

PUC-Campinas EESC USP Comitês PCJ

APRESENTAM:

SUSTENTARE & WIPIS2023

WORKSHOP INTERNACIONAL

SUSTENTABILIDADE, INDICADORES E GESTÃO DE RECURSOS HÍDRICOS



22/11 | evento
23/11 | 100% online
24/11 | e gratuito

AVALIAÇÃO DAS BACTÉRIAS *Pseudomonas sp.* PARA BIORREMEDIAÇÃO DE Ni²⁺ e Zn²⁺ EM SOLO AGRÍCOLA

Helayne Santos de Sousa

Química, Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnológicas, Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão, Imperatriz, Maranhão, Brasil
helaynesousa.20190002826@uemasul.edu.br

Jorge Diniz de Oliveira

Química, Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnológicas, Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão, Imperatriz, Maranhão, Brasil
jorgediniz@uemasul.edu.br

Ivaneide de Oliveira Nascimento

Biologia, Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnológicas, Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão, Imperatriz, Maranhão, Brasil
ivaneide@uemasul.edu.br

Resumo: Em 2021, o Brasil testemunhou a utilização massiva de agrotóxicos, totalizando um impressionante volume de 130 mil toneladas em suas práticas agrícolas. Estes produtos, apesar de serem vitais para aumentar a produtividade nas lavouras, frequentemente carregam consigo uma preocupante composição que inclui metais potencialmente tóxicos, como cádmio, cobre, zinco, níquel e chumbo. Esses elementos representam uma séria ameaça à saúde humana e ao meio ambiente, pois podem se infiltrar no solo e nas águas subterrâneas, resultando em contaminação a longo prazo. Para combater esse problema, a biorremediação emerge como uma técnica promissora. A biorremediação é um processo ativo que visa degradar biologicamente contaminantes presentes tanto em águas subterrâneas quanto em solos, transformando-os em substâncias menos tóxicas. Este estudo contribui para o conhecimento científico ao explorar a viabilidade da biorremediação em áreas agrícolas afetadas por metais potencialmente tóxicos utilizando bactérias do gênero *Pseudomonas*. As amostras de solo foram coletadas em uma área de cultivo de feijão na zona rural do município de Bananal, no Maranhão. As bactérias *Pseudomonas sp.* utilizadas nos testes fazem parte da coleção de microrganismos multifuncionais da Micoteca Gilson Soares da Silva, pertencente à Universidade Estadual do Maranhão. O ensaio de biorremediação consistiu na aplicação de 10 mL de suspensão bacteriana em 100 gramas de solo, e as concentrações de Ni²⁺ e Zn²⁺ foram monitoradas após 2, 5, 11, 15 e 21 dias. Os resultados demonstraram claramente que as bactérias *Pseudomonas* mostraram alta eficiência na remoção de níquel, alcançando uma taxa de até 0,063 mg kg⁻¹ de Ni²⁺. Além disso, o período de 15 dias revelou-se o mais eficaz, com uma remoção de 90,5% para o níquel e 47,9% para o zinco. Estes resultados indicam que esses microrganismos são promissores no processo de biorremediação de solos contaminados com metais potencialmente tóxicos, oferecendo uma solução promissora para a reabilitação de solos poluídos por esses metais.

Palavras-chave: Microrganismos, Biossorção, Metais Potencialmente Tóxicos.

PUC-Campinas EESC USP Comitês PCJ

APRESENTAM:

SUSTENTARE & WIPIS2023

WORKSHOP INTERNACIONAL

SUSTENTABILIDADE, INDICADORES E GESTÃO DE RECURSOS HÍDRICOS



22/11 | evento
23/11 | 100% online
24/11 | e gratuito

1. INTRODUÇÃO

Em 2022, o setor agrícola desempenhou um papel fundamental na economia brasileira, contribuindo com 24,8% do Produto Interno Bruto (PIB) total do país, o equivalente a quase R\$100 bilhões em exportações, quando somado ao setor pecuário [1]. No entanto, esse crescimento notável das atividades agrícolas tem sido acompanhado por um aumento significativo no uso de agrotóxicos. Em 2021, o Brasil testemunhou a utilização massiva de agrotóxicos, totalizando um impressionante volume de 130 mil toneladas em suas práticas agrícolas [2].

