

3.07.04 – Engenharia Sanitária / Saneamento Ambiental.

### **AValiação DA Eficiência DE BIODEGRADAÇÃO DE BENZENO EM QUIMIOSTATO.**

Romário Pereira de Carvalho Júnior<sup>1</sup>, Carla Vizzotto<sup>2</sup>, Ariuska Barbosa Amorim<sup>3</sup>, Lenora Nunes Ludolf Gomes<sup>3</sup>

1. Estudante de IC do Depto. Engenharia Civil e Ambiental, Fac. de Tecnologia da UnB

2. Bióloga do Depto. Engenharia Civil e Ambiental, Fac. de Tecnologia da UnB

3. Professoras do Depto. Engenharia Civil e Ambiental, Fac. de Tecnologia da UnB / Orientadoras

#### **Resumo:**

A biorremediação consiste na aplicação da atividade microbiana de degradação na recuperação de solos e águas contaminados. A eficiência do processo de biorremediação depende da capacidade metabólica dos micro-organismos, da concentração e toxicidade dos contaminantes e das características do meio a ser remediado. Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) são caracterizados como poluentes tóxicos devido à capacidade de promoção de efeitos mutagênicos e carcinogênicos no ambiente. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência de remoção do benzeno em um sistema de cultura contínua, quimiostato, pela microbiota isolada do solo do Cerrado/DF. Para avaliação do processo de biodegradação do benzeno em escala laboratorial foram realizadas análises respirométricas que permitiram a verificação da biodegradação do benzeno por consórcios microbianos. Os resultados demonstram haver bom potencial de biodegradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs).

**Palavras-chave:** Biorremediação; microbiota do solo; hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA).

**Apoio financeiro:** ProIC UnB.

**Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição:** UnB.

#### **Introdução:**

A elevada diversidade metabólica dos micro-organismos presentes nos ambientes naturais e o papel do grupo na ciclagem de compostos fazem com que o processo de biodegradação seja parte inerente à colonização microbiana. A biorremediação pode ser entendida como a aplicação da atividade microbiana de degradação na recuperação de solos e águas contaminados por resíduos derivados de diferentes atividades humanas e com composição muitas vezes complexa. A eficiência do processo depende da capacidade metabólica dos micro-organismos, da concentração e toxicidade dos contaminantes e das características do meio a ser remediado. As bactérias e fungos filamentosos são os grupos mais comumente envolvidos nos processos de biorremediação (Baker e Herson, 1994).

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) são caracterizados como poluentes tóxicos devido à capacidade de promoção de efeitos mutagênicos e carcinogênicos no ambiente, sendo conhecidos como poluentes de grande persistência ambiental. Os HPAs são gerados em uma série de atividades industriais incluindo processos de combustão e refinamento de petróleo. Dentre os HPAs destaca-se o benzeno. O processo de degradação do benzeno por parte dos micro-organismos ocorre a taxas baixas por causa da toxicidade (Fingerman e Nagabhushanam, 2005).

Na biorremediação as moléculas do poluente são utilizadas como fonte de carbono e energia para os micro-organismos, o que induz à síntese de enzimas apropriadas, e gera compostos de menor complexidade, sendo necessário avaliar a toxicidade desses subprodutos. Fornecer oxigênio e nutrientes ao meio pode acelerar o processo. A biomassa aumenta por causa do consumo do substrato e a concentração deste diminui com a expansão da população microbiana (Bernardes e Soares, 2005).

Populações microbianas capazes de metabolizar HPAs são encontradas com baixa frequência e, portanto, estratégias de isolamento devem ser adotadas para aumentar as chances de sucesso. Um caminho mais rápido e direto é partir para o isolamento seletivo de um determinado grupo de micro-organismos já testados como potenciais agentes degradadores (Melo e Azevedo, 2008). A produção de CO<sub>2</sub> pela respiração microbiana pode ser utilizada para avaliar a biodegradação dos HPAs e por isso, recomenda-se o uso da respirometria (Bernardes e Soares, 2005).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência de remoção do benzeno em um sistema de cultura contínua, quimiostato, pela microbiota isolada do solo do Cerrado/DF.

#### **Metodologia:**

Para avaliação da biodegradação do benzeno em escala laboratorial foram utilizados quimiostatos, para alto grau de controle operacional, necessário ao estudo e identificação das condições operacionais que favoreçam o processo. Foram preparados cultivos, em duplicata, em quimiostatos contendo 1 L de meio líquido e inoculado 7 mL de salina contendo 45 mg/mL de solo com microbiota degradadora ativa isolada do solo do Cerrado, no Distrito Federal.

