

Biorremediação e remediação com fluido ácido residual *Bioremediation and remediation with acid residual fluid*

Josimara Nolasco Rondon¹, Mariane Baia de Aguiar², Talita Thais Correia Pimenta³, Helena de Cassia Brassaloti Otsubo⁴, Ismael Thomazelli Junior⁵, Marcelo Nolasco Rondon⁶, Joao Roberto Fabri⁷, Cristiano Marcelo Espinola Carvalho⁸, Digelson Pazeto Morais⁹

^{1,7}Doutor(a), Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, Brasil

^{2,3}Graduanda de Engenharia Sanitaria e Ambiental, Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, Brasil

⁴Pós-Doutorado em Biotecnologia, Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, Brasil

⁵Técnico de pesquisa, Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, Brasil

⁶Mestrando, Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, Brasil

⁸Técnico agrícola, Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, Brasil

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a viabilidade da utilização do *F. moliniforme* em biorremediação e remediação de compostos a base de plásticos e outros polímeros utilizando resíduos poluentes. A sobrevivência foi observada por análises de sobrevivência/resistência e crescimento em poluentes de concreto por 30 dias. Avaliou-se o tamanho das colônias em fluido de bateria (pH=0,1) semanalmente e avaliações de pH em três balões volumétricos de 1000 mL, possuindo em cada um, 133 mL de fluido de bateria + 100 mg de *Fusarium moliniforme*. Para avaliação de desenvolvimento e formação de colônias de microorganismos mineradores, utilizou-se 320g de amostras de material de concreto distribuídas em três bandejas. E inseriu-se solução com algas verdes de vida livre e *Fusarium moliniforme*. Com a mistura do fluido de bateria com um meio nutritivo para a inoculação do *Fusarium moliniforme*, em um ambiente alcalino (pH entre 10 a 14). Observou-se o crescimento de colônias e alteração de um dos pHs para um meio neutro (pH 7,0): 78 colônias. Em três dias a luva iniciou a diluição, e completou a transformação em 30 dias. Esse processo ocorreu com uma combinação de fluido de bateria e brita residual de construção e cal que promoveu essa transformação da fase sólida em fase líquida em apenas 30 dias. Após 2 dias o fluido se neutralizou (pH 7) e assim se mantendo constante. O fluido de bateria pode ser neutralizada com adição de carbonatos por remediação. A combinação de fluido de bateria mais carbonatos digeriram o estado sólido da luva cirúrgica em borracha natural pode ser reutilizada pela indústria na produção de novos produtos. *Fusarium moliniforme* deve ser utilizado como biorremediador no tratamento de solos contaminados ex situ, por bioadição e bioaumentação, pois esse fungo neutralizou pH ácido de solos contaminados com resíduo de concreto.

Palavras-chave: transformação, pHs, borracha natural, co-produto, concreto

Abstract

The aim of this study was to evaluate the feasibility of using bioremediation and *F. moliniforme* in remediation of compounds made from plastics and other polymers using waste pollutants. The survival analyzes for survival / growth resistance and pollutants in the concrete for 30 days was observed. We evaluated the size of the colonies in battery fluid (pH = 0.1) and weekly reviews of pH in three 1000 mL volumetric flasks, having in each 133 mL of battery + 100 mg of *Fusarium moliniforme*. To review the development and formation of colonies of microorganisms miners, we used 320g samples distributed in three trays concrete material. And was inserted solution of green algae free and *Fusarium moliniforme* life. With mixing the solution with a battery for inoculation of nutrient *Fusarium moliniforme* in an alkaline environment (pH between 10 and 14) means. Observed the growth of colonies and changing an pHs for a neutral medium (pH 7.0): 78 colonies. In three days sleeve dilution initiated and completed processing within 30 days. This process occurred with a combination of solution and battery residual crushed lime construction and promoted the transformation of the solid phase in the liquid phase in only 30 days. After 2 days s solution was neutralized (pH 7) and thus remaining constant. The battery solution can be neutralized with the addition of carbonates for remediation. The combination of battery solution more carbonates digested the solid state of natural rubber surgical glove can be reused by the industry to produce new products. *Fusarium moliniforme* biorremediador should be used as the treatment of contaminated soils ex situ, bioadition and bioaugmentation because this fungus neutralized acidic pH of contaminated soils with concrete residue.