Agrotóxicos possuem uma composição, além de elementos desejáveis, também, em geral, metais potencialmente tóxicos, como cádmio, cobre, zinco, níquel e chumbo e podem ser uma fonte de contaminação sendo que, o solo já é um sistema natural rico, composto por minerais, matéria orgânica, gases, líquidos e organismos com interações dinâmicas [3].

Frente a isso diversas técnicas de remediação de solos contaminados por Metais Potencialmente Tóxicos (MPTs) estão surgindo, as quais lentamente vão sendo difundidas na recuperação deste local contaminado, mitigando assim o risco para saúde humana e o ambiente [4]. Métodos convencionais para remover os metais tóxicos do ambiente incluem precipitação, floculação e membrana filtrante, porém são processos onerosos.

Contudo, os tratamentos biológicos vêm ganhando espaço neste meio, com ampla aceitação pela sociedade, principalmente por representarem uma alternativa esteticamente agradável, baixo custo, alta aplicabilidade e por apresentarem bons resultados [5], [6]. A utilização de microrganismo como ferramenta para a remediação de ambientes contaminados é chamada biorremediação.

A biorremediação é um processo de tratamento ativo que usa microrganismos para degradar biologicamente (remover ou reduzir), imobilizar, ou transformar os contaminantes, presentes tanto em águas subterrâneas quanto em solos, em substâncias finais de menor toxicidade, como água, CO₂, biomassa, sais minerais [5], [7].

Essa técnica tem se mostrado bastante promissora, haja vista que, uma grande variedade de gêneros e espécies de microrganismos, fungos e bactérias principalmente, tem sido utilizada para biorremediação de metais potencialmente tóxicos [5], [8], [9].

Assim, fica evidente a importância de conduzir novas pesquisas com o propósito de avaliar e selecionar bactérias capazes de tolerar metais potencialmente tóxicos, com vistas à sua aplicação potencial na biorremediação de áreas contaminadas. Nesse contexto, o presente trabalho contribuirá com dados científicos que viabilizam o tratamento de áreas agrícolas afetadas por MPTs, ampliando os estudos de biossorção por meio da utilização de bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas*.

PUC-Campinas EESC USP Comitês PCJ

APRESENTAM:

SUSTENTARE & WIPIS2023

WORKSHOP INTERNACIONAL

SUSTENTABILIDADE, INDICADORES E GESTÃO DE RECURSOS HÍDRICOS



22/11 | evento
23/11 | 100% online
24/11 | e gratuito

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra de solo analisada foi coletada em uma área de cultivo de feijão na zona rural do município de Bananal – MA. Após a coleta, o solo foi submetido à secagem ao ar e posteriormente aquecido a 60 °C por 2 horas. Em seguida, passou por um processo de homogeneização em uma peneira de 0,045 mm e foi armazenado em frascos de polietileno à temperatura ambiente (± 28 °C).

Os microrganismos utilizados nos testes foram bactérias *Pseudomonas sp.* pertencentes à coleção de microrganismos multifuncionais da Micoteca Gilson Soares da Silva da Universidade Estadual do Maranhão, armazenadas em três métodos: I: meio de cultura BDA, II: em óleo mineral autoclavado e III: água destilada estéril. Em todos os três métodos os tubos de ensaio são mantidos em geladeira a 5 °C e 85% de umidade relativa.

2.1 Ensaio de biorremediação

Para avaliação do potencial de biodegradação das bactérias foram pesadas 3 amostras com 100 gramas de solo, em erlenmeyers, em seguida o solo foi autoclavado e armazenado por 7 dias, para garantir sua total esterilização. Em cada amostra do solo autoclavado foram adicionados 10 mL da solução da bactéria em concentração ajustadas para 10^8 UFC mL⁻¹, em espectrofotômetro com comprimento de onda de 540 nm e absorvância de 0,5. Para o ajuste da concentração utilizou-se a Equação 1.

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2 \quad (1)$$

C_1 é a leitura do espectrofotômetro; C_2 é a concentração esperada (0,5 AA); V_1 é o volume de bactéria esperado; e V_2 é o volume de solução total.