Na preparação do meio, além da colocação de sais minerais, levou-se em consideração a necessidade de fonte de nutrientes para estimular os micro-organismos. O meio líquido foi preparado com 20 g de peptona, 2,5 g de glicose, 5 g de NaCl e 2,5 g de  $KPO_4$ , para 1 litro. Não foi necessário ajustar o pH do meio. Foram preparados suportes para evitar que os micro-organismos se aderissem apenas às laterais do quimiostato. E foram deixadas duas entradas, uma para colocar o meio e outra para reoxigenar o sistema.

Após 15 dias de crescimento dos micro-organismos foram fornecidos 15 mL de benzeno, contido no interior de tubos de ensaio com tampas de rosca, permitindo a volatilização deste composto e sua disponibilização no sistema na forma de vapor para ser incorporado à fase líquida. A disponibilização do benzeno no quimiostato ocorre na forma de vapor por recomendação devido ao alto grau de toxicidade, insolubilidade em água e alta volatilidade (Melo e Azevedo, 2008).

Para avaliação da capacidade de biodegradação do benzeno foram realizadas análises respirométricas com base na NBR 14.283/99. A escolha da respirometria ocorreu em virtude da capacidade do método de detectar, de forma direta e em curto espaço de tempo, as variações no metabolismo aeróbio dos micro-organismos envolvidos no processo de degradação e acompanhar de forma efetiva o desempenho dos micro-organismos (Bernardes e Soares, 2005). Como controle, foram preparados três respirômetros com menor volume de cultivo. Com 1 mL de salina e 100 mL de meio. Em um respirômetro não foi adicionado benzeno (controle), em outro a adição de benzeno ocorreu após 15 dias e no outro os micro-organismos foram inoculados e imediatamente após houve colocação do benzeno.

Os quimiostatos e respirômetros de Bartha foram incubados em estufa a  $28 \pm 2^\circ C$ , temperatura escolhida pelo fato da maioria dos projetos de biorremediação ocorrerem sob condições mesófilas (Baker e Herson, 1994). O ensaio teve duração de 123 dias e foi realizado no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA), no prédio SG12 da Universidade de Brasília. As medições foram realizadas duas vezes por semana, a fim de se quantificar o  $CO_2$  produzido durante o processo de respiração aeróbia. O fornecimento adequado de oxigênio, considerando processos aeróbios, é de extrema importância e, por isso ocorria, simultaneamente à retirada do hidróxido de potássio reoxigenação do sistema. O cálculo da quantidade de  $CO_2$  produzido foi realizado pela comparação com os dados do branco (KOH sem período de incubação nos respirômetros).

## Resultados e Discussão:

Nos 15 primeiros dias do ensaio, ainda sem contato com benzeno, foi possível observar alta taxa de respiração. Com o acréscimo do benzeno ao sistema houve uma queda significativa na taxa de respiração, por causa da quantidade elevada do composto, que após volatilização foi incorporado e difundido à fase líquida, conferindo maior toxicidade. Foi observada, portanto, uma nova fase de adaptação da microbiota. Após a fase de adaptação a respiração aumentou e foi observada a biodegradação efetiva do benzeno, mesmo com a presença de elevadas concentrações do composto tóxico. A Figura 1 apresenta a quantidade de  $CO_2$  biodegradado nos quimiostatos por leitura realizada ao longo de todo o experimento. As setas vermelhas indicam a colocação do benzeno no sistema.

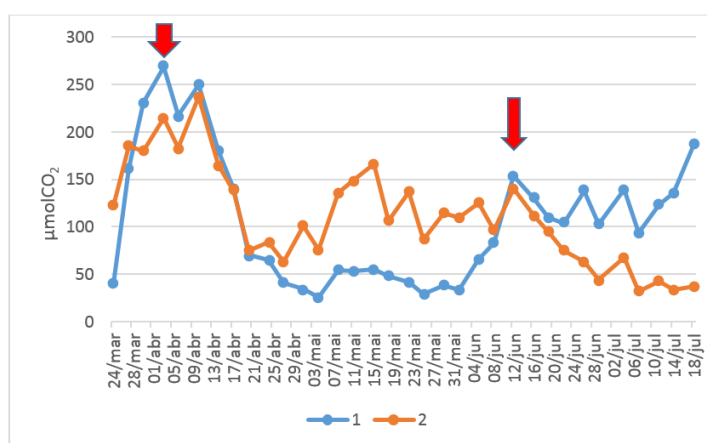


Figura 1: Valores de carbono biodegradado ( $\mu$ mol de  $CO_2$ ) medidos ao longo dos ensaios

