



# OBTENÇÃO DE MICRORGANISMOS PARA REMEDIAÇÃO DE AMBIENTES CONTAMINADOS COM HIDROCARBONETOS

Renê Gabriel Pereira Barbosa, Marilene Henning Vainstein

Instituto de Biociências, Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia, UFRGS e Centro de Biotecnologia, UFRGS

## INTRODUÇÃO

Os produtos derivados do petróleo são uma das principais fontes de energia da atualidade e a sua produção tem aumentado de forma exponencial. Em decorrência, existe uma grande preocupação com a contaminação de ambientes aquáticos e terrestres por hidrocarbonetos do petróleo.

A biorremediação é um processo que necessita da presença de microrganismos com habilidade de metabolizar os compostos contaminantes, reduzindo suas concentrações em níveis aceitáveis.

Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo isolar e caracterizar microrganismos com capacidade de degradação de hidrocarbonetos provenientes do petróleo.

## RESULTADOS

O isolado CRN BL8 obteve os melhores resultados sendo capaz de degradar grande parte dos hidrocarbonetos alifáticos presentes nas amostras (Figura 1), ainda, apresentou uma elevada viabilidade celular após monitoramento por unidades formadoras de colônia (Figura 2).

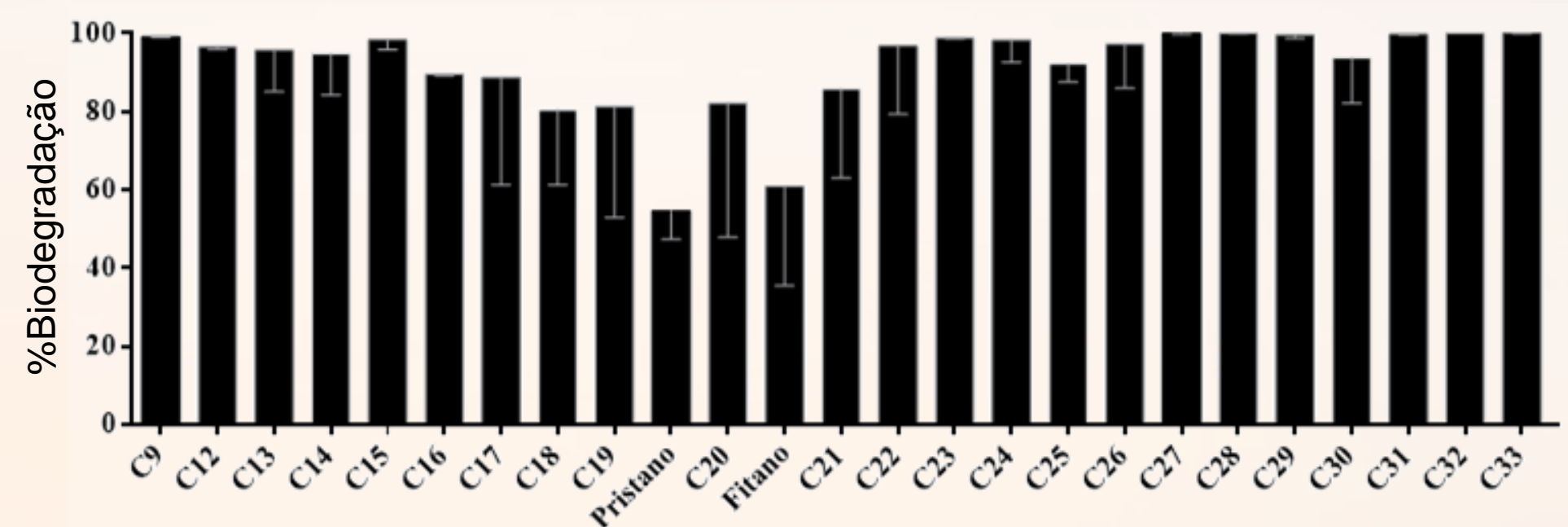


Figura 1. Biodegradação da fração de hidrocarbonetos alifáticos presentes no petróleo Bazu. Porcentagem de biodegradação de petróleo bruto (5 g/L) após 45 dias de incubação em meio líquido BH a 30 °C e 200 rpm.

