

Remediação de rejeitos industriais empregando microorganismos

Marion Cony Carlos

Bolsista de Iniciação Científica, Microbiologia e Imunologia, UFRJ

Judith Liliana Solórzano Lemos

Orientadora, Eng. Química, D. Sc.

Andréa Rizzo

Co-orientadora, Eng. Química, M. Sc.

Resumo

O solo contém uma grande variedade de microrganismos, incluindo bactérias, fungos, protozoários, algas e vírus. Apesar desta diversidade, os microrganismos cultiváveis predominantes entre a microflora do solo são fungos e bactérias heterotróficas do domínio *Bacteria*. No entanto, é importante ter em consideração que a microbiota presente numa amostra de solo particular depende de várias características do solo, como umidade, pH, temperatura, conteúdo em oxigênio gasoso, composição em material orgânico e inorgânico, as quais variam de solo para solo e ao longo do ano.

A rápida expansão e sofisticação crescente de diferentes sectores industriais, especialmente nos últimos trinta anos, tem-se traduzido num incremento da quantidade e complexidade de resíduos tóxicos produzidos. Dentre as possíveis técnicas de tratamento, aplicáveis na descontaminação de áreas afetadas merecem especial atenção os tratamentos biológicos de descontaminação, uma vez que podem ser empregados para vários tipos de resíduos orgânicos e inorgânicos. Além do mais, pelo fato de serem processos naturais, supostamente não acarretariam nenhum impacto adicional e poderiam ser realizados a um baixo custo, quando comparados aos processos convencionais.

O presente trabalho apresenta uma revisão bibliográfica atualizada sobre o tema, de forma a subsidiar o desenvolvimento de trabalhos experimentais futuros.

1) Introdução:

Com o crescente desenvolvimento tecnológico e industrial há uma constante preocupação no mundo atual com a liberação de resíduos industriais metálicos, pois podem causar danos em todo o ecossistema.

A capacidade que os solos têm de atenuar estes impactos, através de processos naturais, biológicos, químicos e físicos, pode ser utilizado como tratamento na remediação de solos contaminados, e é conhecido com o nome de atenuação natural (Pérez, 2006). Os microrganismos são capazes de afetar a especiação dos metais, por causa de sua capacidade efetora ou mediadora nos processos de mobilização ou imobilização, que influenciam no equilíbrio das espécies metálicas entre as fases solúveis e insolúveis. A mobilização dos metais pode ser realizada por: protonação, quelação, e transformação química, enquanto que, a imobilização pode ocorrer por: precipitação ou cristalização de componentes insolúveis orgânicos e inorgânicos, ou por: absorção e

seqüestro intracelular. As reações redox podem mobilizar ou imobilizar os metais, dependendo do tipo de metal envolvido (Gadd, 2004).

As explorações microbiológicas de novos nichos ecológicos expandem o conhecimento sobre o domínio microbiano e ajudam a encontrar respostas para diferentes pesquisas, necessárias em diversos campos. Sítios contaminados representam nichos ecológicos, onde uma poluição histórica pode ter resultado em uma incomum biodiversidade microbiana, exercendo uma pressão ambiental, em parâmetros fundamentais como: abundância, diversidade, reciclagem de nutrientes, e cadeias alimentares. Nesses nichos, caminhos e redes metabólicas foram desenvolvidas como respostas adaptativas para condições drásticas. Esses caminhos e essas redes podem vir a representar uma potencial solução para áreas poluídas (Sprocati *et al.*, 2006).