Keywords: Transformation, pH, natural rubber, co-product, concrete

I INTRODUÇÃO

A remoção dos poluentes por fungos começou a ser estudado nos últimos trinta anos do século XX (SOARES et al., 2011). Os primeiros trabalhos com a biorremediação através de fungos foi com o uso de *Saccharomyces cerevisiae* para remoção de lindano e dieldrin por Nobles em (1975) seguido pelo estudo de Khindariaet et al., (1975) que estudaram a degradação de heptacloro por fungos do gênero *Aspergillus*.

Alguns compostos devem como o benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos compostos são conhecidos como BTEX, sendo definidos como hidrocarbonetos monoaromáticos, cujas estruturas moleculares possuem como característica principal a presença do anel benzênico. São usados, principalmente, herbicidas, em solventes e em combustíveis e são os constituintes mais solúveis na fração da gasolina (ANDRADE et al., 2010).

Os fungos realizam reações de assimilação dos hidrocarbonetos sendo eles a única fonte de carbono e energia, resultando na formação de dióxido de carbono. Podendo ser também pela reação de oxidação. A oxidação de hidrocarbonetos aromáticos, por exemplo, iniciado com uma oxidação de óxidos de areno pelo citocromo (SINGH, 2006).

Outro tipo de oxidação conhecido como biodeterioração é um fenômeno que envolve a participação de microorganismos, como por exemplo bactérias e fungos, ou de macroorganismos (cupins, roedores, etc.) contribuindo para a deterioração de materiais de importância econômica expostos a condições ambientais específicas.

O fungo endofítico *Fusarium moliniforme* habita o interior de colmos de 2 espécies de bambu, o que levou a considerar que todas as plantas podem ser hospedeiras de um ou mais fungos endofíticos, podendo haver ou não interespecificidade e/ou dependência (SILVA, RONDON, 2013). O conhecimento destes microrganismos, de sua biodiversidade, da filogenia e das relações ecológicas bióticas e abióticas, é promissor e de suma importância para se entender as diferentes interações e funcionalidades em um ecossistema, para a bioprospecção e para a biotecnologia, principalmente para uso na remoção de poluentes.

Pode-se transformar um fungo sem interesse econômico em uma verdadeira indústria de produtos enzimáticos de interesse da biotecnologia, por exemplo.

Com base nestas observações, o presente estudo teve como objetivo avaliar a viabilidade da utilização do *F. moliniforme* no tratamento ex situ de solos contaminados e remediação de compostos a base de plásticos e outros polímeros utilizando resíduos poluentes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Das estacas de *Bambusa vulgaris* (Poaceae) foi isolado o fungo em placas de petri contendo o meio Potato Dextrose ágar (PDA), identificado por meio de microscopia óptica como *Fusarium moliniforme* pela literatura consultada (The *Fusarium* Laboratory Manual de Leslie e Summerell (2006).

A sobrevivência de *Fusarium moliniforme* foi observada nos experimentos testes por análises de sobrevivência/resistência e crescimento em poluentes de concreto por 30 dias. Realizou-se análise do tamanho das colônias em fluido de bateria (pH=0,1) semanalmente e avaliações de pH em três balões volumétricos de 1000 mL, possuindo em cada um, 133 mL de fluido de bateria + 100 mg de *Fusarium moliniforme*.

Para avaliação de desenvolvimento e formação de colônias de microorganismos mineradores, utilizou-se 320g de amostras de material de concreto distribuídas em três bandejas. E inseriu-se solução d algas verdes de vida livre e *Fusarium moliniforme*. A observação se estendeu por 30 dias.

3 RESULTADOS

As colônias se formaram logo na primeira semana, com uma média de 108 colônias por bandeja (figura 1).



Figura 1. Surgimento de micro-organismos (algas de vida livre na superfície do solo) e bioaumentação de *Fusarium moliniforme* nas amostras de material de construção.

Neste experimento composto por material de construção (resíduos de obras) misturado com areia autoclavada e umidificada com água destilada apresentaram o aparecimento e crescimento em período constante de colônias de algas de vida livre biomineradoras, provenientes do próprio material de construção, uma vez que esse foi encontrado descartado de forma inadequada.

A hipótese foi confirmada com a contagem de colônias desse fungo nas amostras, podendo ser visualizada nas paredes dos balões. Essa forte acidez foi favorável ao crescimento fúngico havendo uma rápida adaptação (Figura 2).

