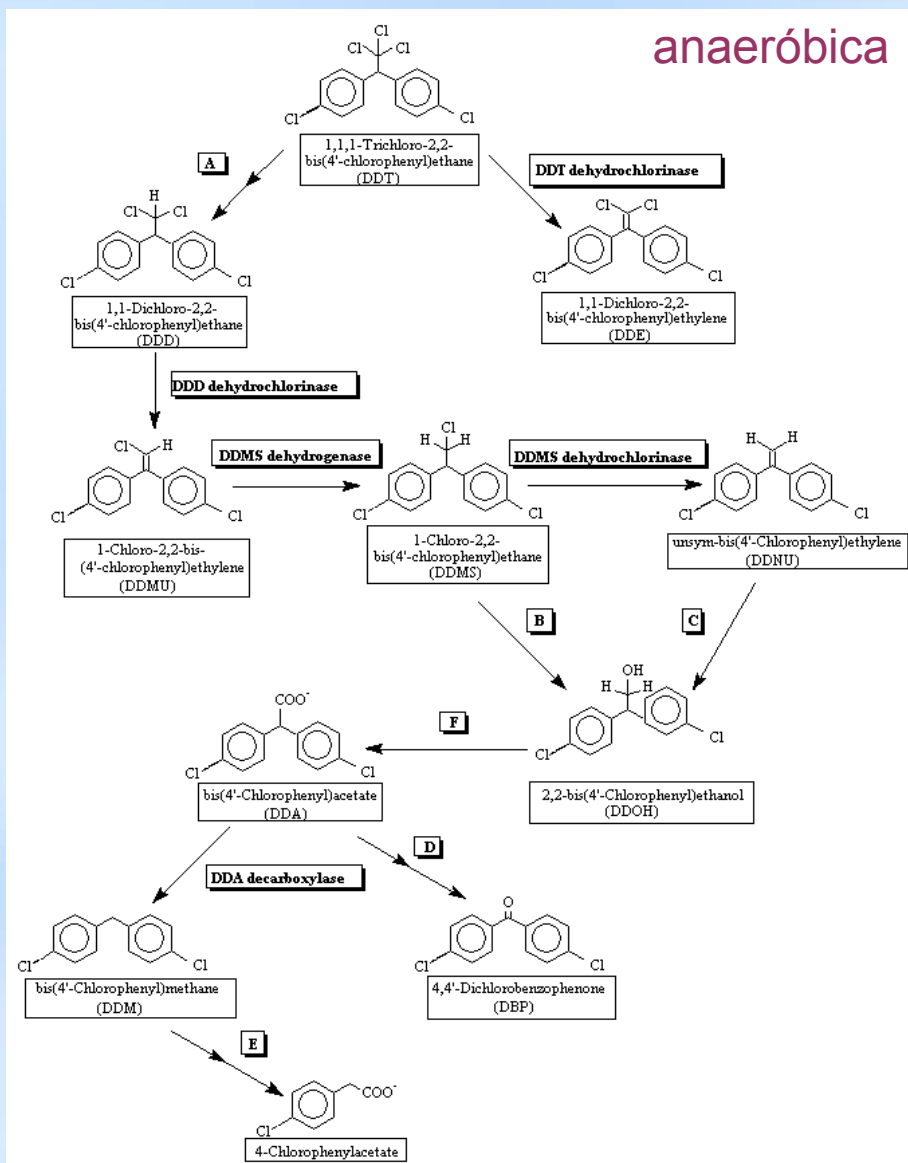
- compostos com mais de 3 anéis são pouco biodegradáveis
- naftalenos substituídos por pequenos grupos alquilo são rapidamente oxidados
- naftalenos com grupos fenilo são muito resistentes
- substituintes na posição 2 permitem oxidação mais rápida que na posição 1
- outros anéis com substituintes metilo sofrem oxidação lenta
- naftalenos substituídos por mais que 1 grupo metilo no mesmo anel são pouco oxidados
- aumento da saturação nos anéis leva a menor oxidação

# Biodegradação

- Biodegradação de compostos naturais
  - **pesticidas**
    - hidrocarbonetos clorados
      - DDT e análogos
        - processo redutor levado a cabo por bactérias no solo e na água

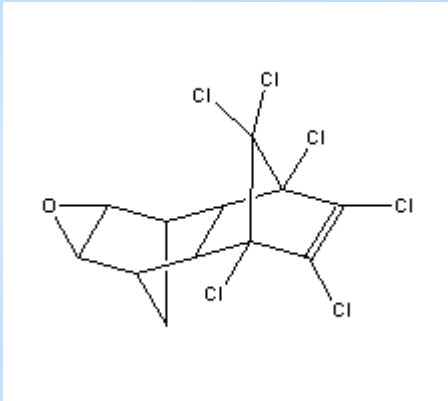


# Biodegradação

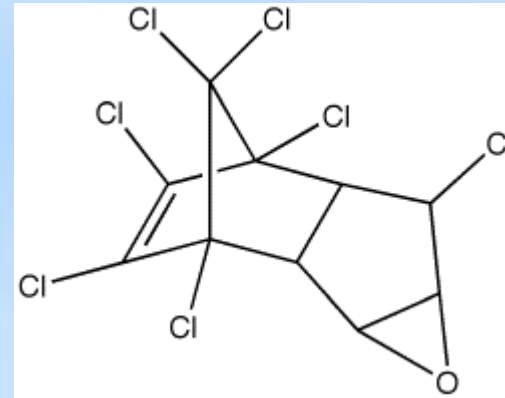


## Biodegradação

- ciclodienos clorados
  - provável degradação microbiana no solo e na água
  - formação de uma estrutura epóxido
    - formas mais estáveis que as originais