A maioria das interações metais-microorganismos têm sido significativas para remoção, recuperação ou detoxificação de compostos orgânicos e inorgânicos ou radionuclídeos poluidores. Neste contexto, a solubilização pode tornar possível a remoção dos mesmos de matrizes sólidas, como solos, sedimentos, lixo e rejeitos industriais. Alternativamente, os processos de imobilização podem tornar possível que metais sejam transformados *in situ*, numa forma insolúvel e quimicamente inerte, e também são aplicáveis para remover metais em soluções aquosas (Gadd, 2004). Sítios contaminados podem ser uma fonte preferencial desses microorganismos, que representam então, um importante material, tanto para o estudo quanto para a aplicação da biorremediação com diferentes objetivos (Sprocati *et al.*, 2006). O termo biorremediação pode ter várias definições, mas segundo Martins *et al.* (2003): “A biorremediação é a ciência que busca, através do estudo, monitoramento e aplicação da propriedade biodegradativa dos microorganismos, a remediação ambiental.” Este termo, no caso dos metais pesados, pode parecer inapropriado, já que nenhum processo pode degradar, ou eliminar elementos inorgânicos. No entanto, em alguns casos sua imobilização mediada pelos microorganismos, pode ser a única forma praticável para proteger águas subterrâneas e a cadeia alimentar de uma contaminação (Sprocati *et al.*, 2006).

O zinco é um dos metais mais encontrados nos efluentes descarregados por indústrias envolvidas na galvanização, chapeamento (por meio de eletrólise), fábricas de baterias e outras indústrias metalúrgicas. O zinco como forma metálica, tem uma limitada biodisponibilidade e não apresenta nenhum risco ecológico. Entretanto, o zinco pode reagir com outras substâncias químicas como ácidos e oxigênio para formar compostos, que podem se tornar potencialmente tóxicos (Radhika *et al.*, 2006). Além disso, o zinco pode apresentar sérios riscos à saúde humana se ingeridos além do recomendado pela RDA (100-300 mg Zn/dia), como por exemplo, náusea, vômito, problemas gastro-intestinais, letargia, fadiga e alterações na resposta imune, segundo Fosmire (1990).

2) Revisão Bibliográfica

2.1) Biorremediação

O processo de biorremediação que se dá no local contaminado é denominado biorremediação *in situ*. Este processo por ocorrer de forma intrínseca, no qual a ciência pouco interfere, se vale dos microorganismos

existentes no local para a biodegradação. Quando há total ausência de interferência da ciência no processo, ele é denominado intrínseco-natural. Quando a ciência dá uma mãozinha à natureza, através da recolocação de microorganismos e outros processos muito próximos dos utilizados pela própria natureza, para fortalecer a ação dos microorganismos no processo de biodegradação, ele é denominado intrínseco-auxiliado. A biorremediação intrínseca é sempre *in situ*, ou seja, ela é, conceitualmente, sempre realizada no local da ocorrência contaminadora (Martins *et al.*, 2003).

Muitas vezes um simples auxílio não é suficiente para a remediação por biodegradação natural. Em alguns casos são aplicadas verdadeiras técnicas de engenharia, que vão desde a modificação topográfica do local, até a introdução de novos microorganismos (organismos autóctones), assim como, o uso de biorreatores, e a adição de nutrientes. As técnicas que alocam grande quantidade de recursos tecnológicos aliadas a um planejamento meticuloso e extenso, são chamadas de biorremediação engenhada. A biorremediação engenhada, dependendo das circunstâncias, pode ser realizada *in situ*, o que inicialmente é sempre recomendável por questões econômicas e de menor agressão ao meio ambiente. Há alguns casos, entretanto, em que o material ou parte do ambiente, normalmente quando se trata do solo, há de ser removido para se evitar riscos de alastramento da área contaminada. Neste caso, a biorremediação é denominada *ex situ* (Martins *et al.*, 2003).