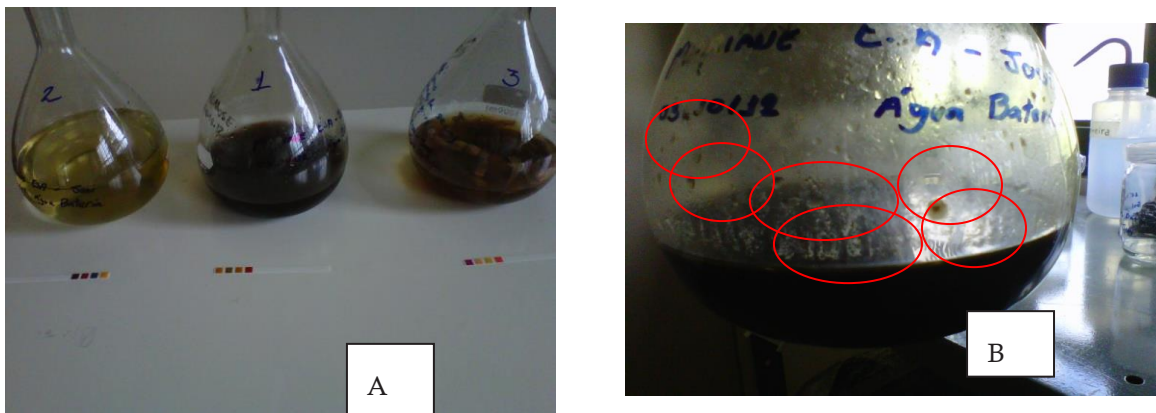


Figura 2. (A) Balões de vidro contendo solução de bateria após neutralização do pH. (B) Solução de bateria contendo colônias de *Fusarium moliniforme* na parede do recipiente de vidro ainda após 30 dias (no interior de círculos vermelhos).

Com a mistura da solução de bateria com um meio nutritivo para a inoculação do *Fusarium moliniforme*, em um ambiente alcalino (pH entre 10 a 14), em alguns dias surgiram resultados como o crescimento de colônias e alteração de um dos pHs para um meio neutro (pH 7,0). O aparecimento foi observado nas amostras, apresentando 78 colônias. Assim ao longo do período, as colônias estabeleceram o crescimento e eventualmente foram substituídas por outras novas colônias (20), conforme mostra a figura 3.

Na figura 3 a solução de bateria foi submetida a determinadas reações com brita residual de construção que apresentou mudanças na coloração da solução, porém, sem alteração do pH que era o principal foco do experimento. A seguir foram adicionados carbonatos nessa mistura, ocorrendo a mudança de pH (de um meio totalmente ácido (pH 1,0) para um meio neutro (pH 7,0)).



Figura 3. Remediação com carbonatos, brita e fluido de bateria.

Em três dias a luva iniciou a diluição, e completou a transformação em 30 dias, tornando-se borracha natural. Esse processo ocorreu com uma combinação de solução de bateria e brita residual de construção e cal que promoveu essa transformação da fase sólida em fase líquida em apenas 30 dias. Além disso, a solução de bateria foi neutralizada pela presença de carbonatos e brita.



Figura 4. Luva cirúrgica transformada por remediação em polímero de borracha natural.

Na primeira averiguação de pH da solução de bateria considerado dia 1, seu pH de 0,4. A neutralização ocorreu no dia 8. Posteriormente a solução tornou-se básica tendo um valor de pH 13. Após 2 dias a solução se neutralizou (pH 7) e assim se mantendo constante (figura 5).

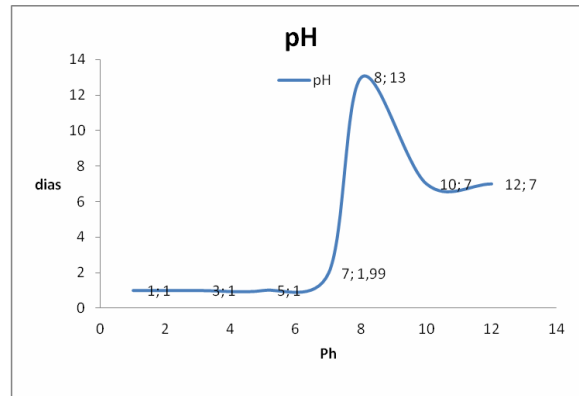


Figura 5. Avaliações de pH de fluido ácido de bateria durante processo de remediação.

