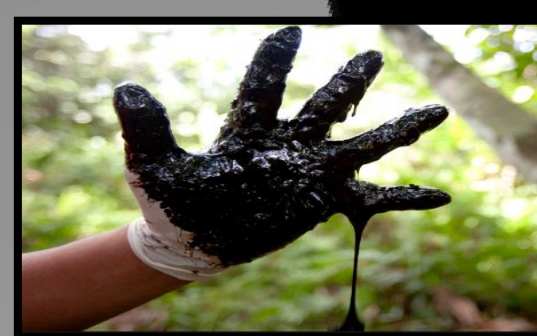


## INTRODUÇÃO

A borra oleosa é o resíduo final de vários processos que ocorrem nas refinarias de petróleo, e é gerada em grandes volumes [1]. Sua composição variável de hidrocarbonetos alifáticos, aromáticos e policíclicos aromáticos chama a atenção para o manuseio e descarte incorreto, que podem representar risco de contaminação para solo, subsolo e águas subterrâneas [2]. Estudos podem ajudar a compreender o papel dos microrganismos na degradação de poluentes que sejam nocivos ao meio ambiente. O objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade de degradação de *Bacillus cereus*, prospectado de solo contaminado com borra oleosa de hidrocarbonetos aromáticos, em solo contaminado com 1 e 6% de borra oleosa, por PCR real time e por cromatografia.



## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi montado em microcosmos contendo 30 mL de meio Luria Bertani, com ou sem adição de borra oleosa em dois teores: 1% (**tratamento 1**) e 6% (**tratamento 2**) (volume por volume), e com a inoculação de  $10^4$  células  $\text{mL}^{-1}$  da bactéria *Bacillus cereus*. Os frascos foram incubados a 28 °C sob agitação de 120 rpm, por 120 horas. Coletas foram realizadas em 9 tempos distintos, em triplicata, com amostras destrutivas. A cada tempo amostral foi realizada a extração de DNA para amplificação do gene 16S por PCR real time, afim de monitorar o crescimento desta bactéria. Às 120h foi realizado, em triplicata, uma extração dos hidrocarbonetos da fase aquosa dos experimentos com borra oleosa (1% e 6%), com o intuito de avaliar a degradação de compostos aromáticos presentes na borra oleosa. Adicionou-se 20 mL de hexano em cada amostra, e após agitação, a fração sobrenadante contendo somente o hexano e extrato de hidrocarbonetos foi transferida para um balão de vidro e concentrado no rota-evaporador. O extrato obtido foi adicionado em *vial* pré-pesado e levados a *secura* sob leve fluxo de  $\text{N}_2$ , que após peso constante foram pesados. 100 mg do extrato foi submetido a separação por cromatografia líquida preparativa em coluna de sílica para obtenção das frações F1 e F2 (hidrocarbonetos saturados e aromáticos - respectivamente). A fração F1 foi eluída com 20 mL de n-hexano e a fração F2, com 20 mL de mistura de 60% de n-hexano e 40% de tolueno. As frações F1 e F2 foram coletadas e concentradas em rotaevaporador e transferidas para vials, onde adicionaram-se os padrões internos. A fração aromática (F2) foi avaliada por cromatografia a gás com detector de massa (CG/MS), equipado com coluna capilar (5% de fenil, 95 % Dimetilpolisiloxano, 30 mx 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$  - Agilent) operando a 70 eV por impacto eletrônico para ionização, nas seguintes condições de análise: temperatura do injetor = 290°C; Temperatura do detector = 300°C; Temperatura da coluna inicial a 40°C, isoterma de 1 min, taxa de aquecimento de 6°C / min até de 290°C, seguido de isoterma de 20 min. A identificação dos hidrocarbonetos foi realizada por comparação do tempo de retenção com uma amostra padrão e pelo ion molecular.