2.2) Processos microbiológicos de remediação dos metais

2.2.1) Mobilização

A mobilização dos metais é a passagem de um estado insolúvel inicial (metais na forma de sulfetos ou óxidos metálicos, por exemplo), correspondente a uma fase sólida, para um estado solúvel final em fase aquosa (Pérez, 2006). Os microorganismos podem mobilizar os metais através da lixiviação autotrófica e heterotrófica, quelação por metabólitos e sideróforos microbianos, e metilação, que pode resultar em volatilização. Esses processos podem levar a uma dissolução de componentes metálicos e minerais insolúveis, incluindo os óxidos, fosfatos e sulfetos (Gadd, 2004).

a) Lixiviação heterotrófica

Os microorganismos podem acidificar seu ambiente pelo efluxo de prótons via as H⁺-ATPases da membrana plasmática, responsável pela manutenção do equilíbrio, ou como resultado da acumulação do dióxido de carbono respiratório. A acidificação pode levar a liberação dos metais por uma série de rotas. O metabolismo heterotrófico como resultado do efluxo de ácidos orgânicos e sideróforos, também podem levar a lixiviação. Os ácidos orgânicos podem fornecer suporte tanto para os prótons quanto para os ânions dos complexos metálicos. Os ânions dos citratos e dos oxalatos podem formar complexos estáveis com um grande número de metais. Muitos citratos metálicos são altamente móveis, e não prontamente degradáveis. O ácido oxálico também pode atuar como um agente lixiviante para os metais que formam complexos de oxalatos solúveis, incluindo Al e Fe.

Ultimamente tem sido demonstrada uma lixiviação efetiva numa variedade de rejeitos, como por exemplo, solos e lama, filtros de óxidos e poeira, cinzas e materiais de rejeitos eletrônicos. Uma cepa de *Penicillium simplicissimum* foi usada para lixiviar Zn a partir de ZnO insolúvel existente em um filtro industrial de poeira (Gadd, 2004).

b) Lixiviação autotrófica

A maioria da lixiviação autotrófica é realizada por bactérias quimiolitotróficas e acidofílicas que fixam o dióxido de carbono e obtém energia da oxidação de íon ferroso ou componentes sulfúricos reduzidos, que causam a solubilização dos metais por causa da produção de Fe(III) e H₂SO₄. Os microorganismos envolvidos incluem as bactérias sulfuro-oxidantes, como por exemplo, *Thiobacillus thiooxidans*, bactérias ferro e sulfuro-oxidantes, como a *Thiobacillus ferrooxidans* e bactérias ferro-oxidantes, como a *Leptospirillum ferrooxidans*. Como resultado da oxidação do enxofre e do ferro, os sulfetos metálicos são solubilizados com o pH de seu ambiente decrescendo imediatamente, resultando então, na solubilização de outros componentes metálicos. Essa lixiviação de sulfetos pelas espécies de *Thiobacillus* e outras bactérias acidofílicas, já está bem estabelecida numa escala industrial. No contexto da biorremediação, a produção autotrófica de ácido sulfúrico também foi usada para solubilizar metais a partir de lama de esgoto e solos. Num processo de dois estágios, as bactérias oxidantes de enxofre foram usadas para acidificar o solo e solubilizar metais tóxicos antes da remoção dos metais, a partir do líquido lixiviado contaminado com metal, usando bactérias sulfato-redutoras (Gadd, 2004).

c) Sideróforos

Os sideróforos são definidos como uma molécula de baixo peso molecular, considerados agentes quelantes, ion-férrico específicos, elaborados por microorganismos que crescem em ambientes de baixa concentração de ferro (Benite *et al.*, 2002). Essas moléculas são excretadas pelos microorganismos para auxiliar na assimilação do ferro (Gadd, 2004). O papel desses compostos é de recolher ferro do ambiente e tornar esse elemento químico essencial, disponível para a célula microbiana (Benite *et al.*, 2002). A assimilação pode ser melhorada pela ligação a minerais de ferro sólidos, como por exemplo, óxidos de ferro, para facilitar o contato com o substrato de ferro. Embora primariamente produzido para obtenção de ferro, os sideróforos também são capazes de se ligar a outros metais, como o magnésio, manganês, cromo(III), gálio(III) e radionuclídeos como plutônio(IV). Um método para o tratamento de solo arenoso contaminado por metais é a solubilização de metais mediada por sideróforos, pelo *Alcaligenes eutrophus*. Os metais solubilizados foram absorvidos pela biomassa e/ou precipitados, com a biomassa separada da lama por floculação. Isso resultou numa completa diminuição na biodisponibilidade de Cd, Zn e Pb (Gadd, 2004).

