

II – 192 – TRATAMENTO BIOLÓGICO DE EFLUENTES CONTAMINADOS POR COMPOSTOS MONOAROMÁTICOS DERIVADOS DO PETRÓLEO

Laisa Gabriele Batista de Jesus⁽¹⁾

Graduanda em Ciências Biológicas com ênfase em Ambientais

José do Carmo Barbosa Neto⁽²⁾

Graduando em Biomedicina

Bruna Kelly de Oliveira Silva⁽³⁾

Doutoranda em Ciências Biológicas, Mestre em Ciências Farmacêuticas, Pós-graduada em Análises Clínicas, Graduada em Ciências Biológicas Bacharelado

Fabrcio Motteran⁽⁴⁾

Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, do Centro de Tecnologia e Geociências (CTG) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Pesquisador do Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) e Laboratório de Biologia Molecular e Tecnologia Ambiental (LABIOTA). Membro do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UFPE.

Endereço⁽⁴⁾: Av. da Arquitetura - Cidade Universitária, Recife - PE, 50740-540 - e-mail: fabrcio.motteran@ufpe.br

RESUMO

Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno, conhecidos popularmente como compostos BTEX são hidrocarbonetos aromáticos, com baixo peso molecular, altamente voláteis e solúveis. Essas condições os tornam mais difíceis de serem removidos da natureza. Esses compostos são carcinogênicos e teratogênicos, mesmo em pequenas concentrações são considerados um risco à saúde. Mesmo assim, esses compostos são utilizados nas indústrias, na fabricação de diversos produtos, o que por sua vez aumenta o seu descarte no ambiente por meio de esgotos fabris e domésticos. Técnicas para a remoção destes compostos da natureza são caras e fastidiosas, sendo assim, o uso de tecnologias utilizando micro-organismos como biorremediadores está cada dia mais em destaque. Tendo ciência de que Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs) são repletas de micro-organismos com potencial para biorremediação, esta pesquisa visou utilizar o lodo proveniente da ETE multifabril do Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco, Brasil na análise de biodegradação de compostos BTEX permeadas por bactérias isoladas da estação em questão.

PALAVRAS-CHAVE: Micro-organismos, Biorremediação, BTEX, ETE.

INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos monoaromáticos derivados de petróleo mais conhecidos são: Benzeno, Tolueno, Xileno e Etilbenzeno (BTEX). Trata-se de compostos orgânicos voláteis, comumente associados à indústria petroquímica e que geralmente estão presentes em derivados de petróleo, sendo utilizados como solventes industriais para síntese de diversos produtos, como plástico, fibras sintéticas e pesticidas.

Esses compostos estão entre as principais referências de contaminantes ambientais dos últimos anos, chegando a se destacar na lista de poluentes prioritários da agência de proteção ambiental norte-americana *United States Environmental Protection Agency* (US EPA) devido ao seu elevado potencial carcinogênico e mutagênico. Os BTEX possuem relativamente alta solubilidade em água, podendo contaminar extensivamente solos e aquíferos subterrâneos, o que pode comprometer corpos hídricos e fontes de água potável (DOU et al., 2008), representando um sério problema ambiental e de saúde pública.

Tendo em vista os efeitos nocivos dos BTEX no ambiente e em organismos vivos, torna-se urgente o desenvolvimento de metodologias eficientes e capazes de minimizar sua presença no meio. As técnicas de combustão e condensação são técnicas convencionais de tratamento, que sofrem vários inconvenientes,

incluindo alto capital, custos de operação e manutenção, alto consumo de energia e produção de subprodutos tóxicos. Atualmente se aposta em processos de tratamento biológico, como a biorremediação, que utiliza a capacidade natural de microorganismo para degradar poluentes em produtos menos nocivos (FARHADIAN et al., 2008; MAZZEO et al., 2010). Esses organismos conseguem se desenvolver na presença desses compostos e geralmente são encontrados em ambientes poluídos com essas substâncias.

Dito isto, esta pesquisa tem como objeto de estudo a Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) Multifabril do Jaboatão dos Guararapes em Pernambuco, Brasil; administrada pela Companhia de Saneamento de Pernambuco (COMPESA) e que recebe esgotos domésticos e de indústrias de ramos diversos. A estação conta com três lagoas de tratamento, estas são ricas em micro-organismo capazes de metabolizar compostos descartados nesses locais, o que favorece a degradação, reduzindo a matéria orgânica e contaminantes.

OBJETIVO

Avaliar a tolerância dos microrganismos isolados da ETE multifabril do Jaboatão dos Guararapes para hidrocarbonetos monoaromáticos BTEX, visando à degradação destes compostos.

