

Seminário - ABTCP 1996

Aplicação da Biotecnologia no Controle Ambiental pela Indústria de
Papel e Celulose

**Evolução na aplicação da biotecnologia em processo
industrial e em controle e monitoramento de efluentes**

Rosana Filomena Vazoller

*Departamento de Hidráulica e Saneamento da
Escola de Engenharia de São Carlos da
Universidade de São Paulo
Av. Dr. Carlos Botelho, 1465 - Cep 13560-970 - São Carlos - SP*

INTRODUÇÃO

O estudo da aplicação dos seres vivos na área industrial, cujo o objetivo é a obtenção de um produto ou produtos de interesse para o homem, é denominado Biotecnologia. Notadamente, o desenvolvimento de processos biológicos industriais que envolvem a ação de microrganismos compreende a Biotecnologia Microbiana, considerada uma ciência antiga, que nas últimas décadas foi enormemente estimulada pelo advento das técnicas modernas da Biologia Molecular.

A origem da Biotecnologia Microbiana está ligada aos processos fermentativos alcóolicos para produção de cerveja e vinho. A evolução dos processos industriais microbianos deu-se com a produção de fármacos como os antibióticos, aditivos alimentares como aminoácidos, enzimas, e produtos químicos como o butanol e o ácido cítrico. Por muito tempo, a otimização dos sistemas de produção, bem como a geração de novos produtos, foi dependente apenas da capacidade natural dos microrganismos industrialmente úteis. A Biologia Molecular ampliou as possibilidades dos sistemas de produção, através de uma abordagem baseada na tecnologia da manipulação genética, com a consequente geração de microrganismos geneticamente modificados, e úteis.

Portanto, pode-se dividir a Biotecnologia Microbiana em duas categorias, aquela que envolve a ação natural dos agentes microbianos, "*tecnologia microbiana tradicional*", e a que envolve os microrganismos modificados pela inserção de material genético, "*tecnologia microbiana com organismos geneticamente modificados*".

Atualmente, existem milhares de produtos comercialmente importantes derivados do emprego da Biotecnologia Microbiana, que incluem

além dos exemplos anteriormente citados para as indústrias farmacêutica, química e de bebidas e alimentos, as vacinas, os biocidas e a recuperação de metais e de óleos, respectivamente nos campos de mineração e petróleo.

Para se avaliar a dimensão da aplicação industrial dos microrganismos, deve-se também exemplificar com a ação destes agentes biológicos na área de saneamento básico e ambiental. Os microrganismos possuem a habilidade de decompor ou deteriorar um material, e um aspecto positivo da deterioração microbiana é a degradação de poluentes. Os processos biológicos de tratamento (Biotratamento) de resíduos líquidos e sólidos utilizam microrganismos aeróbios e anaeróbios na estabilização de compostos orgânicos, e resultam em diferentes produtos, dentre eles o mais nobre, a despoluição ambiental.

As consequências da Biotecnologia parecem estar relacionadas, de uma forma ou de outra, com o meio ambiente. Em outras palavras, existe uma relação das tecnologias modernas de produção que envolvem os organismos vivos com causa e efeito, problemas e solução na área ambiental. A geração pela atividade microbiana de um bem de consumo, como por exemplo o etanol, produz uma enorme quantidade de água residuária, a vinhaça. Esta, se transformada por agentes microbianos sob condições anaeróbias, resulta em um combustível útil, o metano, e previne a ocorrência de poluição de corpos d'água e solos.

No âmbito deste artigo, procurar-se-á abordar alguns pontos sobre a importância da microbiologia ambiental no tratamento de efluentes e resíduos sólidos de origem doméstica e industrial, visando a recuperação de ambientes contaminados, ou mesmo a prevenção da contaminação, e no monitoramento de efluentes.

BIOTECNOLOGIA MICROBIANA E SANEAMENTO BÁSICO E AMBIENTAL

Em 1975, a apresentação dos volumes Biotecnologia-Tópicos de Microbiologia Industrial procurou definir a Biotecnologia, tomando como base o conceito sugerido nos anais do Curso de Bioquímica Industrial, volume I, *Fundamentos*, de W. Borzani e M. Falcone (1960), "*a Biotecnologia tem por objetivo principal o estudo da aplicação de conhecimentos de bioquímica e de biologia na produção industrial e na conservação de materiais de valor econômico*". Nesse contexto, durante um certo tempo, para muitos profissionais, os processos aplicados ao biotratamento de resíduos eram muito pouco incluídos em Biotecnologia Microbiana. Entre outras justificativas, o domínio destes processos, em várias partes do mundo, era relacionado as engenharias sanitária e civil, que particularmente, destacavam apenas os estudos sobre microrganismos de importância à saúde pública. Além disso, a necessidade de avaliar os conceitos empíricos dos estágios iniciais de desenvolvimento de muitos dos processos biológicos de tratamento de resíduos, notadamente em relação a parâmetros de projetos de engenharia dos reatores, não permitiu uma maior preocupação

com o estudo das características dos agentes da degradação dos poluentes, os microrganismos.