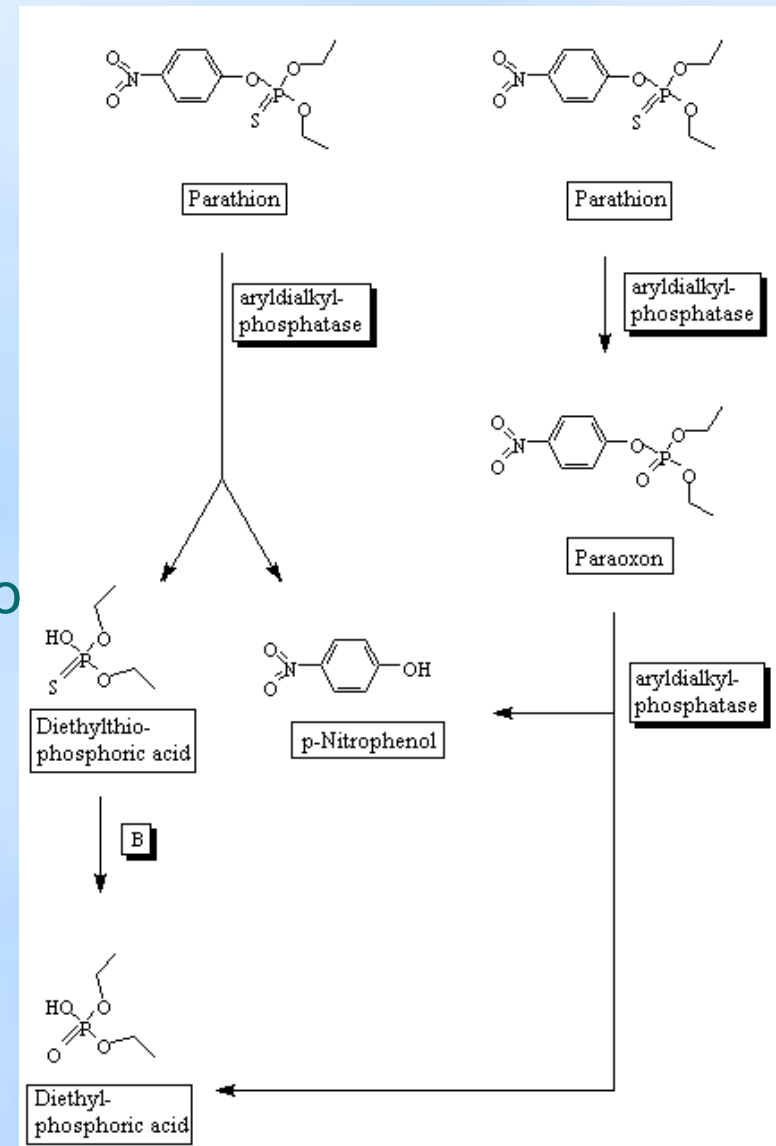
Dieldrina



Epóxido de heptacloro

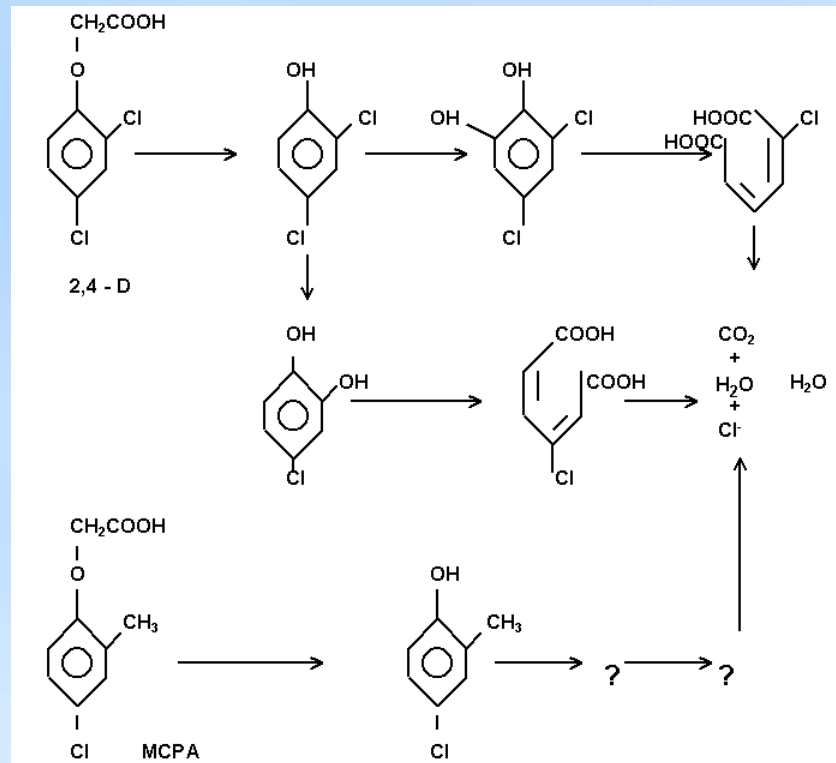
# Biodegradação

- compostos organofosforados
- derivados de **sarin** e **tabun**
- inibem a acetil-colina-esterase
  - metabolizados por diversos microrganismos
    - *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Streptomyces*, *Thiobacillus* e fungos *Trichoderma*
- diferentes vias de decomposição
- formação de muitos produtos diferentes



# Biodegradação

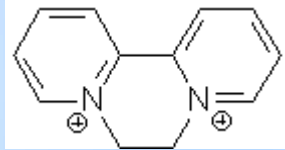
- ácidos fenoxialcanóicos e derivados
- muitos microrganismos com capacidade de degradar os vários componentes do grupo
- 2 vias principais de degradação:
  - via do ácido hidroxifenoxiacético
  - via do fenol



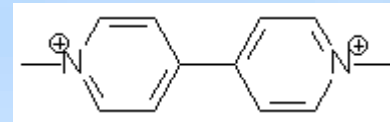


## Biodegradação

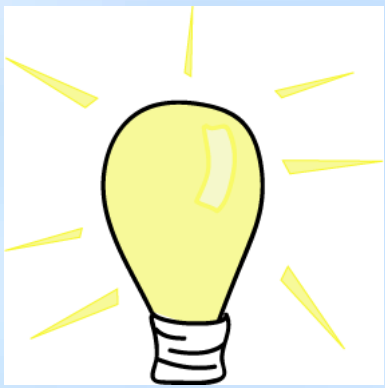
- compostos com estrutura biperidílio
- extremamente resistentes a ataque microbiano
  - decompostos por U.V.



Diquat



Paraquat



## Biodegradação

- A decomposição mediada por microrganismos é o principal, e por vezes único, mecanismo para a remoção ou modificação permanentes de pesticidas em solos
- A mais frequente consequência da actividade microbiana é a mineralização de compostos orgânicos
  - aumenta a produção de biomassa, pois parte do carbono presente nos materiais orgânicos é usado para o crescimento microbiano
  - há libertação de energia, aumentando o número de microrganismos e a biomassa

A microscopic image showing a dense, circular microbial colony with a yellowish center and a blue outer ring. A scale bar at the bottom left indicates 10 μm. A small insect is visible in the top right corner of the image.