2.2.2) Imobilização

A imobilização é definida como a passagem de um estado solúvel inicial em fase aquosa para um insolúvel final em fase sólida (Pérez, 2006). Inúmeros processos levam a imobilização dos metais. Embora a imobilização reduza as espécies de metais livres mais externas, também pode promover a solubilização em algumas circunstâncias, causando um deslocamento do equilíbrio para liberar mais metal na solução (Gadd, 2004).

a) Bioabsorção e acumulação intracelular

A bioabsorção pode ser definida como, uma percepção microbiana em relação a algumas espécies de metais orgânicos e inorgânicos, ambos solúveis e insolúveis, por mecanismos físico-químicos, como a adsorção. Em células vivas, a atividade metabólica também pode influenciar esse processo por causa da mudança do pH, E_h , nutrientes orgânicos e inorgânicos, e do metabólitos. A bioabsorção também pode fornecer sítios de nucleação para a formação de minerais estáveis. Assim como a absorção para as superfícies celulares, algumas espécies catiônicas podem ser acumuladas dentro das células via os sistemas de transporte de membrana, variando a afinidade e a especificidade. Uma vez dentro das células, as espécies metálicas podem ser ligadas, precipitadas, localizadas dentro de estruturas ou organelas celulares, dependendo do elemento relacionado e o organismo (Gadd, 2004).

b) Precipitação metálica por bactérias redutoras de sulfato

Quando ocorre a redução de um metal para um estado redox menor, a mobilidade e a toxicidade também podem ser reduzidas, podendo ser aplicadas na biorremediação. Esses processos também podem ser associados a outros mecanismos indiretos de precipitação do metal reduzido indiretamente, como por exemplo, em sistemas sulfato-redutores de bactérias onde a redução de Cr(VI) pode ser um resultado indireto da redução por Fe^{2+} e o sulfeto produzido. A redução aeróbica ou anaeróbica de Cr(VI) para Cr(III) tem sido desenvolvida por vários microorganismos, e tanto a abordagem dos sistemas de reatores *ex situ* e o tratamento *in situ* tem sido documentados (Gadd, 2004). Algumas bactérias sulfato-redutoras, como a *Desulfotomaculum reducens*, compartilham algumas propriedades fisiológicas de ambos os grupos de bactéria, sulfato-redutora e metais-redutoras e podem crescer com Cr(VI), Mn(IV), Fe(III) e U(IV) como aceptores de elétrons únicos (Gadd, 2004).

As bactérias sulfato-redutoras oxidam compostos orgânicos ou H_2 com a redução do sulfato, produzindo sulfeto. Os produtos de solubilidade da maioria dos sulfetos dos metais pesados são muito baixos, na casa dos $4,65 \times 10^{-14}$ (Mn) até $6,44 \times 10^{-53}$ (Hg), então, até uma saída moderada de sulfeto pode remover metais em níveis permitidos no ambiente, com a remoção dos metais sendo diretamente relacionada à produção do sulfeto (Gadd, 2004). A redução do sulfato pode promover a remoção dos metais de rejeitos contaminados tanto *in situ* quanto *ex situ*, e também pode contribuir para a remoção de metais e da acidez, em áreas alagadas artificiais e naturais.