No livro citado, a abordagem do autor do capítulo *Tratamento de Resíduos*, Professor e Biólogo Samuel Murgel Branco, procurou enfatizar as transformações microbianas aeróbias e anaeróbias, bem como a participação de microrganismos fotossintetizantes, na estabilização de efluentes sanitários e industriais, e dos rejeitos em aterros sanitários. O texto mostra a relevância do conhecimento fundamental sobre Microbiologia no aprimoramento dos sistemas.

Foi, sem dúvida, a participação de profissionais com diferentes formações, biólogos, bioquímicos, engenheiros químicos e químicos, na busca de soluções biotecnológicas para os poluentes ambientais, o que facilitou a implementação dos estudos sobre a biologia e a bioquímica dos sistemas aeróbios e anaeróbios, classicamente exemplificados pelos processos de lodos ativados e biodigestores anaeróbios, respectivamente.

A Biologia é base para tecnologias que visem a manutenção da qualidade dos recursos naturais suscetíveis a poluição, ou seja, a manutenção do *meio ambiente limpo*. O desenvolvimento de processos, métodos e ferramentas com base nessa ciência, e com a finalidade indicada, tem como objetivo a prevenção de desequilíbrios ambientais, a detecção e o monitoramento de efeitos dos poluentes sobre os ecossistemas e a operação de biorreatores com culturas microbianas mistas ou selecionadas.

A denominação *operações bioquímicas* para a Biotecnologia aplicada ao tratamento de resíduos foi o enfoque de GRADY & LIM (1980). Os autores classificaram as operações bioquímicas sob três aspectos : - o ambiente bioquímico; - a natureza da transformação bioquímica; - a configuração do reator. Assim, ressaltaram as duas principais condições ambientais nas quais as operações bioquímicas se processam: aeróbia e anaeróbia; a capacidade de biodegradação microbiana de matérias orgânicas solúvel e insolúvel e a conversão de matéria inorgânica insolúvel; e os tipos de reatores disponíveis, quanto a mistura completa do sistema, fluxos ascendente e descendente de entrada da água residuária, operações contínua e descontínua dos reatores e existência de mecanismos para a retenção da biomassa.

O principal impacto da Biotecnologia Microbiana aplicada ao saneamento ambiental é a solução para uma ampla variedade de rejeitos orgânicos. Atualmente, a idéia de utilizar a biodegradação microbiana como uma ferramenta tecnológica foi ampliada em outras direções, criando novas possibilidades de emprego para os microrganismos, com a origem de novos métodos como os descritos para a Biorremediação, que podem incluir o uso de microrganismos geneticamente modificados (GMOs).

A UTILIZAÇÃO DOS PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO MICROBIANA EM BIOTECNOLOGIA

As estações de tratamento de águas residuárias de origem doméstica e industrial têm sido operadas com grande sucesso por várias décadas. Nestes sistemas, populações mistas microbianas são responsáveis pelo processo biológico de tratamento. Os biorreatores, nos quais os processos microbianos se desenvolvem, são operados sob condições aeróbias ou anaeróbias, e sua performance é dependente da natureza do resíduo orgânico a ser degradado, das dimensões do sistema e de alguns requerimentos específicos ao tipo de metabolismo microbiano envolvido.

Os microrganismos são encontrados nos reatores livres ou aderidos a suportes físicos, como partículas de areia. Em muitos casos, os microrganismos podem agregar-se uns aos outros, formando estruturas denominadas flocos biológicos, que consistem de um número muito elevado de células microbianas, resultando em estruturas com excelente característica de decantação.

O atual e principal enfoque na otimização dos sistemas de tratamento de esgotos sanitários está no aprimoramento da remoção de nutrientes, nitrogênio e fósforo. Esta especial atenção é consequência dos inúmeros problemas decorrentes dos efluentes de sistemas de tratamento, cuja a quantidade de nutrientes provoca a eutrofização nos corpos receptores, além da toxicidade pela amônia e nitritos. Para as águas residuárias e resíduos sólidos industriais e tóxicos, tem sido necessário um grande esforço em direção ao desenvolvimento de sistemas que resultem na remoção de compostos orgânicos prontamente biodegradáveis, e essencialmente na remoção de compostos resistentes, ou persistentes a biodegradação sob determinadas condições, e daqueles recalcitrantes, passíveis de degradação apenas por sistemas especializados.

A atenção de vários pesquisadores no mundo está voltada para a problemática de compostos xenobióticos altamente tóxicos ao meio ambiente. Os compostos poluentes sintéticos possuem estruturas bastante complexas e desconhecidas para o metabolismo bacteriano, porém a biodegradação de algumas moléculas orgânicas xenobióticas pode ocorrer nos processos de tratamento biológicos aeróbios e anaeróbios, e sua completa estabilização depende das velocidades das reações realizadas pelos microrganismos. Este potencial microbiano tem sido ilustrado, há alguns anos, pela capacidade de espécies bacterianas em degradar detergentes, como os alquilbenzenos sulfonados lineares (LAS) e os ramificados (BAS).