# Microbiología sub-superficial profunda

Microbiología de  
sistemas acuáticos

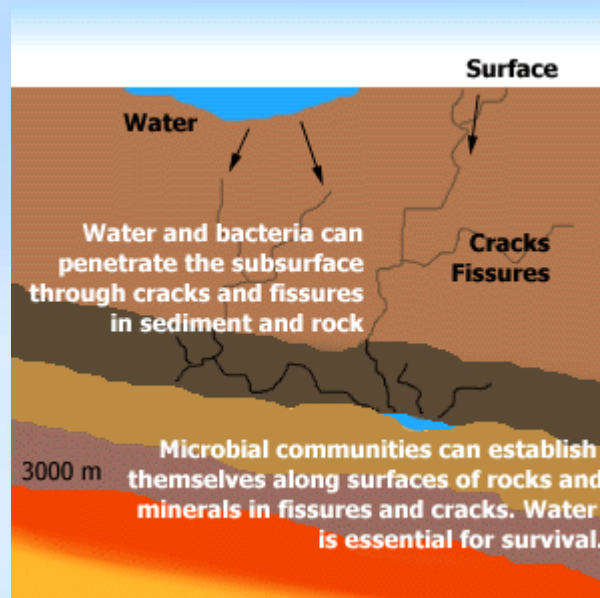
## Microbiologia sub-superficial profunda

- Aquíferos muito profundos (centenas a milhares de metros abaixo da superfície) têm sido investigados para a presença de microrganismos
  - quantidade de bactérias inferior relativamente a níveis mais superficiais
    - maior número encontrado nas camadas arenosas e com maior teor de água
  - foram encontrados coliformes, bactérias metanogénicas e redutoras de sulfato
  - encontram-se mais microrganismos aeróbicos que anaeróbicos
    - sedimentos ricos em  $O_2$

# Microbiologia sub-superficial profunda

## • Possíveis explicações:

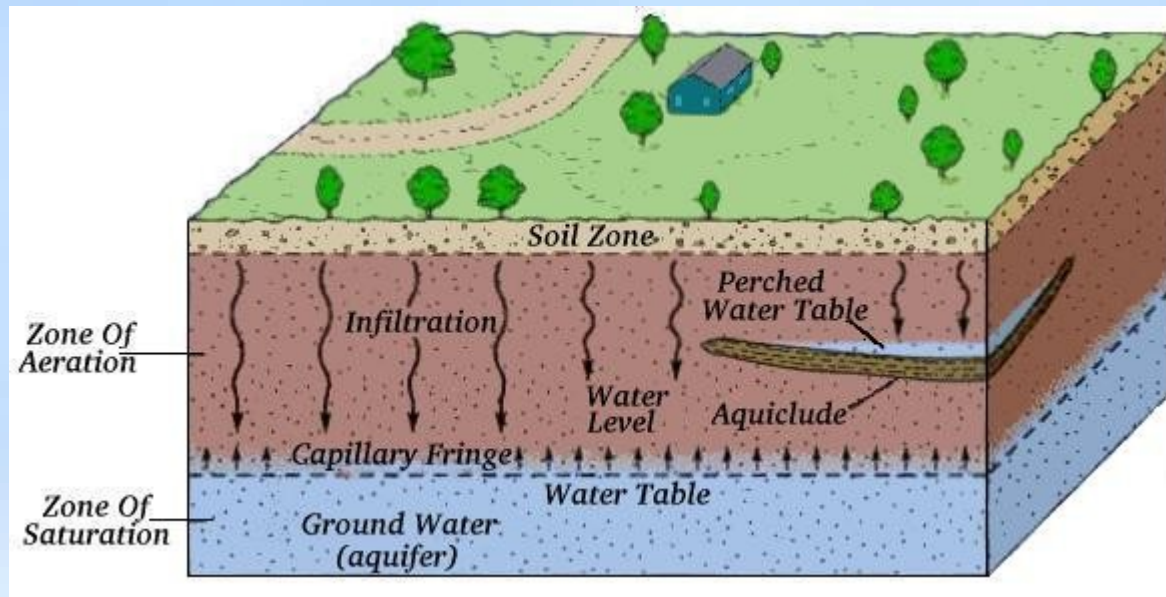
- bactérias incorporadas nos materiais rochosos sedimentares formados há vários milhões de anos, sobrevivendo com uma “dieta pobre”
- bactérias provêm de infiltrações de água superficial
- algumas bactérias crescem lentamente com fontes inorgânicas de energia, produzindo carbono orgânico para outros microrganismos na matriz rochosa



Microbiologia de sistemas aquáticos



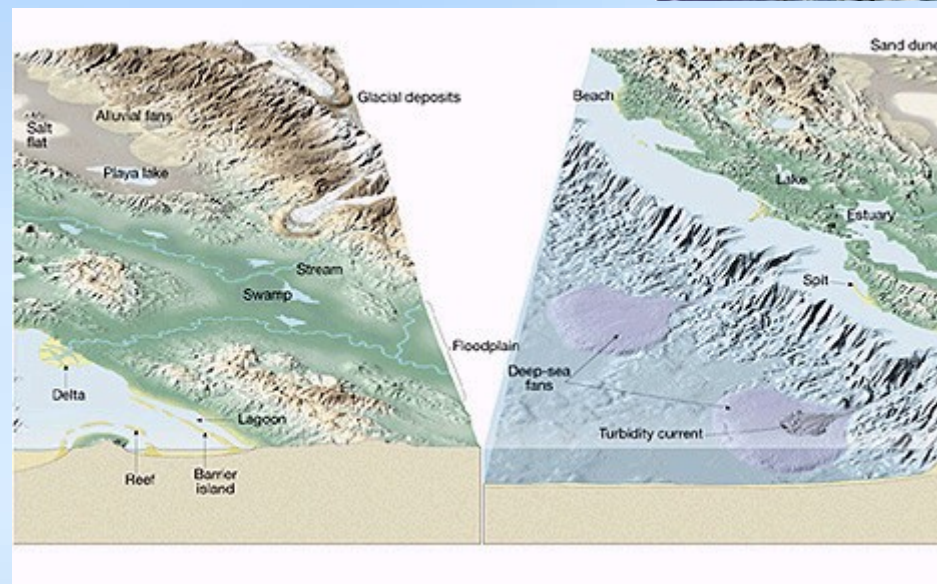
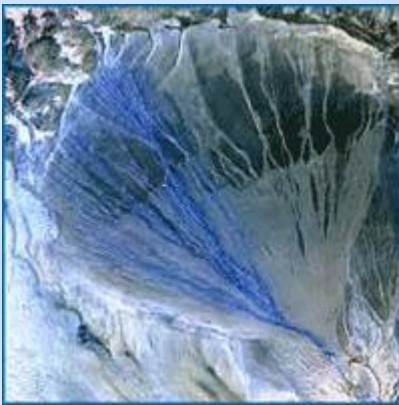
# Microbiologia de águas subterrâneas



