

ANÁLISE DO COMPORTAMENTO DE HIDROCARBONETOS FRENTE À ADIÇÃO DE BIOSSURFACTANTE PRODUZIDO POR *Pseudomonas aeruginosa* EM SOLO CONTAMINADO. Jhoanne Hansen; Maria Benincasa Vidotti. - Ciências Biológicas - Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-UNESP-Campus de Jaboticabal.

A crescente liberação de hidrocarbonetos de petróleo no meio ambiente tem levado à procura de tecnologias que tratem o ambiente contaminado, trazendo-o o mais próximo possível do seu estado original. Uma das técnicas utilizadas é o processo de biorremediação, que consiste no uso de produtos biossintetizados por microorganismos, como bactérias, para degradar substâncias, muitas vezes perigosas para os ecossistemas, transformando-as em substâncias com pouca ou nenhuma toxicidade.

Evidências atuais sugerem que os microorganismos são os principais agentes de biodegradação de contaminantes no meio ambiente incluindo derivados de petróleo (BALBA *et al*, 1998). A biorremediação é economicamente e politicamente viável e tem mostrado resultados promissores em solos contaminados com compostos orgânicos, particularmente com hidrocarbonetos de petróleo. No entanto, o passo limitante para a biodegradação destes contaminantes é o fato de não estarem prontamente disponíveis ao metabolismo bacteriano, devido a sua baixa solubilidade em sistemas aquosos (CUBITO *et al*, 2004).

Entre as possíveis soluções tecnológicas à biodisponibilidade limitada do poluente, uma das mais promissoras é a aplicação de surfactantes para sua mobilização. Surfactantes aumentam a solubilidade dos hidrocarbonetos formando micelas. No entanto, efeitos negativos podem ser observados, por exemplo, devido à toxicidade do produto à microflora endógena. A utilização de surfactantes microbiológicos, denominados biossurfactantes, pode solucionar esse problema, uma vez que não trazem efeitos tóxicos ao meio ambiente. Biossurfactantes ocorrem naturalmente no solo e a utilização destes produtos em biorremediação vem a ser mais aceitável sob o ponto de vista social (Noordman *et al*, 2002).

Isso se dá com a liberação de produtos do metabolismo destes microorganismos, que facilitam o processo. Biossurfactantes são moléculas anfipáticas, onde a porção apolar é freqüentemente uma cadeia hidrocarbonada enquanto a porção polar pode ser iônica (aniônica ou catiônica), não-iônica ou anfotérica com propriedades que foram exploradas para uma variedade de aplicações industriais e de biorremediação. Com o auxílio de biossurfactantes, os microorganismos podem transportar contaminantes hidrofóbicos com maior eficácia para o interior de suas células e utilizá-los como fonte de carbono, gerando sua degradação (ATLAS *et al*, 1992).

Comparado com os surfactantes sintéticos, os biossurfactantes reduzem a tensão interfacial em misturas bifásicas, são atóxicos e inteiramente biodegradáveis (REISER *et al*, 1989). Também apresentam elevada estabilidade térmica e de pH, o que os tornam apropriados para ser utilizados em ambientes com condições mais precárias.

Em estudos preliminares, o efeito de biossurfactantes foi avaliado em ensaios de biotrabilidade contendo solos contaminados. A concentração de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (TPH) foi analisada e verificou-se que a adição de biossurfactante foi responsável pela remoção de 98% do contaminante após 80 dias, enquanto os tratamentos que não receberam o produto apresentaram uma redução de 20% (BENINCASA *et al*, 2005).

Considerando-se a importância dos biossurfactantes no aumento da biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo no meio ambiente, neste trabalho foram realizados experimentos com a finalidade de avaliar o comportamento de hidrocarbonetos presentes no solo frente à adição de biossurfactantes ramnolipídicos, produzidos a partir de resíduos agroindustriais.

O biossurfactante utilizado no experimento foi produzido em nosso laboratório, através do cultivo de *Pseudomonas aeruginosa*, isolada de solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo, utilizando-se diferentes resíduos agroindustriais como fonte de carbono. Após 62 horas de cultivo, o meio foi centrifugado a 10000 g, a 4°C, por 15 minutos. O sobrenadante, livre de células, teve a concentração de

ramnolípídios determinada e ajustada de acordo com a concentração desejada através de evaporação em estufa de circulação.

O experimento foi realizado em colunas de PVC, contendo três tipos de solos, variando em sua composição, que tiveram sua capacidade de retenção de água ajustada para 60% da capacidade total. As colunas receberam uma contaminação com 12500 mg de óleo diesel/kg de solo. Cada tipo de solo foi dividido em grupo controle (sem biossurfactante) e com biossurfactante, ambos em triplicata. Nas colunas com biossurfactante, adicionou-se 1 mg/kg de solo do produto.

Simularam-se chuvas diárias de até 90 mm, no período de 10 dias (10 mm/dia), recuperando-se o líquido percolado a cada dia. O efluente das colunas foi analisado, avaliando-se concentração de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (TPH), por gravimetria, através de extração líquido-líquido com diclorometano na proporção 1:1; tensão superficial, através do método do anel de Du Nouy e concentração de biossurfactante, através da concentração de ramnose por método colorimétrico.

Os resultados obtidos estão sendo estudados e analisados.

Referências Bibliográficas

Atlas, R.M.; Bartha, R. (1992) Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation. **Advances Microbial Ecology**, v 12, p 287-338.

Balba, M.T., , N. AL-Awadhi, R. AL –Daher. (1998) Biorremediation of oil-contaminated soil: microbiological for feasibility assesment and field evaluation. **Jornal of Microbiological Methods** v.32, p.155-164.

Benincasa, M. ; Kronka, E.M. ; Coppede, J.S (2005) Effect of biosurfactant produced from vegetable oil refinery industry on petroleum hydrocarbon contaminated soil bioremediation. In: 3rd European Bioremediation Conference, 2005, Chania - Greece. e- Proceeding of the 3rd European Bioremediation Conference, 2005.

Cubitto MA, Morán, AC, Commendatore M, et al (2004) Effects of *Bacillus subtilis* O9 biosurfactant on the bioremediation of crude oil-polluted soils. **Biodeg** 15: 281-287.

Noordman W, Janseen DB (2002) Rhamnolipid stimulates up-take of hydrophobic compounds by *Pseudomonas aeruginosa*. **Appl. Environ Microb**, 68: 4502-4508.

Reiser, J., A. K. Koch, K. Jenny, and O. Kappeli. (1989) Structure, properties, and production of biosurfactants, p. 85-97. In J. W. Orbringer and H. S. Tillinghast (ed.), Bio/Technology for aerospace applications, vol. 3. Portfolio Publishing Company, The Woodlands. Tex.