MATERIAIS E MÉTODOS

UNIDADE AMOSTRAL E COLETA

Esta pesquisa foi realizada na ETE multifabril que pertence a Companhia Pernambucana de Saneamento (COMPESA), localizada em Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco, Brasil. Esta unidade recebe esgotos de origem doméstica e principalmente efluentes industriais. A ETE conta com três lagoas de tratamento, todas com dois metros de profundidade, sendo a primeira, uma lagoa anaeróbia e as demais facultativas. Para as análises, ao todo foram coletadas 12 amostras de lodo e efluente com o auxílio de uma garrafa de *Van Dorn*. Todas foram acondicionadas e encaminhadas para o laboratório de Saneamento Ambiental da Universidade Federal de Pernambuco (LSA-UFPE).

ISOLAMENTO DOS MICRO-ORGANISMOS

As amostras de lodo e efluente foram centrifugadas e lavadas com solução salina a 0,9%, este procedimento foi repetido por três vezes. Posteriormente, três diluições seriadas foram realizadas. A primeira diluição foi lida em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 625 nm sendo considerado como aceito valores entre 0,08 e 0,13 nm. O plaqueamento das amostras se deu por semeio em superfície em placas de Petri contendo meio *Ágar Brain Heart Infusion* (BHI) e *Ágar Cetrimida*. Todo semeio foi realizado em triplicata. Os isolados obtidos do efluente passaram por extração a fim de se obter o DNA ribossomal 16S, seguindo protocolo de fenol quente. O DNA obtido foi purificado com Kit *Wizard PCR Clean-up* PROMEGA, os *primers* utilizados foram os 27 F e 1093 R. A amostra foi padronizada e enviada para sequenciamento utilizando a plataforma de sequenciamento de DNA do Laboratório Central da UFPE.

TESTE DE TOLERÂNCIA AOS HIDROCARBONETOS MONOAROMÁTICOS BTEX

O teste de tolerância aos BTEX foi realizado utilizando placas para microdiluição de 96 poços. A tolerância dos cinco isolados foram testadas com concentrações de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno que partiram de 1000 µg/mL até 3,9 µg/mL (coluna 1-9). A coluna 10 foi o controle do meio (apenas meio de cultura), a coluna 11 foi o controle do reagente (meio de cultura + reagente), enquanto que a coluna 12 foi o controle positivo (meio + 10 µL de inóculo). O meio utilizado no experimento foi o Caldo BHI. A tolerância foi medida seguindo os protocolos do *Manual Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2017), para Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Máxima Bactericida (CMB). As cepas utilizadas no experimento foram obtidas durante o isolamento.

RESULTADOS

ISOLAMENTO MICROBIANO

Neste estudo foram obtidos cinco isolados microbianos, sendo dois destes provenientes do efluente (Figura 1) e três do lodo. Os isolados do efluente já passaram por sequenciamento genético em larga escala, e as espécies com maior abundância relativa identificadas foram *Citrobacter freundii* (P) e *Enterobacter ludwigii* (G). Os isolados do lodo aguardam identificação e foram citadas como “L1P1”, “E3*” e E4*”.

Na figura 1 pode-se observar o resultado do isolamento de duas bactérias que estavam presentes no efluente. Na parte (A) observa-se o resultado de um semeio em superfície, realizado em triplicata, onde foi possível observar dois tipos de colônias diferentes. Na parte (B e C), é possível observar o tipo de crescimento de cada morfotipo isolado, onde “G” (B) apresenta-se com um aspecto mais mucóide em relação a “P” (C). Na parte (D e E), é possível observar o resultado da coloração de Gram, onde ambas apresentam-se como Gran-negativas.