Microbiologia de sistemas aquáticos

# Microbiologia de águas subterrâneas

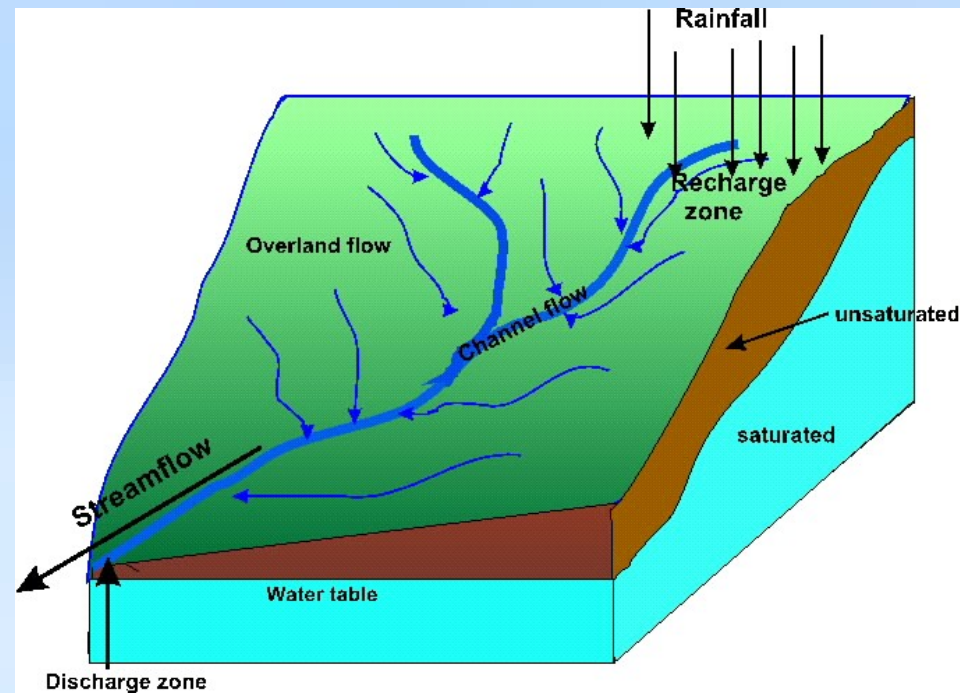
- A água subterrânea constitui cerca de 69% da água doce e 1.7% do total de água no mundo
- Existem 3 tipos de aquíferos:
  - aluviais
  - sedimentares
  - glaciais



Microbiologia de sistemas aquáticos

# Microbiologia de águas subterrâneas

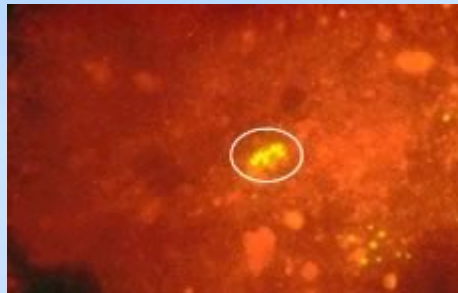
- num sistema típico há interacção entre as águas subterrâneas e superficiais
- zona que contém a água subterrânea designa-se **zona saturada**
- solo por cima dessa zona é a **zona não saturada**
- **lençol freático** é o topo da zona saturada





## Microbiologia de águas subterrâneas

- Um aquífero pouco profundo e não contaminado exibirá uma contagem total de bactérias entre  $10^5$  e  $10^7/g$
- Em aquíferos mais profundos há uma maior diversidade
  - alguns quase não têm microrganismos
  - outros têm até  $10^9/g$ 
    - maioria destas bactérias parecem crescer com baixos níveis de nutrientes



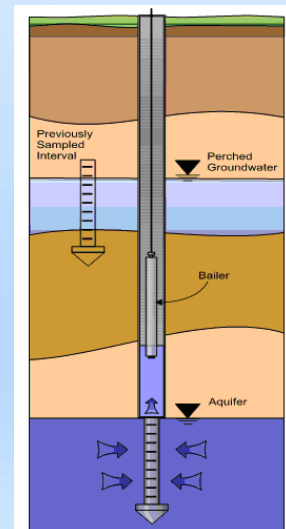
## Microbiologia de águas subterrâneas

- Tipos de bactérias variam com a profundidade
- Menor diversidade que na superfície e no solo
  - *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Chromobacterium*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Caulobacter*, *Hyphomicrobium*, *Sphaerotilus*, *Gallionella*, *Arthrobacter*, *Bacillus*
  - muitas das bactérias isoladas não foram identificadas
  - indicação de que são diferentes das superficiais



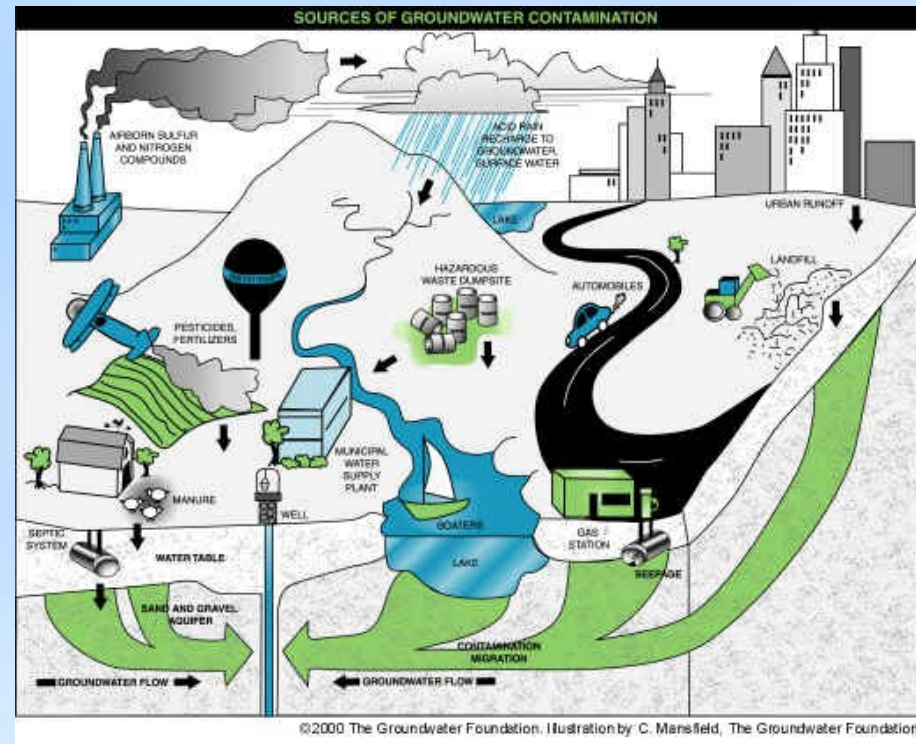
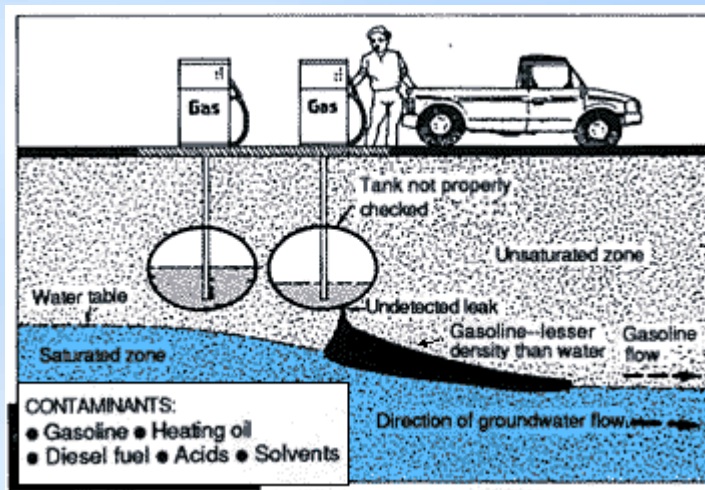
# Microbiologia de águas subterrâneas

