



AVALIAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO DE PIRENO PELA MICROBIOTA NATIVA DE MANGUEZAIS DA ILHA DE SANTA CATARINA, BRASIL

C.R. de Oliveira^{1,*}, I.D. Vecchia¹, L.A.S. Madureira¹
Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina
Trindade, 88040-900, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil
*E-mail: cris_cobain@yahoo.com.br

Recebido para publicação em: julho de 2007, aprovado para publicações em janeiro de 2008

ABSTRACT

Mangroves are located in vulnerable regions to several sorts of contaminations. Inputs of organic pollutants such as polycyclic aromatic hydrocarbons are widely reported in the literature. The break and removal of aromatics by microbial transformation and degradation are appointed as an effective method of reducing hydrocarbons. In the present work, the biodegradation of pyrene using native microorganisms were investigated in superficial sediments from Itacorubi and Ratonés mangroves located in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. The most favorable temperature and pH conditions for the pyrene biodegradation were 45°C and pH 5 for Itacorubi mangrove sediments and 40°C and pH 8 for Ratonés sediments. 90% of the pyrene added to both mangrove sediments was degraded in 12 days by the autochthonous microbiota without any nutrient supplementation.

RESUMO

A localização dos manguezais é propícia à contaminação por diversos tipos de efluentes, incluindo os derivados de petróleo como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA). Os HPA são alvos de diversos estudos como avaliação de impacto ambiental, que incluem efeitos tóxicos de alguns de seus metabólitos secundários, e remoção do meio ambiente por processos de biotransformação. Neste trabalho foi investigado o processo de biodegradação do pireno por microrganismos presentes em amostras superficiais de sedimentos dos manguezais do Itacorubi e Ratonés, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. A temperatura e o pH ótimos para a biodegradação de pireno foram 40°C e pH 8 para amostras do manguezal do Itacorubi e 45°C e pH 5 para o manguezal de Ratonés. Em apenas 12 dias mais de 90% do pireno adicionado foi biodegradado sem a adição de nutrientes.

INTRODUÇÃO

A distribuição dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) encontrados em sedimentos pode variar conforme as fontes, proximidade com atividades antrópicas, tipos de poluentes e características do sedimento,

que incluem a composição da matéria orgânica e tamanha das partículas (Tam *et al.*, 2001). A quantidade de HPA oriunda de processos naturais é relativamente baixa quando comparada com a de origem petrogênica. As maiores concentrações de HPA no meio ambiente são geralmente associadas a fontes

antropogênicas como combustão incompleta de combustíveis fósseis, derrame de óleo, tráfego de navios e efluentes industriais (Chang *et al.*, 2002). Ao longo dos últimos 20 anos houve aumento no interesse pela contaminação do meio ambiente por HPA devido às suas características de resistência à degradação microbiana, persistência e também pelo fato de alguns desses compostos apresentarem natureza tóxica, com características mutagênicas e carcinogênicas. Vários HPA são considerados poluentes para o meio ambiente por afetarem o habitat da flora e fauna, resultando na acumulação de elementos tóxicos nas cadeias alimentares e, em alguns casos, causando sérios problemas de saúde e defeitos genéticos em humanos (Liu *et al.*, 2001). Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), estudos com animais reportam alterações enzimáticas nas mucosas do trato gastrointestinal e aumento no peso do fígado, a partir da ingestão de HPA (efeito agudo). Consequentemente, a USEPA tem listado os 16 HPA como poluentes prioritários para remediação nos diferentes tipos de ambientes (sedimento, água, solo e biota) (Brown & Weiss, 1978).

