

O texto a seguir é uma publicação da revista bilíngue Uniso Ciência, da Universidade de Sorocaba, para fins de divulgação científica.

The following story is part of the bilingual magazine Science @ Uniso, published by the University of Sorocaba, for the purpose of scientific outreach.

*Acesse aqui a edição completa/
Follow the link to access
the full magazine:*



BACTÉRIAS PODEM SER UTILIZADAS PARA LIMPAR ÁREAS CONTAMINADAS

por hidrocarbonetos de petróleo

BACTERIA CAN BE USED TO CLEAN UP

areas contaminated by petroleum hydrocarbons

Por/By: Guilherme Profeta
Foto/Photo: Paulo Ribeiro



O pesquisador Paulo Sergio Salmazo, no Laboratório de Microbiologia Industrial e Processos Fermentativos (LaMinFe) da Uniso
Researcher Paulo Sergio Salmazo, at Uniso's Laboratory of Industrial Microbiology and Fermentation Processes

Na edição de número 4 da revista Uniso Ciência (dez./2019), você conferiu uma reportagem sobre como uma postura preditiva é fundamental para reduzir o risco de grandes acidentes ambientais, como o emblemático derramamento de óleo ocorrido no Alasca, em 1989, quando o navio-tanque Exxon-Valdez despejou 40 mil toneladas de óleo nas águas gelidas do Estreito do Príncipe William. A área contaminada foi de 260 km², afetando toda a fauna marinha da região. Exemplos como esses são muito graves, certamente, e, quando acontecem, recebem bastante atenção da imprensa, mas é preciso lembrar que nem toda contaminação ambiental é necessariamente grande. Na verdade, para cada acidente de grandes proporções como o derramamento do Exxon-Valdez, há inúmeros acidentes menores, que passam despercebidos.

Quando se trata de contaminação ambiental, os chamados compostos BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno), que são componentes da gasolina, são grandes vilões e, naturalmente, os postos de combustíveis são uma das principais fontes dessa classe de contaminantes. Em Sorocaba — município com área de pouco mais de 450 km² e população de cerca de 670 mil habitantes —, das 52 localidades contaminadas cadastradas pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (Cetesb), 31 são postos de combustíveis.

Como a demanda humana por combustíveis fósseis vem alcançando níveis alarmantes — nada menos do que 96 milhões de barris de combustível produzidos por dia, segundo dados de 2016 — e considerando-se que o Brasil ocupa a 5ª posição mundial no ranking de países que mais consomem petróleo no mundo (dados também de 2016, da Agência Nacional de Petróleo), é fundamental pensar em formas de remediar esses riscos. Foi isso o que fez o professor Paulo Sergio Salmazo em sua dissertação de mestrado, defendida no Programa de Pós-Graduação em Processos Tecnológicos e Ambientais da Universidade de Sorocaba (Uniso).

“Contaminações por BTEX em refinarias e oleodutos são menos prováveis de acontecer, devido aos controles praticados”, diz o pesquisador. “Geralmente, quando esses acidentes acontecem, são ocorrências de grandes proporções. Mas existem muitas ocorrências de contaminações

In the 4th issue (Dec./2019) of the Science @ Uniso magazine, you can read about how a predictive attitude is fundamental to reduce the risks of major environmental accidents, such as the emblematic oil spill that occurred in Alaska in 1989, when the oil tanker Exxon-Valdez dumped 40,000 tons of crude oil into the icy waters of the Prince William Sound. An area of 260 km² was contaminated, affecting all marine fauna in the region. Cases like these are very serious, and when they happen, they tend to receive a lot of attention from the press, but one should keep in mind that not every environmental contamination is necessarily a major one. In fact, for every major accident like the Exxon-Valdez spill, there are countless minor accidents that go completely unnoticed.

When the topic is environmental contamination, the so-called BTEX (benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene), which are components of gasoline, are great villains. As expected, gas stations are one of the main sources of this kind of contaminant. In Sorocaba—a municipality with an area of 450 km², and a population of around 670,000 inhabitants—, out of the 52 contaminated locations registered by the environmental agency of the State of São Paulo, 31 are gas stations.