- Dificuldades de amostragem da água subterrânea para análise
  - dificuldade de garantir amostras representativas da água e da matriz mineral
  - bactérias aderem frequentemente às partículas, não se distribuindo uniformemente entre a água e as partículas
  - água desloca-se através da matriz a diferentes velocidades, dependendo da permeabilidade da matriz
  - recolha de **carotes**, através de tubos
    - mínima perturbação da água e da matriz



# Microbiologia de águas subterrâneas

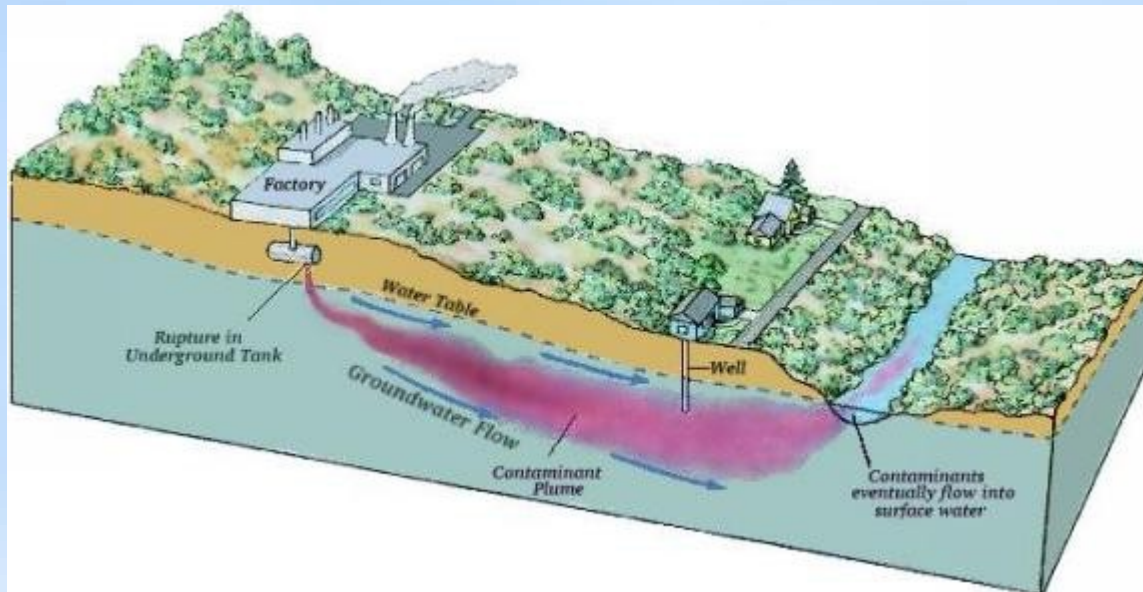
- Grande número de potenciais contaminantes da água subterrânea
  - gasolina é um contaminante comum
    - hidrocarbonetos flutuam à superfície e movem-se
    - componentes solúveis dissolvem-se e migram



Microbiologia de sistemas aquáticos

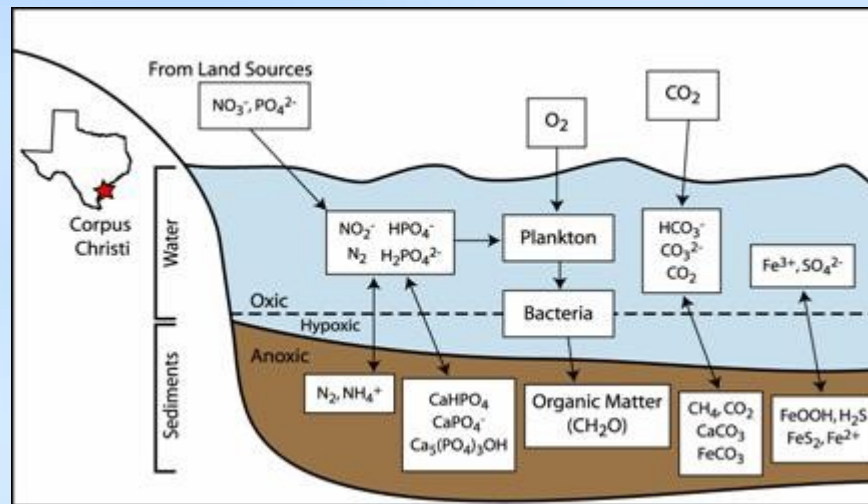
## Microbiologia de águas subterrâneas

- Uma água subterrânea contaminada com material orgânico terá diversas zonas de comportamento ao longo da distância percorrida pelos contaminantes



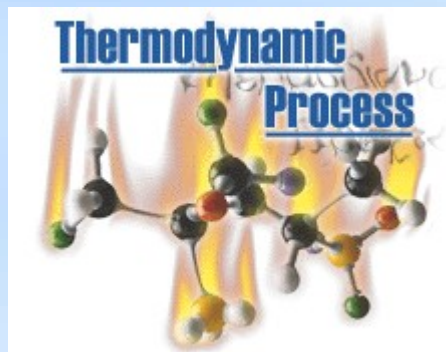
# Microbiologia de águas subterrâneas

- As reacções redox são as mais comuns na remoção ou modificação de compostos em águas subterrâneas
- crescimento microbiano leva à criação de diferentes potenciais redox
- a resposta dos diversos grupo de microrganismos em função dos diferentes potenciais redox é um aspecto importante em **biodegradação**
- resposta pode ser dividida em 2 partes:
  - libertação de energia (processos termodinâmicos)
  - velocidades de degradação (processos cinéticos)



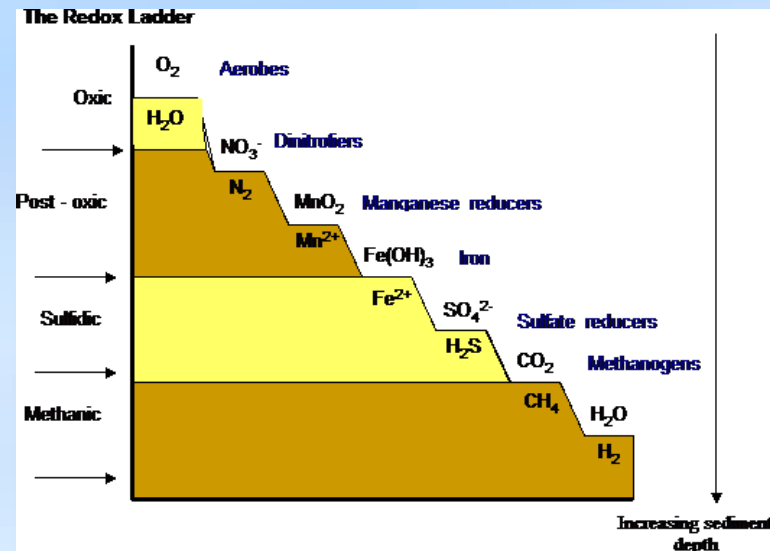
## Microbiologia de águas subterrâneas

- processos termodinâmicos
  - dadores de electrões são componentes típicos da matéria orgânica existente em águas subterrâneas
  - produtos metabólicos típicos da actividade microbiana em águas subterrâneas
  - combinação dos dadores de electrões com aceitadores provoca um aumento dos níveis de energia
  - metano < acetato < benzoato < succinato < etanol < lactato < glicina < piruvato < metanol < glicerol < glucose < formato