Com o intuito de avaliar as concentrações e o potencial de biodegradação dos metais no decorrer do experimento, foram realizadas seis coletas para avaliação das concentrações de metais, no tempo zero, após o período de 2, 5, 11, 15 e 21 dias.

Após o tempo previsto para cada condição ensaiada, foram pesadas 10 gramas de solo, de cada amostra e realizada lavagens com 40 mL de solução tampão fosfato de sódio (8 mM de Na₂HPO₄.12H₂O; 1,9 mM de NaH₂PO₄.2H₂O; 8 gramas de NaCl; pH 7,3), por duas vezes e filtradas em papel filtro quantitativo (Whatman 44), de modo a separar a biomassa [10]. Após a filtragem, a biomassa foi seca em estufa a 65 °C por 2 horas, descompactada e colocada em frascos de polietileno.

Para a extração do metal, utilizou-se o método Mehlich-1 (HCl 0,05 mol L⁻¹ + H²SO₄ 0,0125 L⁻¹) [11]. Foram pesadas 4 gramas do solo lavado com solução tampão em erlenmeyers de 250 mL, e adicionadas 40 mL da solução de Mehlich, a mistura foi posteriormente agitada por 5 minutos a 220 rpm em agitador mecânico orbital a 28 °C.

PUC-Campinas EESC USP Comitês PCJ

APRESENTAM:

SUSTENTARE & WIPIS2023

WORKSHOP INTERNACIONAL

SUSTENTABILIDADE, INDICADORES E GESTÃO DE RECURSOS HÍDRICOS



22/11 evento
23/11 100% online
24/11 e gratuito

Em seguida as amostras foram filtradas e armazenadas em recipientes de polipropileno para ser realizada a determinação das concentrações dos íons metálicos em Espectrofotômetro de Absorção Atômica com Chama. As análises foram realizadas em triplicata e a capacidade de remoção dos metais foi calculada pela Equação 2.

$$Q_e(\text{mg kg}^{-1}) = \frac{Q_i - Q_f}{m \times V} \quad (2)$$

Q_e é a capacidade de remoção (mg kg^{-1}); Q_i é a concentração inicial (mg L^{-1}); Q_f é a concentração final (mg L^{-1}); m é a Massa (kg); V é o Volume (L).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ensaio de biorremediação (Figura 1) ficou evidente que as bactérias demonstraram uma maior eficiência na remoção de níquel, alcançando a remoção de até $0,063 \text{ mg kg}^{-1}$ de íons, enquanto para o zinco, a maior capacidade de remoção observada foi de $0,012 \text{ mg kg}^{-1}$. Esses resultados foram obtidos após um período de 15 dias de experimentação.

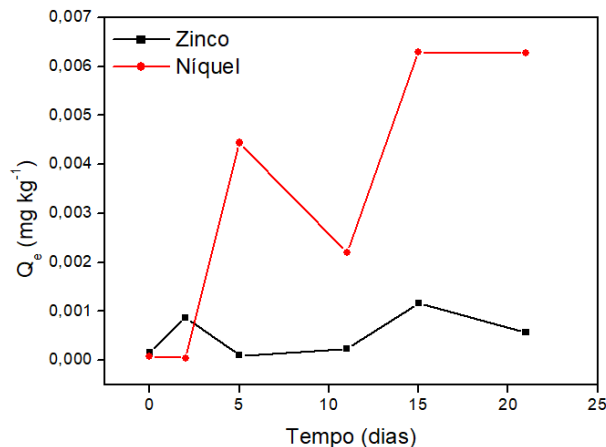


Figura 1. Capacidade de remoção de zinco e níquel pelas bactérias *Pseudomonas sp.*

Observa-se que após 15 dias, o gráfico apresenta uma tendência à linearização, seguida por uma diminuição na capacidade de absorção. Esse comportamento pode ser explicado pela curva de crescimento bacteriano, que inclui a fase estacionária (período de equilíbrio, em que as mortes microbianas são compensadas pela produção de novas células) e a fase de morte celular da bactéria (em que a população diminui em uma taxa logarítmica) [12].