4 DISCUSSÃO

A biodeterioração do concreto é um fenômeno no qual a atividade metabólica e o crescimento de microrganismos em regiões localizadas do concreto, o qual pode levar à produção de ácidos e, por conseguinte, propiciar a dissolução de compostos hidratados do cimento, especialmente o Ca(OH)_2 além de silicatos hidratados. O fenômeno da biodeterioração parece ser inicialmente aeróbio, ocorrendo na superfície do concreto com contato com o ar atmosférico no interior do túnel. O biofilme é formado inicialmente pela alga verde *Anabaena sp.* criam microrregiões favoreceu o crescimento de *F. moliniforme* redutores desses carbonatos dos resíduos de construção.

O efeito da produção de baterias sobre o ambiente pode ser dividido em dois aspectos ocupacional, devido à contaminação do ambiente interior à fábrica e ambiental, devido à emissão de efluentes para as regiões externas à fábrica. A ocorrência de solos contaminados com o elemento chumbo está se tornando cada vez mais comum. Ele é, essencialmente, um contaminante ambiental e suas concentrações no meio ambiente vem aumentando de acordo com a aplicação sempre crescente em diversos produtos industriais necessários à sociedade moderna. Por isso, o desenvolvimento de microrganismos tolerantes e adaptados a metais pesados são importantes para auxiliar na recaptura por biossorção de contaminantes presentes no solo.

No presente estudo observou-se que o uso de resíduo de fluido de bateria na transformação de material de borracha em matéria prima não produz resíduo com gás tóxico como o uso de amônia. Somente a presença da solução de bateria em contato com a luva não é capaz de produzir o mesmo resultado, por isso fá a necessidade de se utilizar carbonatos.

O fungo *F. moliniforme* mostrou ser capaz de crescer e se reproduzir em condições extremas de pH alcançadas com o uso de fluido de bateria.

A alteração da cor da solução de bateria após adição de carbonatos, após aferição de pH, e neutralização pode ser corroborada na literatura, como mudança de cor dos contaminantes tem sido relatada em diversos estudos (MARTINEZ et al., 2008; CLEMENTE et al., 2001; MARIANO et al., 2006) e também no estudo de Cookson (1995) que a passagem para a cor cinza serve como indicador de remediação de alguns compostos tóxicos. E também o clareamento como neutralização dos compostos nos estudos de Vitali et al. (2006).

A matéria orgânica, com exceção dos polímeros de cadeia muito longa, é sempre uma fonte de alimento para as bactérias heterotróficas e fungos. Muitos contaminantes do meio e, particularmente do solo urbano, como os hidrocarbonetos constituintes do óleo diesel e da gasolina, concreto, plásticos, por exemplo, podem ser utilizados como alimento.

Com relação à alteração das luvas, a degradação de polímeros ocorre pela ruptura de ligação por fenômenos físicos e químicos. Embora eles se deformem com o aumento da temperatura, esse amolecimento não leva ao rompimento das ligações covalentes, entretanto condições severas podem romper essas ligações e qualquer mudança na estrutura afetará as propriedades do material. As ligações covalentes e de Van der Waals se rompem pela influência de reações químicas, como o fluido de bateria.

5 CONCLUSÕES

A solução de bateria pode ser neutralizada com adição de carbonatos por remediação. A combinação de solução de bateria mais carbonatos digeriram o estado sólido da luva cirúrgica em matéria-prima, ou seja, o líquido da borracha natural pode ser reutilizada pela indústria na produção de novas luvas, ou outro material derivado da borracha natural.

O fungo *Fusarium moliniforme* deve ser utilizado como biorremediador no tratamento de solos contaminados *ex situ*, por bioadição e bioaumentação, pois esse fungo neutralizou pH ácido de solos contaminados com resíduo de concreto.