Os HPA podem ser removidos do meio ambiente por diversos processos, incluindo volatilização, foto-oxidação, oxidação química, bioacumulação e adsorção. Acredita-se, porém, que a degradação por microrganismos seja um dos principais processos de remoção de sedimentos contaminados. Estudos recentes têm reportado que comunidades de microrganismos, como certas bactérias e determinados fungos, têm considerável potencial de biorremediação de sedimentos contaminados com óleo (Yuan *et al.*, 2001; Samanta *et al.*, 2002). A biodegradação dos hidrocarbonetos de petróleo ocorre através de reações de oxi-redução, nas quais os contaminantes são oxidados na presença de certos receptores de elétrons. Normalmente, o solo apresenta elevadas concentrações de oxigênio dissolvido, nitrato, ferro (III), sulfato e dióxido de carbono, substâncias estas capazes de receber os elétrons liberados

na oxidação dos hidrocarbonetos (Fernandes, 2001). A biodegradação é um processo lento e sua cinética pode estar condicionada à concentração de oxigênio, temperatura, nutrientes (especialmente o nitrogênio e o fósforo), salinidade, receptores de elétrons, pH, composição estrutural dos hidrocarbonetos e biodegradabilidade dos compostos (Raymond *et al.*, 2001). No meio ambiente, os HPA podem associar-se a partículas e matéria orgânica dissolvida e depositar-se no sedimento. A sorção de contaminantes orgânicos pela matéria orgânica natural geralmente limita a biodisponibilidade dos substratos, sendo este um importante fator que afeta a velocidade de biodegradação em solos e sedimentos (Grosser *et al.*, 2000). De todos os ecossistemas, o manguezal além de ser um dos ambientes mais produtivos é também o mais vulnerável aos efeitos do desenvolvimento econômico e do crescimento desordenado da população humana. Por apresentar-se em regiões costeiras e estuarinas, estão em uma localização propícia à contaminação de dejetos dos grandes centros urbanos (Hansel, 2000).

ÁREA DE ESTUDO

O manguezal de Ratonés, com uma área total de 6,25 km², está localizado a aproximadamente 30 km ao nordeste do centro de Florianópolis, cercado pelas coordenadas 27°28'S e 48°31'W (Figura 1a). O manguezal é parte da Reserva Biológica de Carijós, tem acesso restrito e não é permitida nenhuma atividade humana. Suas características químicas e biológicas apresentam-se particularmente bem preservadas servindo também como um ambiente para eventuais comparações (Mater *et al.*, 2004). Em contraste ao manguezal de Ratonés, o manguezal do Itacorubi (27°35'S e 48°30'W) é circundado por bairros de Florianópolis e tem sofrido perda progressiva do habitat nos últimos 30 anos (Figura 1b), restando menos de 2,0 km² de florestas de manguezais, equivalente a 25% de sua dimensão original. Parte do manguezal foi utilizada para a construção de condomínios, estradas, depósito de lixo

municipal e canais artificiais. O tratamento de esgoto é insuficiente na área e excessos de esgoto não tratado são lançados diretamente na travessia dos riachos na área do manguezal (Soriano-Sierra *et al.*, 1998).

MATERIAIS E MÉTODOS

AMOSTRAGEM

O ponto escolhido para amostragem no manguezal do Itacorubi ($27^{\circ}34'S$ e $48^{\circ}31'WO$) é apresentado na Figura 1b, sendo este estratégico, pois o local é considerado impactado por localizar-se às margens da Avenida da Saudade, principal acesso para a rodovia SC-401 e rodovia Admar Gonzaga (SC 404). O local é conhecido como Passarela das Garças e situa-se na foz dos rios Sertão e Itacorubi e está sob a influência constante das marés. O ponto de coleta no manguezal de Ratonés ($27^{\circ}28'S$ e $48^{\circ}29'WO$) é apresentado na Figura 1a, localizado às margens do Rio Ratonés, sendo uma área considerada preservada. Os sedimentos foram coletados até uma profundidade de 10 cm, em uma superfície isenta de folhas, com o auxílio de um amostrador do tipo draga e transferidos para frascos de vidro previamente limpos, com a precaução de envolver as mãos com luvas de polietileno. A água utilizada nos ensaios foi coletada às margens da área de coleta do sedimento com o auxílio de uma garrafa de vidro limpa e um suporte

metálico, evitando-se assim o contato com as mãos. Após a coleta, sedimento e água foram levados ao laboratório e imediatamente utilizados para evitar que o meio de cultura presente fosse inutilizado.