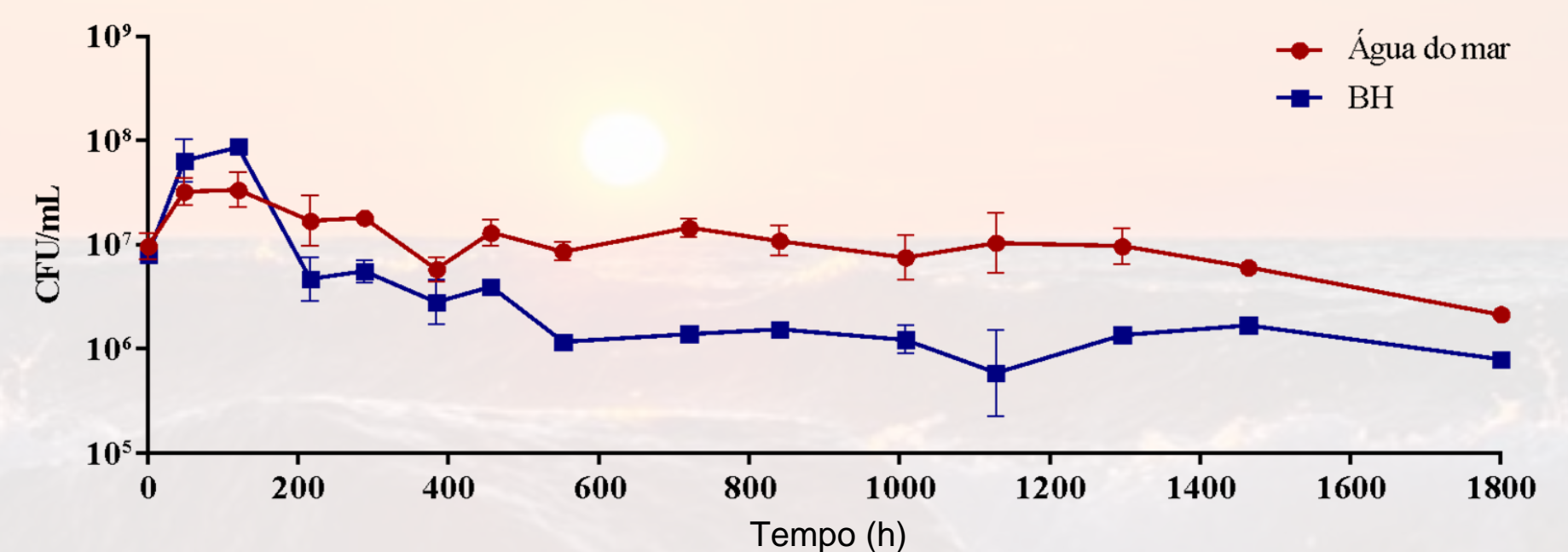
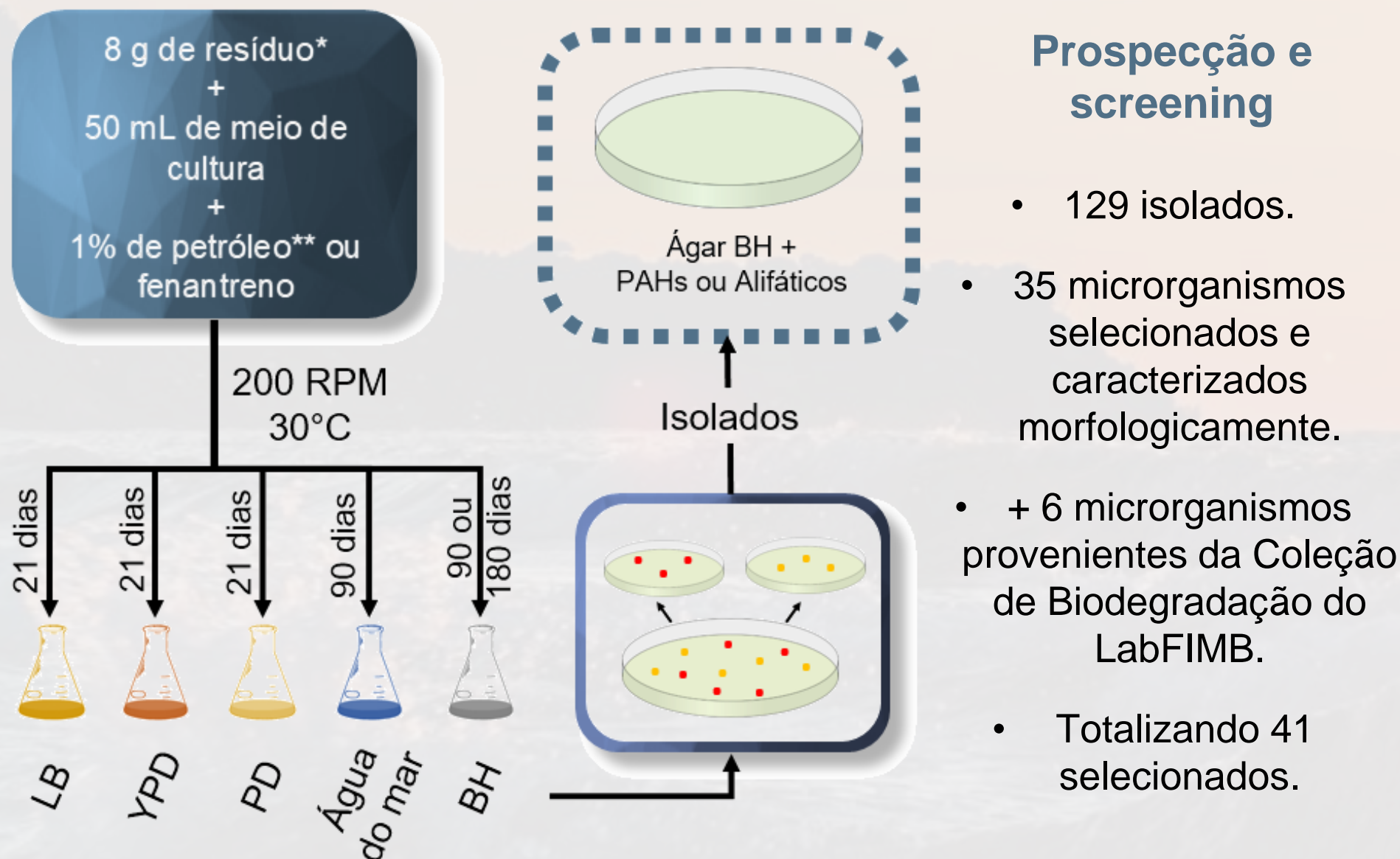