REFERENCIAS

- ANDRADE, J.A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I.C.S.F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. *Eclética Química*, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 17-43, 2010.
- BAMFORTH, S.; SINGLETON, I. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 80, n.7, p.723-736, 2005.
- BENTO, F.M.; CAMARGO, F.A.O.; OKEKE, B. C.; FRANKENBERGER, W. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource Technology*, v. 96, 1049-1055, 2005.
- BRITO, N. N.; ZAMORA, P. P.; NETO, A. L. O.; DE BATTISTI, A.; PATERNIANI, J. E. S.; PELEGRINI, R. T. Utilização de fungos na remediação de efluentes industriais. IV Fórum de Estudos Contábeis, Faculdades Integradas Claretianas, Rio Claro, SP, 2004.
- CLEMENTE, A.R.; TANIA, A.; ANAZAWA, T.A.; DURRANT, L.R. biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by soil fungi. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2001.
- COOKSON, L. J. Reliability of poly B-411, a polymeric anthraquinone based dye, in determining the rot type caused by wood-inhabiting fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, v.61, n. 2, 801-803, 1995.
- DIAS, A. E. X. O. Biorremediação de áreas afetadas por resíduos sólidos tóxicos. In: SISINNO, C. L. S.; OLIVEIRA, R. M. (Org.) *Resíduos Sólidos, Ambiente e Saúde: uma visão multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 142 p, 2000.
- GAYLARDE, C. C.; BELLINASSO, M. D. L.; MANFIO, G. P. Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, n.34, 2005.
- KHINDARIA, A.; GROVER, T.A.; AUST, S.D. Reductive dehalogenation of aliphatic halocarbons by lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. *Environmental Science Technology*, v. 29, p.719-725, 1975.
- LEMA, J. M., et al. Characteristics of landfill leachates and alternatives for their treatment: a review. *Water, Air & Soil Pollution*, v. 40, 223-250, 1988.
- LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing, 2006.
- MARTINEZ, C.O.; SILVA, C.M.M.S.; FAY, E. F. Caracterização de Bactérias e Fungos envolvidos na Degradação de Sulfentrazona em Solos. *Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente*. 22 p. - (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 2008.
- MARIANO, A. P. et al. Laboratory study on the bioremediation of diesel oil contaminated soil From a petrol station. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2007.

MARIANO, A. P. Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro: [s.n.], 2006.

MAZZEO, D. E. C. Avaliação dos efeitos citotóxicos, Genotóxicos e mutagênicos do btex, antes e após o processo de biorremediação por microrganismos, utilizando os sistemas teste de *Allium cepa* e cultura de células de mamífero. Dissertação (mestrado) -Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, Rio Claro : [s.n.], 2009.

NETO, P. A. D. S. P.; AZEVEDO, J. L.; ARAUJO, W. L. Microrganismos Endofíticos. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, n. 29, 2003.

NOBLES, M.K. Identification of cultures of wood-inhabiting. Hymenomyces. *Canadian Journal of Botany*, v. 43, p. 1097-1139, 1975.

OLIVEIRA, S. D. Avaliação das técnicas de bioaumento fúngico e bioestímulo em processos de biorremediação utilizando solo contaminado por petróleo. (Dissertação) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2008.

RODRIGUES, R.L. Fungos endofíticos associados a *Vellozia compacta* Mart. ex Schult. F. (Velloziaceae) presente em afloramentos rochosos nos estados de Minas Gerais e Tocantins. Dissertação Universidade Federal de Ouro Preto do Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Biomas Tropicais. Ouro Preto – MG, 2010.

RUSSELL, J.R., et al. Biodegradation of Polyester Polyurethane by Endophytic Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, doi:10.1128/AEM.00521-11 AEM Accepts, published online ahead of print, 2011.

SANTOS, V.L.; LINARDI, V.R. Biodegradation of phenol by a filamentous fungi isolated from industrial effluents - identification and degradation potential. *Process Biochemistry*, v. 39, n. 8, p. 1001-1006, 2004.

SILVA, M.B., RONDON, J.N. UTILIZAÇÃO DE FUNGO DE BAMBU NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, v. 10, p. 2175-2184, 2013.

SINGH, H. *Mycoremediation: fungal bioremediation*. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey.617p. 2006.

SOARES, L. A.; et al. Fungos na biorremediação de áreas degradadas. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 78, n. 2, p.341-350, 2011.

VITALI, V. M. V., et al. Screening mitosporic fungi for organochlorides degradation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2006.

WATTS, R.J.; HALLER, D.R.; JONES, A.P.; TEEL, A.L. A foundation for the risk-based treatment of soline contaminated soils using modified Fenton's reactions. *Journal Hazard. Mater*, v. 76, p.73-89, 2000.