METODOLOGIA E PROCESSAMENTO DE DADOS

Inicialmente foi realizado um teste para verificação da existência de pireno nos pontos de amostragem. Não sendo encontrado pireno no sedimento, preparou-se uma solução fortificada com 125 g de sedimento liofilizado, peneirado (malha de $250\ \mu\text{m}$) e autoclavado (110°C) juntamente com 2,06 mg de pireno, resultando em envelopes individuais de alumínio de $8,25\ \mu\text{g}$ de pireno por 0,5 g deste sedimento. Esses sedimentos fortificados com pireno foram então mantidos autoclavados em freezer até utilização (Ke *et al.*, 2003). Para confirmar a concentração de pireno em cada porção procedeu-se aleatoriamente a extração de cinco envelopes. Filtrou-se e avolumou-se para 1 mL com $5\ \mu\text{g mL}^{-1}$ de padrão interno (criseno-d) procedendo-se em seguida a análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Obteve-se uma concentração média de $2,88 \pm 0,27\ \mu\text{g mL}^{-1}$. Para os ensaios de biodegradação, alíquotas de 5-6 g do sedimento recém coletadas e ainda úmidas foram transferidas para uma série de erlenmeyers de 250 mL com 10 mL de água do próprio meio. Efetuou-se então a adição do conteúdo

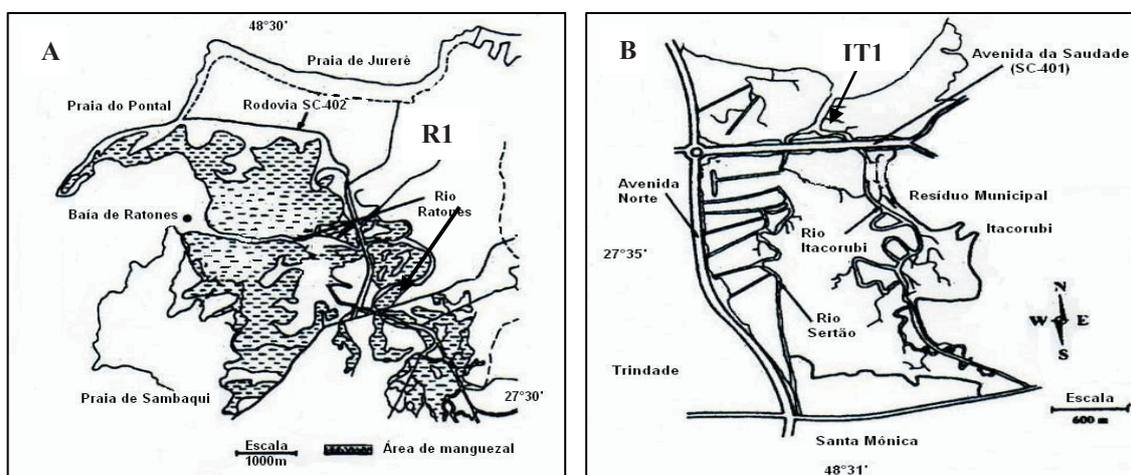


Figura 1: Mapa dos manguezais estudados com os pontos de coleta das amostras para estudo de biodegradação do pireno: (A) Manguezal de Ratonés (ponto R1) e (B) Manguezal do Itacorubi (ponto IT1).

de um envelope do padrão fortificado em cada erlenmeyer, tomando-se o cuidado para que ficasse bem homogêneo. Os frascos foram lacrados com papel alumínio, colocados em uma incubadora do tipo shaker orbital termostatizada, marca Tecnal, longe da luminosidade, e deixados sob agitação por três dias (72 h). As análises foram realizadas em triplicata e para cada experimento foi feito um branco com sedimento autoclavado a fim de avaliar perdas por outros tipos de processos. Para avaliação do efeito da temperatura na biodegradação, as demais variáveis foram mantidas constantes e a faixa de temperatura estudada foi de 25 a 45°C, com intervalos de 5°C. Para pH os valores utilizados foram 5, 6, 7, 8 e 9. O pH do meio foi ajustado utilizando papel indicador e soluções 1,0 mol L⁻¹ de HCl e NaOH. Os ensaios com variação do tempo foram realizados em 3, 6, 9 e 12 dias nas temperaturas e pH otimizados.