# Microbiologia de águas subterrâneas

- os aceptores de electrões mais disponíveis ou utilizáveis são os que produzem mais energia
  - remoção de  $O_2$  leva à utilização de  $NO_3^-$  como aceitador
  - remoção de nitrato leva à utilização de sulfato
  - remoção de sulfato conduz à utilização de  $CO_2$





# Microbiologia de águas subterrâneas

- processos cinéticos
  - cinética de crescimento microbiano segue o clássico modelo de Monod
    - velocidade de utilização do substrato é proporcional à concentração de microrganismos presentes e é função da concentração do substrato

$$\frac{d[S]}{dt} = -\frac{k[X][S]}{y[K_s] + [S]}$$

[S] – conc. substrato

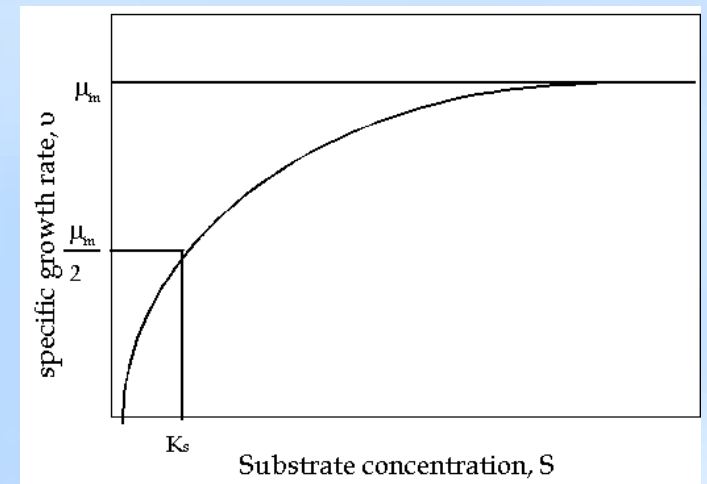
k – taxa de utilização máxima de substrato

[X] – conc. bactéria

[K<sub>s</sub>] – coef. meia velocidade para o substrato

y – coef. rendimento = d[X]/d[S]

Microbiologia de  
sistemas aquáticos



## Microbiologia de águas subterrâneas

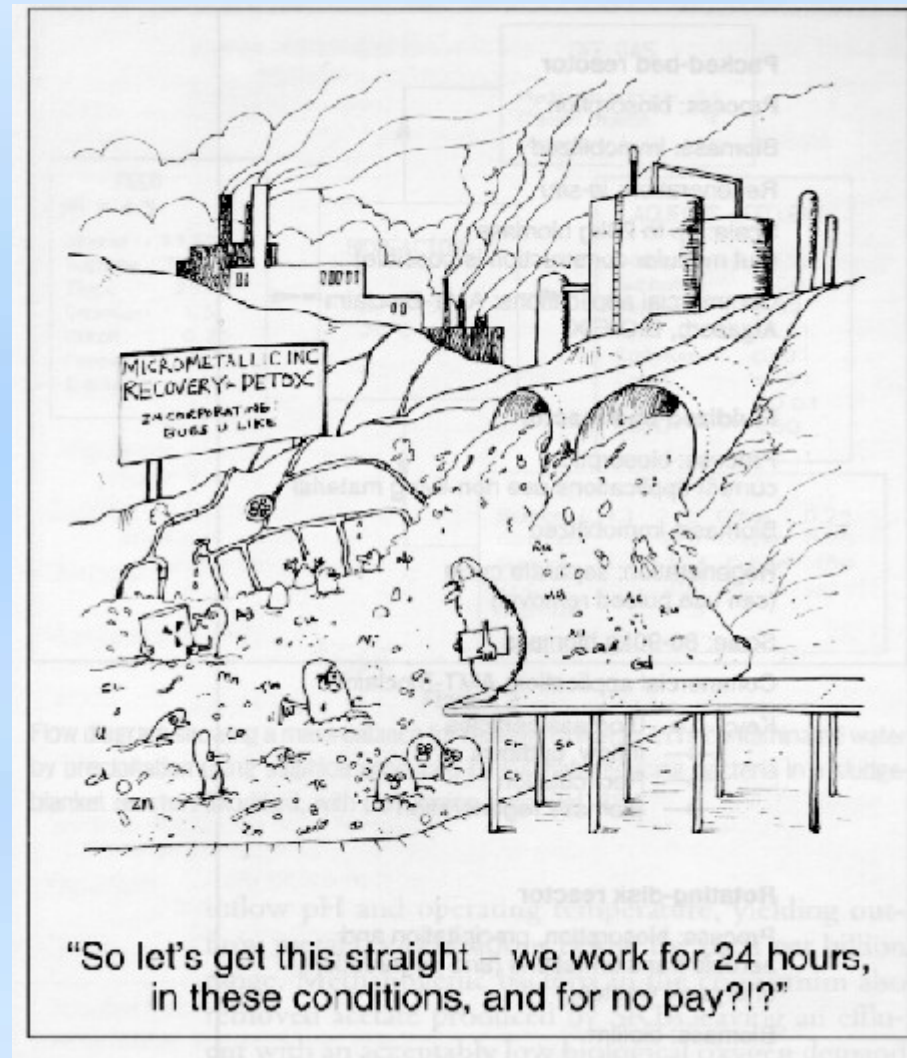
- há 3 modelos para descrever biotransformações em solos e águas subterrâneas:
  - **batch**
    - utilização e biotransformação do substrato e crescimento de bactérias ao longo do tempo, num sistema fechado
  - **contínuo**
    - fluxo quase constante do substrato num sistema de volume conhecido
  - **biofilme**
    - bactérias ligadas a partículas do solo

# Microbiologia de águas subterrâneas

## • Modelos de fluxo para águas subterrâneas:

- <http://wvlc.uwaterloo.ca/biology447/modules/module7/tdpf1.0web/pflow/pflow.html>
- <http://wvlc.uwaterloo.ca/biology447/modules/module7/tdpf1.0web/topodrive/topodrv.html>