Figura 2. Desenvolvimento microbiano do microrganismo selecionado CRN BL8 durante 1800 horas de cultivo em meio BH e água do mar contendo 1% de petróleo.

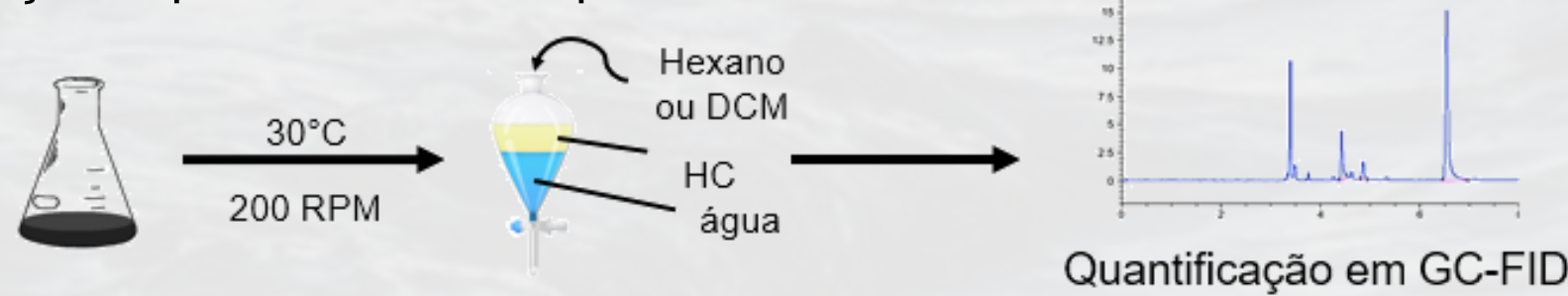
## MATERIAIS E MÉTODOS



\* Gerado durante a perfuração de um poço de petróleo - Potiguar Basin (Mossoró, Brasil)  
\*\* Petróleo - Petrobras Transporte S.A. – Transpetro (Tramandaí, Brasil)