A metodologia utilizada na extração dos sedimentos para verificar a possível presença de pireno nos manguezais foi a mesma empregada para as amostras após o ensaio de biodegradação. Inicialmente as amostras de sedimento foram liofilizadas e distribuídas em tubos de ensaio. Posteriormente adicionou-se 2,0 g de cobre metálico, previamente ativado com HCl concentrado, para remoção de enxofre. Em seguida foram efetuadas três extrações sucessivas com diclorometano, sempre com ultra-som, por 30 min. O volume de solvente utilizado em cada etapa da extração foi proporcionalmente 1:1 em relação ao volume de sedimento. Os extratos foram então combinados, centrifugados e concentrados a um volume conveniente (1 mL) no rota-vaporizador. Para o fracionamento das amostras os adsorventes utilizados foram sílica gel e alumina neutra previamente purificados, ativados e armazenados em estufa a 100°C até o uso. Para a confecção da micro coluna cromatográfica foi utilizado como suporte uma pipeta Pasteur empacotada com sílica gel (2 cm, porção superior) e alumina neutra (1 cm, porção inferior) sobre lâ de vidro (0,08 g). A primeira fração foi eluída com 5 mL de hexano, referente aos

hidrocarbonetos alifáticos (F1), e a segunda com 5 mL de diclorometano (F2), contendo o analito de interesse (NOAA, 1993). Os solventes dos frascos F1 e F2 foram concentrados a um volume conveniente com a ajuda de um rotavaporizador seguido de um leve fluxo de nitrogênio. As frações F1 e F2 foram mantidas em congelador até serem analisadas por GC-MS.

Com o objetivo de verificar a perda de pireno ao longo das diferentes etapas: liofilização, extração e fracionamento, foram realizados ensaios de recuperação a partir da adição do surrogate p-terfenil d-₁₄ (5 µg) após retirar as amostras da incubadora. Em média, a recuperação foi de 70%.

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo a gás marca Finnigan, modelo Trace GC Ultra, no modo split (1:40), com uma coluna capilar Rtx®-5MS de 30 m x 0,25 mm d.i x 0,25 µm de recobrimento, acoplado a um espectrômetro de massas marca Finnigan, modelo Polaris Q. A temperatura do injetor foi 280°C. Foi utilizado o modo de injeção automático (1 µL) com a seguinte programação de temperatura: 40°C por 4 min., 40 até 290°C a 8°C min⁻¹, com isoterma de 10 min a 290°C. As análises foram feitas no modo varredura total (50 a 500 u) e no modo SIM (m/z 220 para o pireno, m/z 236 e 240 para o criseno-d₁₂ e m/z 244 para terfenil-d₁₄) com potencial de elétron ionização a 70 eV. A interface GC-MS foi mantida a 250°C e Hélio foi usado como gás de arraste. Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) do pireno (Figura 2) foram calculados para o método utilizando como base os parâmetros da curva analítica, obtendo-se os valores de 1,49 e 4,51 ng mL⁻¹, respectivamente (Ribani *et al.*, 2004). A quantidade de pireno que foi efetivamente biodegradada ao longo dos experimentos foi obtida levando-se em consideração a concentração final do pireno, resultante dos ensaios de biodegradação, subtraída da concentração no branco (caso apresentasse algum valor) descartando-se assim a hipótese de perdas por outros processos.