## RESULTADOS

### Degradação de hidrocarbonetos aromáticos

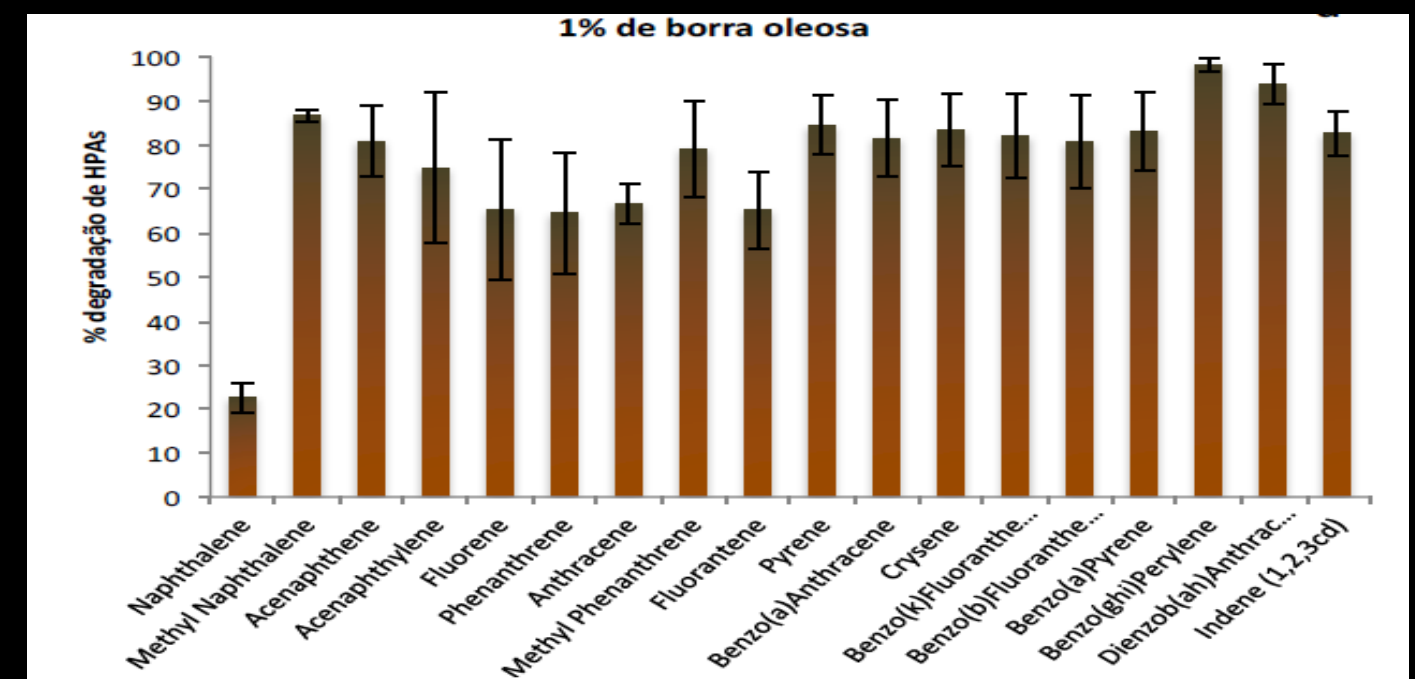


Figura 1: Percentual de degradação de hidrocarbonetos aromáticos dos microcosmos com solo na condição com 1% de borra oleosa (Tratamento 1).

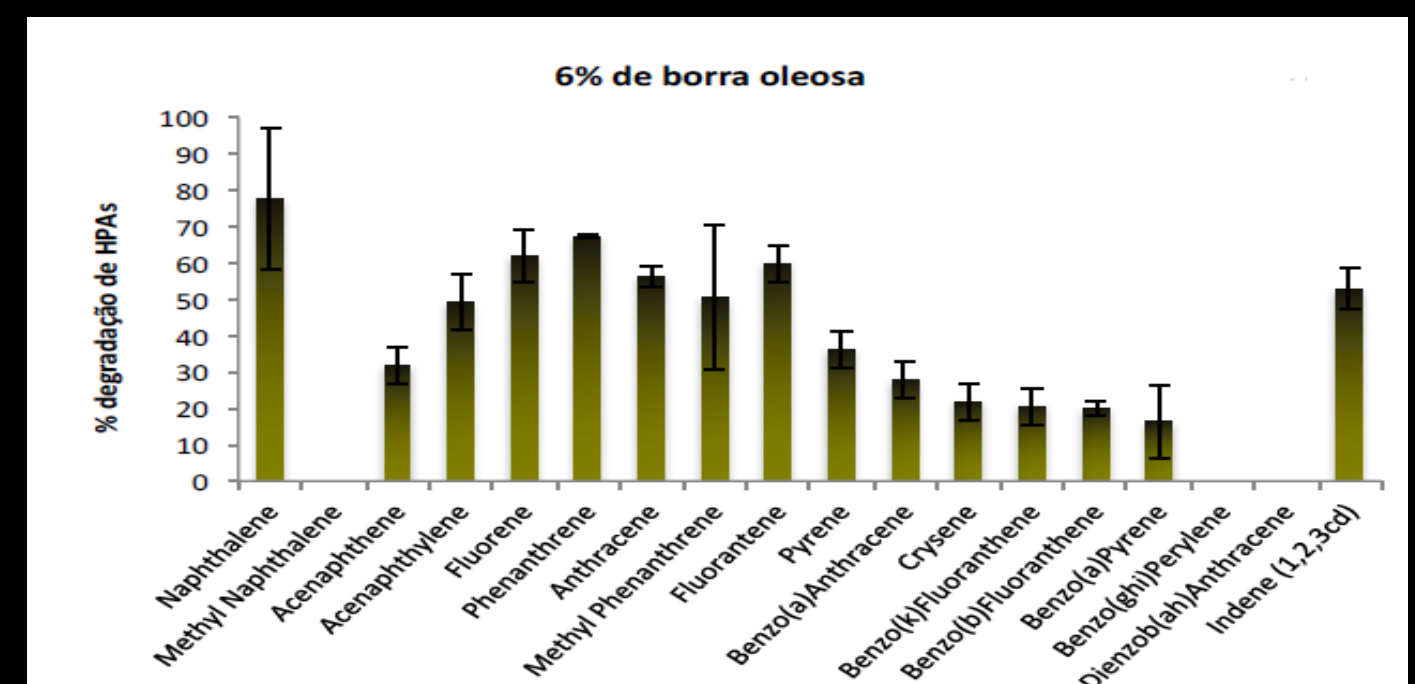


Figura 2: Percentual de degradação de hidrocarbonetos aromáticos dos microcosmos com solo na condição com 6% de borra oleosa (Tratamento 2).