As the human demand for fossil fuels has been reaching alarming levels—no less than 96 million barrels of fuel produced per day, according to data from 2016—, and considering that Brazil ranks 5th in the list of the largest oil consumers in the world (data also from 2016, from the Brazilian National Petroleum Agency), it is essential to think about alternatives to address these risks. That is what professor Paulo Sergio Salmazo attempted to do in his Master’s thesis, defended at Uniso’s graduate program in Technological and Environmental Processes.

“BTEX contamination are less likely to happen in refineries and pipelines, due to the ongoing control,” the researcher says. “Usually, when these accidents happen, they are those of great proportions. But there are many small or

de pequenas ou médias proporções, geralmente provenientes de tanques subterrâneos de armazenamento. Nesses casos, os BTEX podem entrar em contato com as águas subterrâneas — uma vez que são altamente solúveis e possuem grande mobilidade em sistemas solo-água —, tornando-as impróprias ao consumo humano. A exposição a altas concentrações de BTEX, ou durante tempo prolongado, pode afetar o sistema nervoso central e também causar câncer.”

MICROORGANISMOS COMO ALIADOS

O que fazer, então, quando há contaminação? Salmazo diz que há diversas tecnologias sendo aplicadas para remediar contaminações por petróleo, incluindo técnicas que removem os contaminantes por meio de processos biológicos. Foi justamente essa a estratégia empregada no caso do grande derramamento do Exxon-Valdez. Naquele caso, fertilizantes foram utilizados para aumentar drasticamente a quantidade de microrganismos nativos do habitat, capazes de degradar o óleo, sem causar mais danos às espécies locais. Esse foi o maior projeto de biorremediação já empregado até hoje.

No caso da pesquisa de Salmazo, o objetivo foi avaliar a capacidade de biorremediação de um microrganismo específico, o *Bacillus subtilis*, bactéria escolhida pelo pesquisador por suas propriedades surfactantes. “Entre os diferentes componentes de origem microbiana que podem ser utilizados para minimização ou descontaminação de áreas contaminadas encontram-se os biosurfactantes. Tratam-se de componentes que aumentam a interação superficial e aceleram a degradação de vários óleos por microrganismos, promovendo a biorremediação de águas e solos”, explica o pesquisador.

Ensaio foram conduzidos em três laboratórios da Uniso — o Laboratório de Microbiologia Industrial e Processos Fermentativos, o Laboratório de Pesquisas Toxicológicas e o Laboratório de Biomateriais e Nanotecnologia —, utilizando como substratos o óleo diesel e a gasolina, tanto em meio líquido quanto no solo. Esses testes objetivaram identificar se o microrganismo escolhido, quando acrescentado aos substratos contaminados, teria a capacidade de aumentar a área de superfície dos compostos insolúveis e hidrofóbicos (ou seja, os

medium-sized contaminations, usually related to underground storage tanks. In these cases, BTEX can reach groundwater, since they are highly soluble compounds that have great mobility in soil-water systems. This makes water unsuitable for human consumption. One-time exposure to high concentrations of BTEX, or long periods of exposure, can affect the central nervous system, and also cause cancer.”

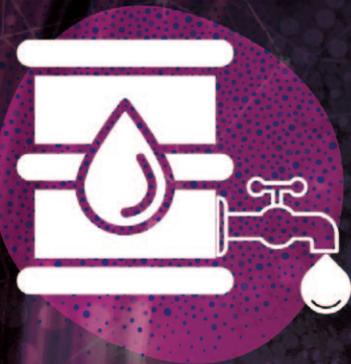
MICROORGANISMS AS ALLIES

What to do, then, when there is contamination? Salmazo says there are several technologies being applied to remedy oil contamination, including techniques that remove contaminants through biological processes. This was precisely the strategy employed in the case of the great Exxon-Valdez spill. In that case, fertilizers were used to dramatically increase the amount of native microorganisms, which were capable of degrading the oil without causing further damages to local species. This was the largest bioremediation project to date.

In the case of Salmazo’s research, the goal was to evaluate the bioremediation capacity of a specific microorganism, *Bacillus subtilis*, a bacterium chosen by the researcher for its surfactant properties. “Biosurfactants are among the different components of microbial origin that can be used to minimize the contamination or totally decontaminate affected sites. These are components that increase surface interaction and accelerate the degradation of many kinds of oils by microorganisms, promoting the bioremediation of water and soils,” the researcher explains.