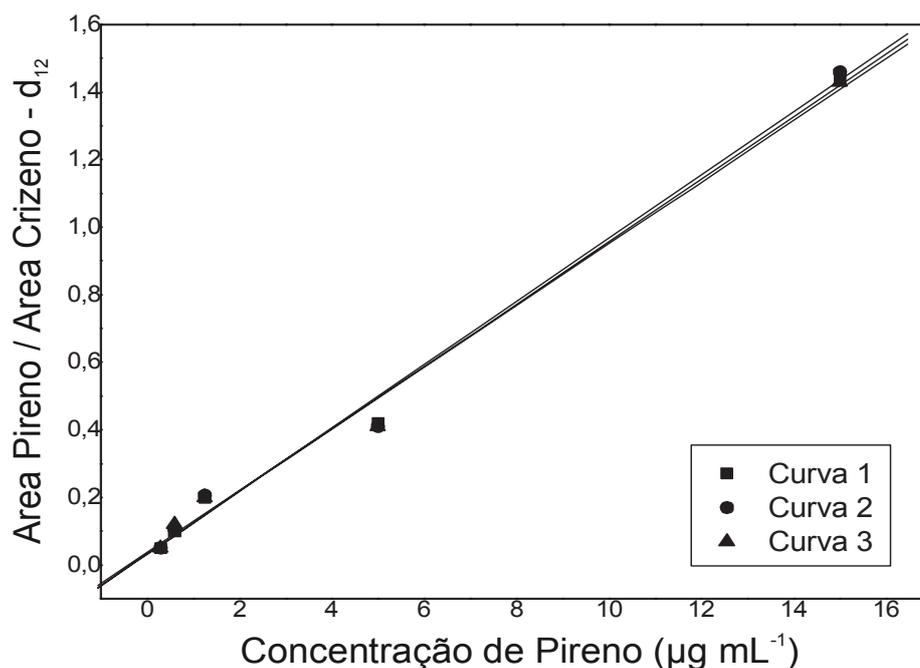


Figura 2: Curva analítica do pireno obtida em triplicata para o GC-MS utilizando crizeno-d-12 como padrão interno ($\sigma = 0,0043$, $r = 0,998$). LOD = 1,49 ng mL⁻¹; LOQ = 4,51 ng mL⁻¹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar o efeito da temperatura na biodegradação do pireno em ambos os ambientes, foram utilizadas temperaturas de 25, 30, 35, 40 e 45°C, mantendo-se o pH do meio constante (pH 7) durante 3 dias (Figura 3a). Para amostras de sedimentos do manguezal de Ratoles os valores das quantidades de pireno biodegradado variaram de um mínimo de 0,02 µg mL⁻¹ a 25°C até um máximo de 0,31 µg mL⁻¹ a 45°C. Para sedimentos do manguezal do Itacorubi, as quantidades de pireno biodegradada variaram entre 0,18 µg mL⁻¹ a 25°C e 0,91 µg mL⁻¹ a 40°C.

A partir dos resultados apresentados observa-se que as melhores condições de temperatura para a biodegradação do pireno foram 45°C no manguezal de Ratoles e 40°C no manguezal do Itacorubi, porém, sem diferença significativa do resultado obtido para esse mesmo manguezal a 45°C. Para avaliar o efeito do pH na biodegradação do pireno pela microbiota de sedimentos dos dois manguezais foram realizados ensaios nos valores de pH 5, 6, 7, 8 e 9 mantendo-

se a temperatura constante nos valores previamente comprovados como de máxima biodegradação (45°C para Ratoles e 40°C para Itacorubi) durante 3 dias. No manguezal de Ratoles os valores da concentração de pireno biodegradado variaram entre 0,23 µg mL⁻¹ (pH 5) a 0,04 µg mL⁻¹ (pH 7), enquanto que no manguezal do Itacorubi as concentrações variaram de 0,50 µg mL⁻¹ (pH 6) a 0,74 µg mL⁻¹ (pH 8) (Figura 3b). Observa-se que a maior quantidade de pireno foi biodegradada a pH 5, para sedimentos do manguezal de Ratoles, e a pH 8 para sedimentos do manguezal do Itacorubi. A partir dos resultados apresentados nas Figuras 3a e 3b, nota-se uma tendência de maior degradação do pireno em amostras de sedimentos do manguezal do Itacorubi do que em Ratoles. Esses resultados provavelmente refletem a diferença na riqueza e abundância de microorganismos atuantes em cada ambiente. Por localizar-se na região central da cidade de Florianópolis, o manguezal do Itacorubi vem sofrendo depredações e descargas de efluentes domésticos o que aumenta a concentração de nutrientes e favorece o desenvolvimento dos microorganismos. Comparando-se com os resultados da