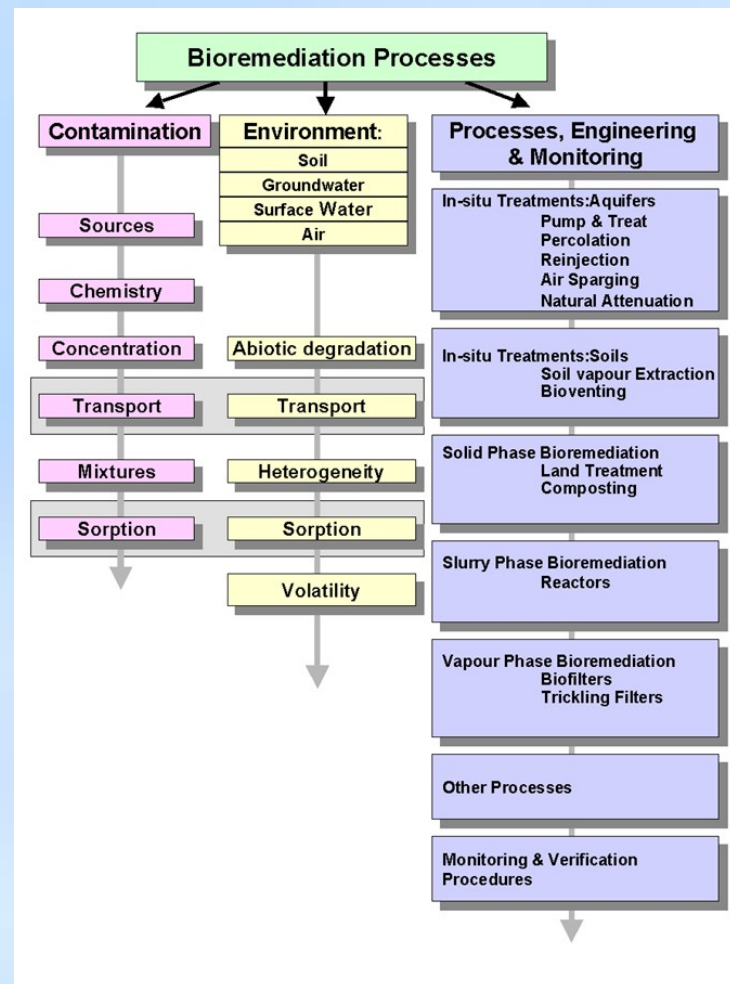
# Biorremediação



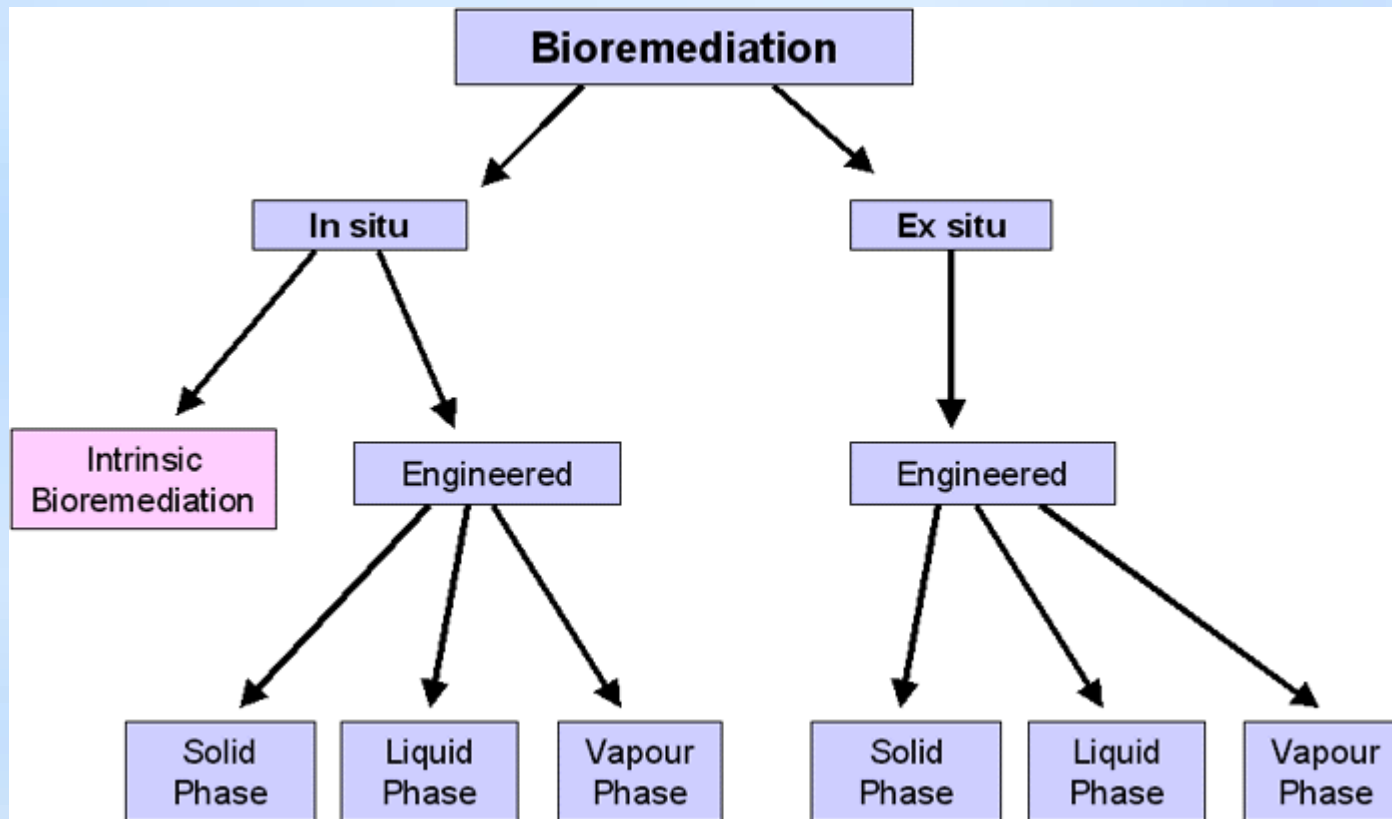
Microbiologia de sistemas aquáticos

# Biorremediação

- Aplicação de microrganismos ou processos ou produtos biológicos para a remoção ou degradação de contaminantes de uma dada área



# Biorremediação



## Biorremediação

- Características dos compostos susceptíveis a biorremediação:
  - hidrossolúveis
  - estrutura molecular simples
  - não sofrem sorção
  - não são tóxicos
  - servem de substrato para o crescimento de diversos organismos aeróbicos