Além disso, houve redução do nível do meio, indicativo do aumento de biomassa, o que afirma que os micro-organismos presentes resistiram e degradaram o benzeno. Observou-se também mudança de coloração no meio de cultura e essa mudança serve como um diagnóstico rápido para identificar atividade de biodegradação. Os quimiostatos produziram um total de 3646 e 3793  $\mu$ mol de  $CO_2$  durante a realização do ensaio. O respirômetro somente com o meio apresentou uma produção total de 2088,51  $\mu$ mol de  $CO_2$ , enquanto o com benzeno acrescido depois houve produção total de 1400  $\mu$ mol de  $CO_2$  e o com acréscimo imediato de benzeno foi de 2013  $\mu$ mol de  $CO_2$ . A inserção imediata do benzeno não apresentou alterações significativas na taxa de respiração dos micro-organismos. Os resultados do ensaio de respirometria para os três tratamentos testados são apresentados na Figura 2 na forma de produção de  $CO_2$  acumulado durante o decorrer do teste respirométrico (abril a julho de 2017).

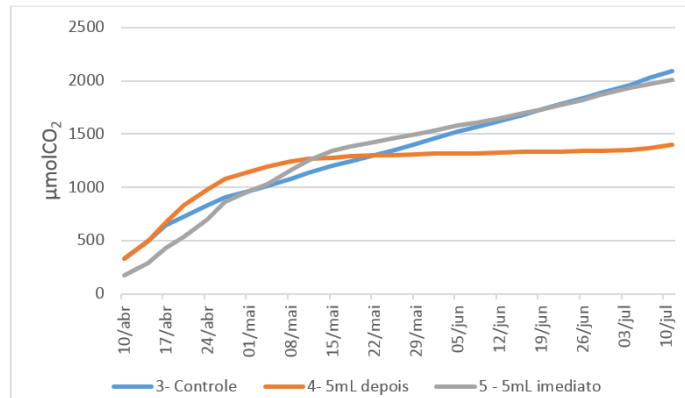


Figura 2: Quantidade de CO<sub>2</sub> biodegradado acumulado nos respirômetros

A taxa de respiração depois do acréscimo do benzeno foi mais baixa em todo teste, resultado compatível com o fato de o benzeno ser um composto de difícil degradação e justificado também pela ausência de outra fonte de carbono secundária que juntamente proporcionasse o crescimento microbiano.

Mesmo com a alta concentração do benzeno verificou-se atividade de respiração dos micro-organismos durante todo o ensaio, o que comprova que apesar de ter havido inibição e toxicidade, houve resistência por parte da microbiota. Os resultados encontrados comprovam a capacidade da microbiota de assimilar o benzeno em seu metabolismo como fonte de carbono.

### Conclusões:

Por meio do cultivo em quimiostatos de micro-organismos isolados de região do Cerrado/DF, foi verificada a biodegradação do benzeno por consórcios microbianos. Os resultados demonstram haver bom potencial de biodegradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Acredita-se que identificação da capacidade de biodegradação de hidrocarbonetos (benzeno) pela microbiota do solo apresentará impacto positivo no desenvolvimento científico, por meio do aumento do conhecimento referente ao tratamento de resíduos contendo esses compostos.

### Referências bibliográficas

- ABNT/NBR Associação Brasileira de Normas Técnicas. 14.283. Resíduos em solos – Determinação da biodegradação pelo método respirométrico. Rio de Janeiro, RJ, 08p., 1999.
- BAKER, K. H. e HERSON, D. S. Bioremediation. McGraw-Hill, Inc, Environmental Microbiology Associates, Inc. Harrisburg, Pennsylvania, 375p., 1994.
- BERNARDES, R. S. e SOARES S. R. A. Fundamentos da respirometria no controle da poluição da água e do solo. Ed. Universidade de Brasília, Finatec, 2005. 164p.
- COSTA, M. R. (2009). Uso da respirometria para avaliação da biodegradação aeróbia de lixiviado de resíduos sólidos urbanos em Latossolo Vermelho-Escuro. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação PTARTH.DM – 125/09, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 109p.
- FINGERMAN, Milton,; NAGABHUSHANAM, Rachakonda. EBRARY, INC. Bioremediation of aquatic and terrestrial ecosystems. Enfield, NH: Science Publishers, c2005. xi, 400 p.
- MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. Microbiologia ambiental. 2 ed. Jaguariúna: Embrapa, 2008. 647p.