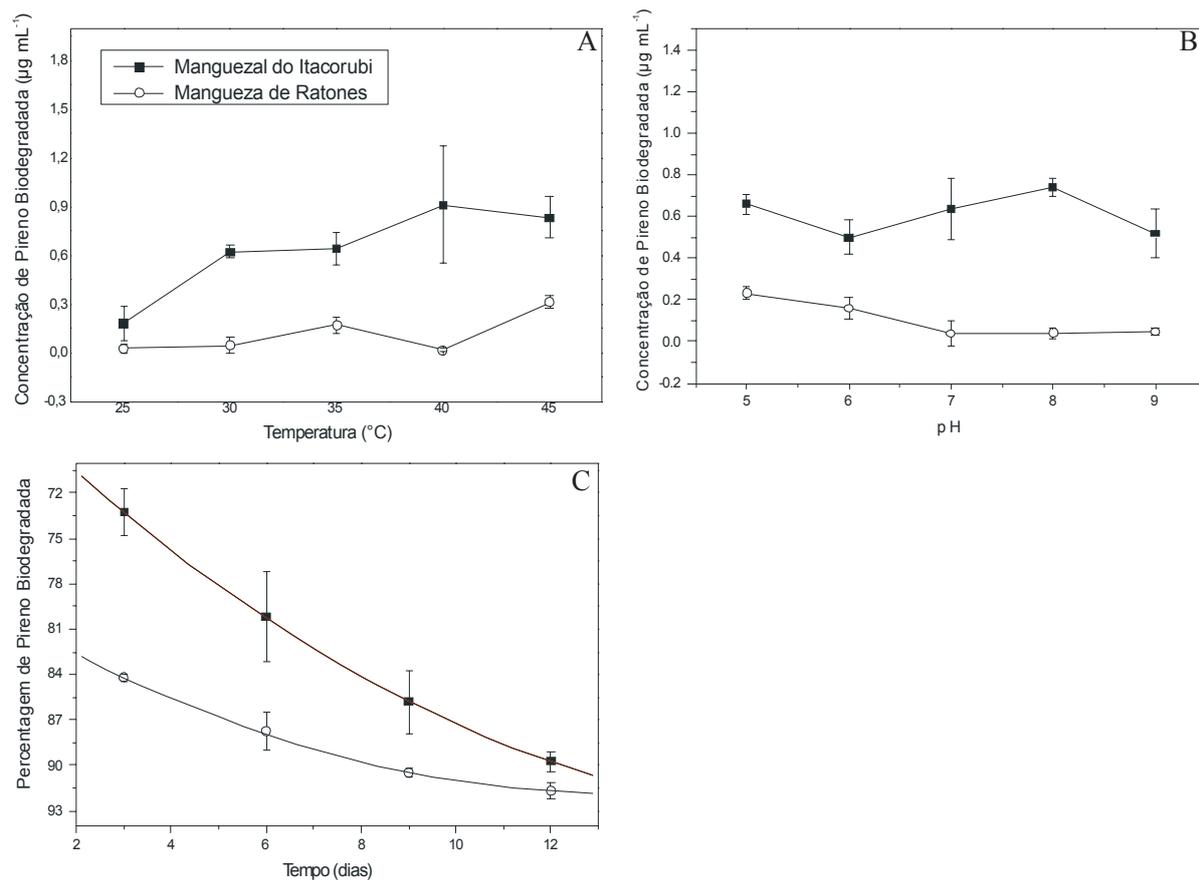


Figura 3: Biodegradação do pireno em amostras de sedimentos dos manguezais do Itacorubi (n) e Ratoles (o). (a) Efeito da temperatura na biodegradação do pireno a pH 7 durante 3 dias; (b) Efeito do pH na biodegradação do pireno a 45 $^{\circ}\text{C}$ para o Manguezal de Ratoles e a 40 $^{\circ}\text{C}$ para o Manguezal do Itacorubi durante 3 dias; (c) Porcentagem de pireno biodegradado durante 12 dias.