Tests were conducted in three laboratories at Uniso—the Laboratory of Industrial Microbiology and Fermentation Processes, the Laboratory for Toxicological Research, and the Laboratory of Biomaterials and Nanotechnology—, using as substrates diesel and gasoline, both in liquid environment and on soil. These tests aimed at identifying whether the chosen microorganism, when added to contaminated substrates, would have the ability to increase the surface area of

COMO ACONTECE A BIORREMEDIAÇÃO PELO *Bacillus subtilis* EXPLAINING THE BIOREMEDIATION BY *Bacillus subtilis*



1. O óleo é derramado no solo ou na água, contaminando a área. Isso geralmente acontece ao redor de tanques de armazenamento e encanamentos subterrâneos.

The oil is spilled on the ground or into the water, contaminating the surrounding area. This usually takes place around storage tanks, and underground pipelines.

2. O *Bacillus subtilis* é adicionado ao substrato contaminado.
The *Bacillus subtilis* is added to the contaminated substrate.



3. O microrganismo produz uma substância surfactante, que, como um sabão, aumenta a área de superfície dos contaminantes oleosos.
The microorganism produces a surfactant substance, which, pretty much like a soap, increases the surface area of oily contaminants.

4. A ampliação da área de superfície facilita a associação entre os substratos e as bactérias que vivem ao redor, elevando a chance de biodegradação do óleo. Se tudo der certo, o lugar se torna limpo novamente.

A larger surface area facilitates the association between the substrates and bacteria that live around, increasing the chance of biodegradation. If all goes well, the site becomes oil-free again.



contaminantes oleosos), facilitando a associação entre os substratos e as células bacterianas, elevando assim a chance de biodegradação.

Os resultados são promissores. “Constatou-se que o *Bacillus subtilis* é capaz de produzir biossurfactante e degradar os BTEX, o que faz da biorremediação por meio desse microrganismo uma alternativa eficiente e economicamente viável para o tratamento dos hidrocarbonetos de petróleo em ambientes impactados”, resume o pesquisador.

Ainda há, naturalmente, pontos que precisam ser melhorados: excluindo-se o benzeno, as análises compreendendo os outros BTEX ainda não atingiram os valores de referência de qualidade que, segundo a Cetesb, definem um determinado solo como “limpo” — mesmo tendo chegado bem perto. O pesquisador explica que esses valores podem ser melhorados, se for expandido o tempo de contato das amostras com o microrganismo.

Ainda que novas pesquisas precisem ser desenvolvidas, compreendendo outros intervalos de tratamento e também diferentes tipos de solo, Salmazo defende que esse é um passo importante para buscar novas alternativas: “Pesquisas como essa contribuem para a popularização da tecnologia de biorremediação, por fim incentivando os proprietários de áreas contaminadas por combustíveis a investir nessa técnica, de modo a fazer com que os locais impactados retornem aos patamares de referência.”

insoluble and hydrophobic compounds (that is, oily contaminants), thus facilitating the association between substrates and bacterial cells, and raising the chance of biodegradation.

The results are promising. “It was found that *Bacillus subtilis* is capable of producing biosurfactant and degrading BTEX, which makes bioremediation through this microorganism an efficient and economically viable alternative for the treatment of petroleum hydrocarbons in affected environments,” the researcher tells.

There are, of course, points that still need to be improved: excluding benzene, the analysis comprising the other BTEX have not yet reached the quality reference values that define a certain soil as “clean”, according to the Brazilian regulatory agency—despite coming close. The researcher explains that these values can be improved if the period of exposure between the microorganism and the samples is extended.

Although new studies need to be developed, including other periods of exposure and also different kinds of soil, Salmazo argues that this is an important step towards new alternatives: “Researches like this contribute to the popularization of bioremediation technology, ultimately encouraging owners of contaminated areas to invest in this technique, in order to allow impacted sites to go back to reference levels.”

Com base na dissertação “Biorremediação de solo e água contaminados por solventes aromáticos proveniente de combustíveis”, do Programa de Pós-Graduação em Processos Tecnológicos e Ambientais da Universidade de Sorocaba (Uniso), com orientação da professora doutora Angela Faustino Jozala, aprovada em 4 de junho de 2019.

Acesse o texto completo da pesquisa em português:

Follow the link to access the full text of the original research (in Portuguese):