## Biorremediação

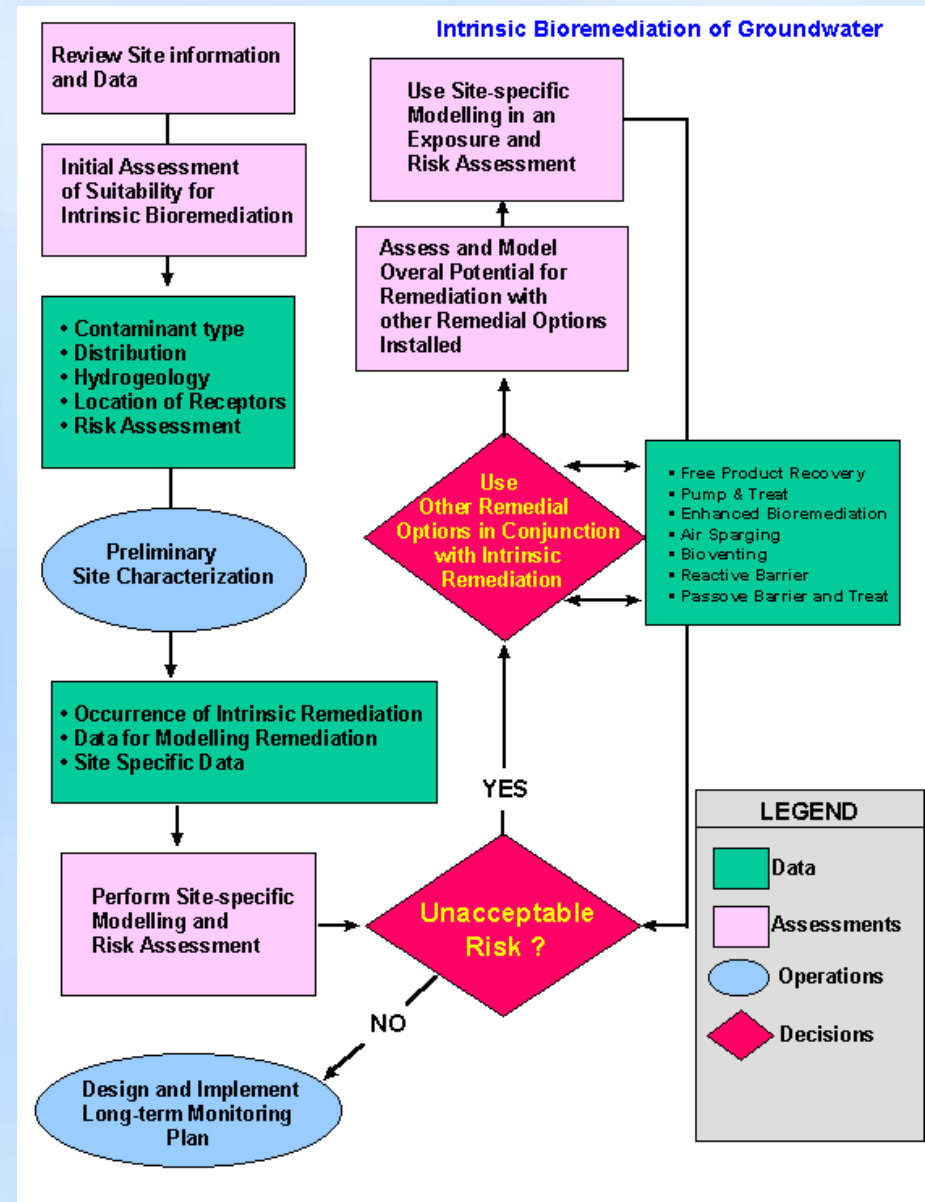
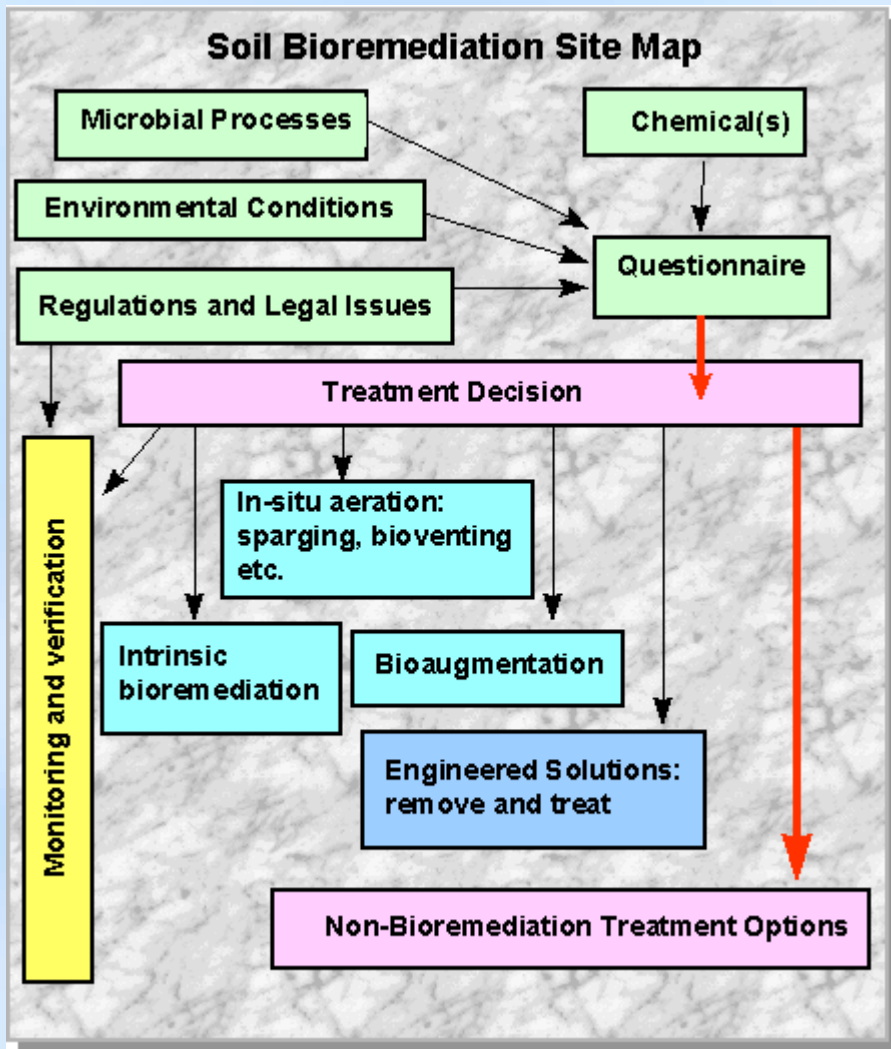
- Características dos compostos resistentes a biorremediação:
  - ligeiramente ou não solúveis em água
  - fortemente sortivos
  - são tóxicos
  - não suportam crescimento microbiano



## Biorremediação

- Estratégias para implementação de um projecto de biorremediação:
  - análise preliminar do local
  - propor reacções microbianas que se sabe afectar a concentração e a distribuição de contaminantes
  - análise detalhada do local, para confirmar as propostas
  - usar a informação recolhida para decidir sobre a utilização de processos de biorremediação intrínseca ou técnica
  - implementar o processo OU investigar alternativas
  - vigiar a eficácia da solução
  - terminar o projecto quando atingido o objectivo de “limpeza”

# Biorremediação



Microbiologia de sistemas aquáticos

# Biorremediação

- Tecnologias de biorremediação
  - <http://epareachit.org/>



Microbiologia de  
sistemas aquáticos

# Biorremediação

- Modelos de biorremediação
  - <http://www.epa.gov/ada/csmos/models.html>



Microbiologia de  
sistemas aquáticos