literatura, os valores divergem dos reportados por Yuan *et al.* (2001) cujos resultados com melhor índice de biodegradação para amostras de sedimentos de fundo de rio em Taiwan, foram pH 7 a 30 $^{\circ}\text{C}$. Chang *et al.* (2002) em trabalhos com sedimentos de outras regiões no mesmo país, sob condições anaeróbicas de degradação, obtiveram valor de pH semelhante ao encontrado para o manguezal do Itacorubi (pH 8), mas com temperatura inferior (30 $^{\circ}\text{C}$). Para a avaliação do tempo de biodegradação do pireno nos sedimentos dos dois manguezais, as amostras foram ajustadas para as condições de temperatura e pH que apresentaram valores máximos de decomposição e analisadas após 3, 6, 9 e 12 dias. Na Figura 3c observa-se que em 12 dias 90% do pireno adicionado foi degradado pelo consórcio de microorganismos presentes no manguezal do Itacorubi e 92% no manguezal de Ratoles. Os resultados de tempo para decomposição do pireno também divergem

de valores encontrados na literatura. Yu *et al.* (2005) reportaram que para 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de pireno adicionado a 4 g de sedimento recém coletado em amostras do manguezal de Ho Chung, em Hong Kong, apenas 33% do pireno adicionado foi degradado após 4 semanas (28 dias); enquanto que em cultura enriquecida com nutrientes a biodegradação chegou a 98%, indicando que houve um aumento na degradação do pireno após a adição de nutrientes.

A biodegradação do pireno tem sido documentada por inúmeros grupos, e alguns têm identificado metabólitos e proposto rotas de biodegradação (Cerniglia, 1992; Li *et al.*, 1996; Kanaly & Harayama, 2000; entre outros). Espécies de *Mycobacterium* isoladas de sedimentos próximos a fontes de hidrocarbonetos biodegradam pireno quando cultivadas em meio mineral complementado com nutrientes orgânicos. Micobactérias

vêm sendo apontadas como importantes degradadores de HPA com quatro anéis (Cerniglia, 1992). O pireno tem sido relatado na literatura como um indutor de culturas de *Mycobacterium* à mineralização (Heitkamp *et al.*, 1988). Observando o crescimento de culturas não induzidas pela adição de pireno, nenhuma biodegradação deste é detectada, concluindo que sistemas de enzimas induzidas aparecem como responsáveis pelo efeito de catálise do pireno. O efeito da catálise induzida também foi verificado neste trabalho como pode ser comprovado pela razão entre as concentrações de pireno remanescente nos sedimentos analisados

ao longo do tempo (Tabela 1). Na tentativa de identificar metabólitos do pireno foram monitorados alguns fragmentogramas de massas após 3, 6, 9 e 12 dias. Nenhum composto, incluindo o principal metabólito, o *cis*-4,5-dihidrodiolpireno, foi detectado, provavelmente devido a sua decomposição térmica formando o pireno e outros compostos no injetor do GC, que foi mantido a 280°C, como sugerido por Li *et al.* (1996).

CONCLUSÃO

A partir dos resultados apresentados observa-se que as melhores condições de

Tabela 1: Razão entre as concentrações de pireno ($\mu\text{g mL}^{-1}$) remanescentes nas amostras de sedimentos dos Manguezais de Ratonés e Itacorubi

Tempo (dias)	3	6	9	12
	Remanescente			
[Pi] Ratonés	0,455 \pm 0,007	0,353 \pm 0,035	0,275 \pm 0,007	0,239 \pm 0,016
[Pi] Itacorubi	0,735 \pm 0,043	0,546 \pm 0,082	0,390 \pm 0,058	0,282 \pm 0,017
	Razões			
	[72h]/[144h]	[144]/[216]	[216]/[294]	
Ratonés	0,77	0,78	0,87	
Itacorubi	1,34	1,40	1,39	

temperatura e pH para a biodegradação do pireno foram 45°C e pH 5 no Manguezal de Ratonés e 40°C e pH 8 no Manguezal do Itacorubi. Nota-se uma tendência de maior degradação do pireno em amostras de sedimentos do Manguezal do Itacorubi do que em Ratonés, resultado que provavelmente reflete a diferença a riqueza e abundância de microorganismos atuantes em cada ambiente. Para 12 dias de ensaio de biodegradação, 90% e 92% de pireno foram degradados pelos microorganismos presentes nos manguezais