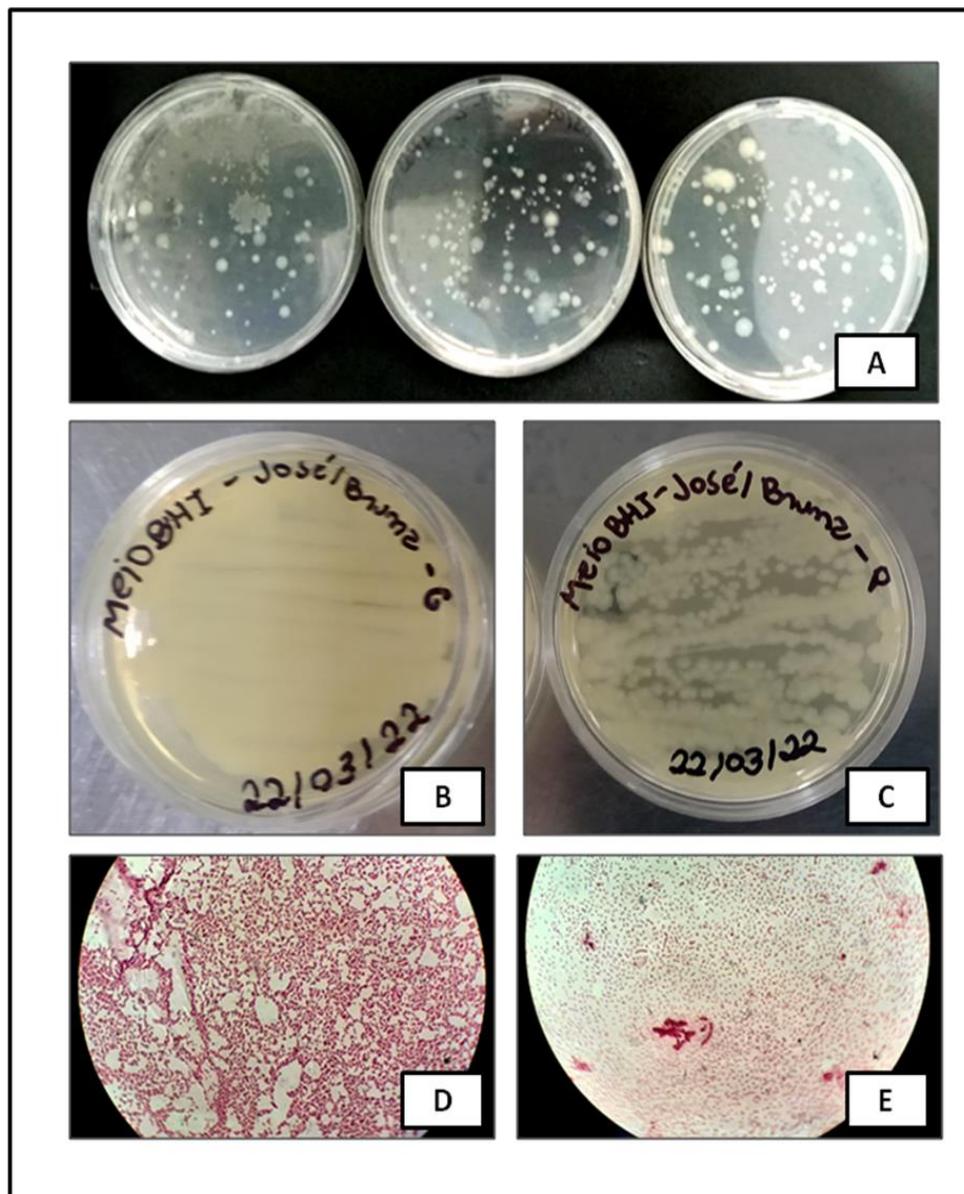


Figura 1. Resultado do isolamento de bactérias do efluente

TOLERÂNCIA AOS BTEX

O teste de tolerância aos BTEX demonstrou que ambos os isolados são resilientes aos reagentes, suportando altas concentrações dissolvidas no meio. A Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Bactericida (CMB) foram às seguintes (Tabela 1):

Tabela 1. Resultados do teste de tolerância aos compostos BTEX

CMI	CMB	
EFLUENTE		
<i>Citrobacter freubdii</i>		
1000 µg/mL	1000 µg/mL	BENZENO
500 µg/mL	1000 µg/mL	TOLUENO
500 µg/mL	500 µg/mL	ETILBENZENO
500 µg/mL	500 µg/mL	XILENO
<i>Enterobacter ludwigii</i>		
500 µg/mL	1000 µg/mL	BENZENO
500 µg/mL	500 µg/mL	TOLUENO
250 µg/mL	250 µg/mL	ETILBENZENO
500 µg/mL	500 µg/mL	XILENO
CMI	CMB	
LODO		
Isolado L1P1		
1000 µg/mL	1000 µg/mL	BENZENO
250 µg/mL	500 µg/mL	TOLUENO
500 µg/mL	1000 µg/mL	ETILBENZENO
1000 µg/mL	1000 µg/mL	XILENO
Isolado E3*		
1000 µg/mL	1000 µg/mL	BENZENO
500 µg/mL	1000 µg/mL	TOLUENO
500 µg/mL	1000 µg/mL	ETILBENZENO
500 µg/mL	500 µg/mL	XILENO
Isolado E4*		
500 µg/mL	1000 µg/mL	BENZENO
250 µg/mL	500 µg/mL	TOLUENO
250 µg/mL	500 µg/mL	ETILBENZENO
500 µg/mL	1000 µg/mL	XILENO

DISCUSSÃO

Entre as vantagens dos métodos para tratamento biológico por micro-organismo, destacam-se a degradação direta, que evita o aumento da contaminação do meio ambiente, a redução dos poluentes em produtos menos nocivos, a energia para degradação é fornecida pelo próprio contaminante e os custos de investimento e operação são baixos, se comparados com outros métodos.