### Selecionados da prospecção com petróleo

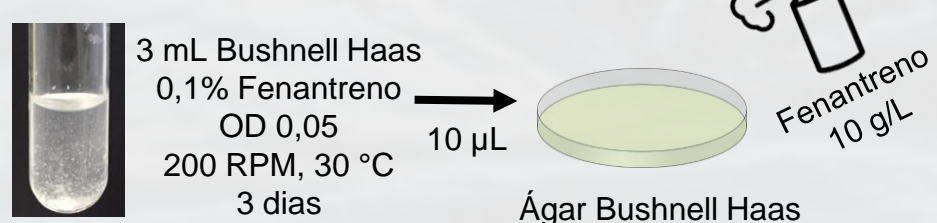
Análises de cromatografia gasosa foram realizadas após diferentes tempos de cultivo e suplementações de hidrocarbonetos com os selecionados da prospecção suplementada com petróleo.



O microrganismo mais promissor foi submetido aos testes de:

- **Produção de biossurfactantes**, avaliado por: índice de emulsificação, colapso da gota, espalhamento do óleo e medida de tensão superficial.
- **Viabilidade celular**, por 75 dias em água do mar e meio BH.
- **Identificação molecular** realizada por sequenciamento da região ribossomal 16S.

### Selecionados da prospecção com fenantreno



Os selecionados foram cultivados em meio com fenantreno e 10 µL do cultivo foi transferido para placas com ágar BH, que foram submetidas a um spray com uma solução de fenantreno para observar a formação de halo.

Os testes de produção de biossurfactantes pelo CRN BL8 evidenciaram uma produção satisfatória pelo isolado (Tabela 1).

Tabela 1. Produção de biossurfactantes pelo microrganismo CRN BL8 durante a biodegradação de petróleo

Tempo (dias)	IE <sub>24h</sub> (%)	Colapso da gota	Espalhamento do óleo (mm)	Tensão superficial (mN.m <sup>-1</sup> )
1	-	-	-	62,1 ± 0,6
7	-	++	9 ± 2	33,9 ± 0,4
15	34,6 ± 2	++	13 ± 6	40,3 ± 0,1
Controle	-	-	-	68,7 ± 1,2

O isolado CRN BL8 foi classificado como *Rhodococcus* sp. Análises filogenéticas sugerem que *Rhodococcus* sp. é potencialmente uma nova espécie.

O isolado MOF23 foi selecionado por evidenciar a capacidade de degradar fenantreno, não só por mudar a coloração do meio para amarelo indicando a formação de produto de degradação (Figura 3), como também pela formação de halo na zona opaca formada pelo contaminante (Figura 4).

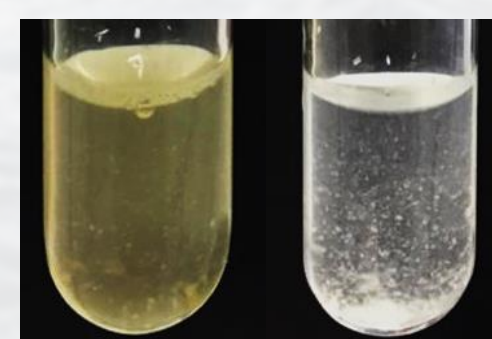


Figura 3. Cultivo em meio líquido do microrganismo selecionado MOF23 (esquerda) e do controle negativo (direita). Cultivo em meio BH suplementado com 0,1% de fenantreno por 36 horas.

Figura 4. Desenvolvimento em placa do microrganismo selecionado MOF23 (esquerda) e do controle negativo (direita). Cultivo em meio BH ágar suplementado com fenantreno (10 g.L<sup>-1</sup>) por 36 horas.

## AGRADECIMENTOS



## PERSPECTIVAS

Identificação molecular do isolado MOF23, bem como a avaliação da porcentagem de biodegradação de diferentes hidrocarbonetos separadamente e em conjunto com *Rhodococcus* sp., para posterior aplicação em larga escala.