Foi observada a maior eficiência para ambos os metais no período de 15 dias, com uma remoção de 90,5% para o níquel e 47,9% para o zinco, como indicado na Tabela I. Esse período é o mais eficaz para a biorremediação desses metais pelo processo biológico.



Tabela I. Eficiência em porcentagem da remoção de zinco e níquel pelas bactérias *Pseudomonas sp.*

Tempo (dias)	Zinco	Níquel
0	6,2 %	1,1 %
2	35,8 %	0,05 %
5	3,9 %	63,8 %
11	9,5 %	31,6 %
15	47,9 %	90,5 %
21	23,3 %	90,2 %

4. CONCLUSÃO

As bactérias *Pseudomonas sp.* demonstraram uma alta capacidade e eficiência na remoção desses íons metálicos após 15 dias de contato com o solo, destacando que esses microrganismos são viáveis no processo de biorremediação de solos contaminados com metais potencialmente tóxicos. Isso sugere uma promissora aplicação dessas bactérias na reabilitação de solos poluídos por metais potencialmente tóxicos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo financiamento deste projeto.

REFERÊNCIAS

- [1] CEPEA, C. de E. A. em E. A. (2023). PIB do agronegócio brasileiro. <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>.
- [2] Spadotto, C. A., & Gomes, M. A. F. (2021). Agrotóxicos no Brasil. <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/agricultura-e-meio-ambiente/qualidade/dinamica/agrotoxicos-no-brasil..>
- [3] Yu, H., Zou, W., Chen, J., Chen, H., Yu, Z., Huang, J., Tang, H., Wei, X., & Gao, B. (2019). Biochar amendment improves crop production in problem soils: A review. *Journal of Environmental Management*, 232, 8–21. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.10.117>

PUC-Campinas EESC USP Comitês PCJ

APRESENTAM:

SUSTENTARE & WIPIS2023

WORKSHOP INTERNACIONAL

SUSTENTABILIDADE, INDICADORES E GESTÃO DE RECURSOS HÍDRICOS



22/11 | evento
23/11 | 100% online
24/11 | e gratuito

- [4] Braun, A. B., Trentin, A. W. da S., Visentin, C., & Thomé, A. (2019). Biorremediação como alternativa de tratamento de solos contaminados com metais tóxicos. *Revista CIATEC-UPF*, 11(2), 73–87.
- [5] Chen, M., Xu, P., Zeng, G., Yang, C., Huang, D., & Zhang, J. (2015). Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: Applications, microbes and future research needs. *Biotechnology Advances*, 33(6), 745–755. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.05.003>.
- [6] Aparicio-Zambrano, R., Rojas-Fermín, L., Velasco, J., Usubillaga, A., Sosa, M., & Rojas, J. (2019). Caracterización química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Libanothamnus neriifolius* (Asteraceae). *Revista Peruana de Biología*, 26(1), 095–100. <https://doi.org/10.15381/rpb.v26i1.15912>.
- [7] Reddy, K. R., & Adams, J. A. (2015). *Sustainable Remediation of Contaminated Sites*. Momentum Press, LLC.
- [8] Li, X., Peng, W., Jia, Y., Lu, L., & Fan, W. (2016). Bioremediation of lead contaminated soil with *Rhodobacter sphaeroides*. *Chemosphere*, 156, 228–235. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.098>
- [9] Nascimento, J. M., Oliveira, J. D., Rizzo, A. C. L., & Leite, S. G. F. (2019). Biosorption Cu (II) by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology Reports*, 21, e00315. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00315>.
- [10] Moreira, F. M. S., Gillis, M., Pot, B., Kersters, K., & Franco, A. A. (1993). Characterization of Rhizobia Isolated from Different Divergence Groups of Tropical Leguminosae by Comparative Polyacrylamide Gel Electrophoresis of their Total Proteins. *Systematic and Applied Microbiology*, 16(1), 135–146. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(11\)80258-4](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80258-4).
- [11] Mehlich, A. (1953). Determination of P, Ca, Mg, K, Na and NH₄ by North Carolina Soil Testing Laboratories. University of North Carolina.
- [12] Tortora, Gerard. J., Funk, Berdell. R., & Case, Christine. L. (2012). *Microbiologia* (10^o ed). Artmed.