Um processo integrando às bactérias redutoras de sulfato com a biolixiviação por bactérias oxidantes de enxofre tem sido desenvolvido para a remoção de metais tóxicos contaminantes de solos. Nesse processo, as bactérias oxidantes de enxofre e ferro são empregadas para liberar metais dos solos pela quebra de minerais sulfetados e produção de ácido sulfúrico. Os metais são liberados na forma de uma solução ácida de sulfato que permite tanto a remoção de uma grande proporção da acidez, quanto a dos metais, quase que plenamente, pela sulfato-redução bacteriana. Os reatores de biofilme de bactérias redutoras de sulfato podem oferecer um meio de intensificação do processo e aprisionamento ou precipitação de metais, como por exemplo, Cu e Cd, na superfície do biofilme (Gadd, 2004).

3) Atividades desenvolvidas no período abril/2007 até julho/2007

- Treinamento em técnicas laboratoriais;
- Apoio no projeto da mestrandia Sabrina Dias executando algumas atividades, como por exemplo:
 - a) Preparo do solo para os ensaios e amostragem.
 - b) Análise de pH, quantificação de óleos e graxas e análise de gás carbônico por cromatografia gasosa.
 - c) Preparo de meios de cultura e soluções. Plaqueamento e contagem de colônias de heterotróficos totais e fungos. Descarte apropriado.
- Leitura de artigos científicos;
- Participação semanal na roda de seminários internos para discussão dos projetos desenvolvidos pelo CETEM;

4) Próximas atividades a serem realizadas

- Estudar técnicas de isolamento e identificação de microrganismos com aplicação biotecnológica na remediação de rejeitos industriais, sob a supervisão e orientação da D. Sc. Liliana Lemos.

5) Considerações finais

- Para tentar solucionar e/ou minimizar os problemas causados pela contaminação devido à liberação de rejeitos industriais, várias técnicas já foram utilizadas, como por exemplo, a remediação através de processos químicos. Porém, dentre os trabalhos revisados, a remediação feita através de microrganismos foi mostrada com mais eficiência, no que se diz respeito a menor agressão a todo ecossistema envolvido. Os processos estudados apresentam um grande potencial biotecnológico, embora tenham sido explorados somente numa escala laboratorial. Sendo assim, nossa pesquisa irá explorar processos que já obtiveram sucesso, sempre com o principal objetivo que no futuro possa ser empregado numa escala industrial.

6) Referências Bibliográficas

BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. P.; MACHADO, B. C. Sideróforos: “Uma resposta dos microorganismos”. **Quim. Nova**, Vol. 25, No. 6B, 1155-1164, 2002

FOSMIRE, G. J. Zinc Toxicity. **Am. J. Clin. Nutr.** 51, 225-227, 1990.

GADD, G. M. Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. **Geoderma** 122, 109-119, 2004.

MARTINS, A.; DINARDI, A. L.; FORMAGI, V. M.; LOPES, T. A.; BARROS, R. M.; CONEGLIAN, C. M. R.; BRITO, N. N.; SOBRINHO, G. D.; TONSO, S.; PELEGRINI, R. Biorremediação. **III Fórum de Estudos Contábeis – Faculdade Integradas Claretianas–Rio Claro– SP, 2003** < <http://www.ceset.unicamp.br/lte/Artigos/3fec2401.pdf> > Acesso em: 4 de julho de 2007.

PÉREZ, O. C., Atenuación natural de suelos contaminados con residuos tóxicos de origen minero. Aislamiento y caracterización microbiana. Relatório interno de atividades da Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Habana, Cuba, 2006.

RADHIKA, V.; SUBRAMANIAN, S.; NATARAJAN, K. A. Bioremediation of zinc using *Desulfotomaculum nigrificans*: bioprecipitation and characterization studies. **Water Research** 40, 3628-3636, 2006.

SPROCATI, A.; R. ALISI, C.; SEGRE, L.; TASSO, F.; GALLETTI, M.; CREMISINI, C. Investigating heavy metals resistance, bioaccumulation and metabolic profile of a metallophile microbial consortium native to an abandoned mine. **Science of the total environment** 366, 649–658, 2006.