do Itacorubi e Ratonés, respectivamente, indicando uma alta concentração de nutrientes nesses ambientes.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao MSc. J. R. Strelau (Central de Análises, Depto de Química, UFSC) e MSc. C. A. Silva pela assistência técnica, à CAPES pela bolsa de doutorado da Cristiane R. Oliveira e a Petrobrás pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- BROWN, A. B. & WEISS, T. F. (1978) Fate and effects of polynuclear aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. Environmental Affairs Department, Publication n° 4297, American Petroleum Institute.
- CERNIGLIA, C. E. (1992) "Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons" *Biodegradation*, 3:351-368.
- CHANG, B.V.; SHIUNG, S.Y.; YUAN, S.Y. (2002) Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Chemosphere*. 48: 717-724.

- FERNANDES, M. (2001) Atenuação natural de aquífero contaminado por derramamentos de gasolina. Tese de Doutorado. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 110 p.
- GROSSER, R. J.; FRIEDRICH, M.; WARD, D.M.; *et al.* (2000) Effect of model sorptive phases on phenanthrene biodegradation: different enrichment conditions influence bioavailability and selection of phenanthrene-degrading isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 2695-2702.
- HANSEL, F. A. (2000) Análise de biomarcadores lipídicos em sedimentos de manguezais. Dissertação de Mestrado. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 98 p.
- HEITKAMP, M. A.; FRANKLIN, W.; CERNIGLIA, C. E. (1988) Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: isolation and characterization of a pyrene-degrading bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 2549-2555.
- KANALY, R. A.; HARAYAMA, S. (2000) Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. *J. Bacteriol.* 182(8):2059-2067.
- KE, L.; WANG, W.Q.; WONG, T. W. Y.; *et al.* (2003) Removal of pyrene from contaminated sediments by mangrove microcosms. *Chemosphere.* 51: 25-34.
- LI, X.; CULLEN, W. R.; REIMER, K.J.; *et al.* (1996) Degradation of pyrene and characterization of a metabolite. *Sci. Total Environ.* 177: 17-29.
- LIU, K.; HAN, W.; PAN, W-P.; *et al.* (2001) Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) emissions from coal fired pilot FBC system. *J. Hazard. Mater.* 84: 175-188.
- MATER, L.; ALEXANDRE M. R.; HANSEL, F. A.; MADUREIRA, L. A. S. (2004) Assessment of lipid compounds and phosphorus in mangrove sediments of Santa Catarina island, SC, Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.* 15(5): 725-734
- NOAA, Technical Memorandum Nos Orca 71. (1993) Sampling and analytical methods of the national status and trends program national benthic surveillance and mussel watch project 1984-1992. Silver Spring, Maryland, V. 4, p 179.
- RAYMOND, J. W.; ROGERS, T. N.; SHONNARD, D. R.; *et al.* (2001) A review of structure-based biodegradation estimation methods. *J. Hazard. Mater.* B84: 189-215.
- RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; *et al.* (2004) Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quím. Nova*, 27(5): 771-780.
- SAMANTA, S. K.; SINGH, O. V.; JAIN, R. K. (2002) Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. *Trends Biotechnol.*, 20, 243-248.
- SORIANO-SIERRA, E. J.; SILVA, J. R. B. M.; DERNER, R. B.; BRANCO, J. O. (1998) In Ecology and management of Itacorubi mangrove; Soriano-Sierra, E. J.; Ledo, B. S., eds., IOESC: Florianópolis, p. 115.
- TAM, N. F. Y.; KE, L.; WAN, X. H.; *et al.* (2001) Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of mangrove swamps. *Environ. Pollut.* 114: 255-263.
- YU, S. H.; KE, L.; WONG, Y.S.; *et al.* (2005) Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) by a bacterial consortium enriched from mangrove sediments. *Environ. Internat.* 31: 149-154.
- YUAN, S.Y.; CHANG, J.S.; YEN, J.H.; *et al.* (2001) Biodegradation of phenanthrene in river sediment. *Chemosphere.* 43: 273-278.

(Footnotes)

¹To whom the correspondence should be sent: cris_cobain@yahoo.com.br