Os resultados de cromatografia mostraram diferenças na degradação dos hidrocarbonetos em ambos os tratamentos. O naftaleno foi degradado em 22,6% no tratamento 1 (Fig.1.) e em 77,5% no tratamento 2 (Fig.2.). O benzo(ghi)perileno e o dibenzo(ah)antraceno, não mostraram degradação no tratamento 2 (Fig.2) e foram degradados em 98,2% e 93,2% no tratamento 1 (Fig.1.), respectivamente. Outros hidrocarbonetos aromáticos foram também degradados quando comparados com o controle, mostrando a capacidade degradadora do microrganismo *Bacillus cereus*.

### Curva de crescimento por qPCR

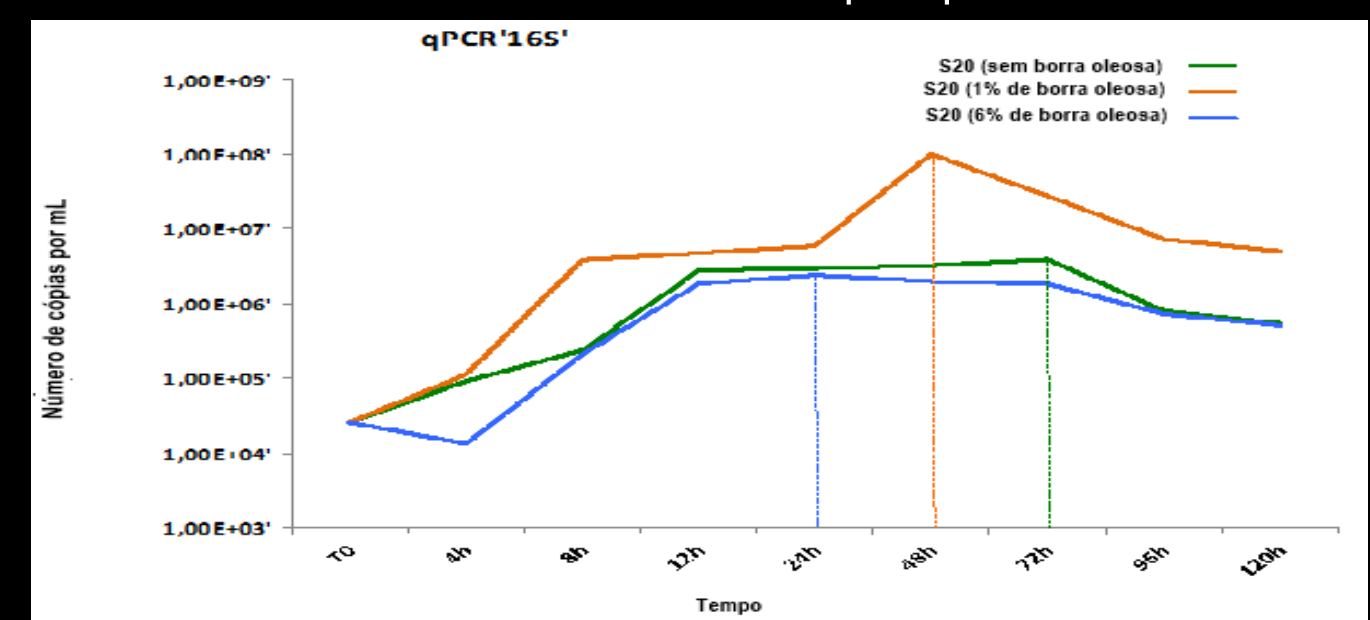


Figura 3: Curva de crescimento do isolado S20 (*Bacillus* sp.), com e sem adição de 1 e 6% de borra oleosa petroquímica.

Os resultados de crescimento microbiano indicaram um maior crescimento no tratamento 1. (Fig.3)

## CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que de acordo com a cinética de crescimento, após 120 horas o isolado de *Bacillus cereus* estava na fase estacionária e foi muito eficiente em degradar hidrocarbonetos aromáticos como o naftaleno (77,5%) na condição com 6% e o benzo(ghi)perileno e o dibenzo(ah)antraceno foram degradados, respectivamente, em 98,2% e 93,2% na condição com 1% de borra oleosa no solo. Porém foi observado que tanto o crescimento e a degradação foram dependentes da concentração adicionada de borra oleosa ao solo. A fração de hidrocarbonetos alifáticos também está sendo avaliada.

[1]Bhattacharyya, J.K., Shekdar, A.V., 2003. Treatment and disposal of refinery sludges: Indian scenario. Waste. Manage. Res. 21, 249e261.

[2]Liu, W., Luo, Y., Teng, Y., Li, Z., Ma, L.Q., 2010. Biodegradation of oily sludge contaminated soil by stimulating indigenous microbes. Environ. Geochem. Health 32, 23e29.