Os micro-organismos presentes nas lagoas de tratamento demonstraram taxas de remoção de matéria orgânica e contaminantes compatíveis com o que está estabelecido na Resolução de Nº 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), o que demonstra um sistema eficiente podendo conter micro-organismos degradadores de hidrocarbonetos aromáticos. A característica predominante neste ETE é que a primeira lagoa possui boa parte de sua superfície recoberta por uma camada de matéria orgânica composta basicamente por óleos e graxas, o que cria condições de anaerobiose no sistema. Além disso, esta lagoa possui uma idade de lodo elevada (aproximadamente 5 anos), o que favorece a estabilidade de uma comunidade microbiana adaptada aos compostos tóxicos lançados ao sistema, com metabolismo adequado às condições.

Os resultados corroboram com a eficiência destes micro-organismos na degradação de compostos como os BTEX. O que indica que os organismos presentes na ETE Multifábrica possuem potencial para biorremediação, uma vez que conseguem ser tolerantes a um dos grupos de contaminantes mais recalcitrantes encontrados em ambientes contaminados.

CONCLUSÃO

Técnicas que empregam tratamento biológico vêm ganhando espaço na remediação de ambientes contaminados, por utilizarem a capacidade natural dos micro-organismos de degradar poluentes em produtos menos nocivos e utilizar o carbono contido nesses compostos tóxicos. A abundância de micro-organismo junto a suas altas taxas de crescimento permite que evoluam rapidamente e se adaptem às condições do ambiente sob estresse, até mesmo para ambientes que não permitem a proliferação de outras formas de vida. Nas lagoas de tratamento da ETE Multifábrica do Jaboatão dos Guararapes, existe uma população microbiana com potencial de degradação de hidrocarbonetos monoaromáticos. Todos os micro-organismos isolados apresentaram alta tolerância à toxicidade do BTEX e conseqüentemente podem ter potencial aplicação no tratamento biológico de efluentes contendo altas concentrações de substâncias presentes em compostos derivados de petróleo e de atividades industriais. Este estudo é o início de diversos testes de biodegradação dos BTEX fazendo uso de micro-organismos que degradam e que são resistentes a hidrocarbonetos aromáticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.

CONAMA, Resolução 430/2011; Disponível online em 16 de novembro de 2022 às 7:30h no link: https://www.saude.mg.gov.br/images/documentos/RE%20CONAMA%20403-2011_Lancamento%20de%20Efluentes.pdf

DOU, J.; LIU, X.; HU, Z. Substrate interactions during anaerobic biodegradation of BTEX by the mixed cultures under nitrate reducing conditions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 158, n. 2-3, p. 264-272, 2008.

EL-NAAS, M. H.; ACIO, J. A.; EL TELIB, A. E. Aerobic biodegradation of BTEX: Progresses and Prospects. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 2, p. 1104-1122, 2014.

FARHADIAN, M.; DUCHEZ, D.; VACHELARD, C.; LARROCHE, C. Monoaromatics removal from polluted water through bioreactors - A review. **Water Research**, v. 42, n. 6-7, p. 1325-1341, 2008.

FIRMINO, P. I. M. Tratamento anaeróbio e microaeróbio de águas sintéticas contaminadas com BTEX. 2013. 168 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental)-Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.



LIN B.; van VERSEVELD, H. W.; ROLING, W. F. Microbial aspects of anaerobic BTEX degradation. **Biomed Environ Sci.** 15(2):130-44. PMID: 12244754, 2002.

MARTIARENA, M. J. S. Avaliação da degradação bacteriana do BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno, xilenos) na presença de MTBE (metil ter butil eter) e etanol. 2016. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) - Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

MAZZEO, D. E. C.; LEVY, C. E.; DE ANGELIS, D. F.; MARIN-MORALES, M. A. BTEX biodegradation by bacteria from effluents of petroleum refinery. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 20, p. 4334-4340, 2010.

PERALTA-ZAMORA, P.; ESPOSITO, E.; REYES, J.; DÚRAN, N. Remediação de efluentes derivados da indústria de papel e celulose: tratamento biológico e fotocatalítico. **Química Nova**, v. 20, n. 2, p. 186-190, 1997.

WEELINK, S. A. B.; van EEKERT, M. H. A; STAMS, A. J. M. Degradation of BTEX by anaerobic bacteria: physiology and application. **Rev Environ Sci Biotechnol**, 9, 359–385, 2010.