Uma importante estratégia das tecnologias de tratamento de resíduos industriais tem sido a opção pelo tratamento em separado de alguns componentes dos rejeitos. Em outras palavras, espera-se que o emprego de culturas microbianas específicas, mesmo em um meio contendo uma série

de diferentes compostos, torne possível a destoxificação e degradação de um composto em particular. Esta visão para a Biotecnologia Microbiana aplicada ao saneamento ambiental, pode ser acrescida de outras vantagens, como a possibilidade de um processo biológico, ao mesmo tempo, tratar um resíduo tóxico poluente e produzir um composto químico de valor econômico. Por exemplo, a transformação microbiana anaeróbia do fenol em catecol, um produto de interesse para a indústria química.

O uso de biorreatores com microrganismos selecionados e especializados na degradação de compostos halogenados vem se tornando realidade. A atividade combinada de bactérias nos biotratamentos, em reatores aeróbios e anaeróbios alternados, é uma das possibilidades para a estabilização de poluentes aromáticos halogenados e nitroaromáticos. Os microrganismos responsáveis pela biodegradação de tais compostos podem ser selecionados de diferentes fontes naturais, ou dos tanques de aeração e de biodigestão anaeróbia.

Algumas importantes tecnologias de tratamento microbiano como solução para resíduos líquidos e sólidos industriais tóxicos estão disponíveis, embora não sejam intensamente adotadas. Em certos países industrializados, tem-se que apenas 1% da quantidade total de poluentes dispostos nos solos sofre algum tipo de tratamento biológico. As opções para os poluentes têm sido a adoção de métodos de tratamento físico-químicos (flotação, extração e queima), e disposição em depósitos e aterros de uma parte considerável dos dejetos.

Em áreas com superfícies poluídas, ou nos depósitos de rejeitos, a aplicação de tecnologias biológicas *in situ* tem resultado em novas soluções para os contaminantes ambientais. Nestas áreas, as características locais do solo, das camadas mais profundas que atingem as águas subterrâneas e do próprio aquífero são fatores limitantes ao emprego dos processos biológicos. Os métodos utilizados para a recuperação dos terrenos contaminados podem empregar os sistemas de biotratamento tradicionais, para compor um quadro maior de procedimentos que visem a remoção do poluente. Diz-se que o conjunto destes procedimentos constitui a tecnologia conhecida por Biorremediação.

A evolução tecnológica dos biorreatores resultou, principalmente, em soluções para as águas residuárias. Assim, o tratamento dos resíduos sólidos não dispõe ainda de um grande número de alternativas em termos de reatores biológicos. Um dos problemas ambientais mais graves da atualidade nas grandes cidades é a elevada produção de resíduos sólidos urbanos, cuja a disposição e o tratamento podem requerer áreas locais de dimensões inviáveis. Este é um dos pontos em que a Biotecnologia Microbiana deverá se desenvolver em um curto espaço de tempo, afim de viabilizar o uso dos microrganismos de maneira mais eficiente na hidrólise e estabilização dos resíduos sólidos.

As transformações biológicas ocorrem espontaneamente no ambiente, porém são bastante lentas. Provavelmente, as condições para uma eficiente biodegradação não são ótimas. A Biotecnologia Microbiana aplicada ao saneamento ambiental busca avaliar as melhores condições do crescimento microbiano, e adotá-las nos sistemas de tratamento em reatores e *in situ*. Os procedimentos para a avaliação do desempenho dos diferentes sistemas são essenciais para o controle de qualidade do processo, e envolvem técnicas analíticas que determinam as características e condições dos resíduos produzidos no meio, e após a ação microbiana.

CONTROLE E MONITORAMENTO DE EFLUENTES

O desenvolvimento de procedimentos para o controle e monitoramento de efluentes, tanto para os resíduos diretamente lançados no ambiente, como após o processo de tratamento biológico, pode também compreender métodos oriundos da Biotecnologia Microbiana. Os métodos resultantes das tecnologias microbianas fundamentam de maneira sutil e sensível a detecção da poluição, e fornecem um "produto" adequado para o controle e monitoramento dos efluentes.

As técnicas para a avaliação dos efluentes devem considerar: - os níveis dos poluentes e sua redução durante os processos de tratamento; - verificar o comportamento de um dado microrganismo e seus efeitos no sistema.

A existência de técnicas analíticas e experimentais que comprovam os aspectos nocivos de certos compostos no meio ambiente data de algumas décadas. No princípio foram desenvolvidos os chamados ensaios biológicos, bioensaios, que determinavam a biodegradabilidade de compostos em um período de tempo razoável, além do grau de interferência destes compostos no meio. Os bioensaios são ainda muito úteis, e permitem o monitoramento de substâncias químicas no solo e águas, e são bastante indicados como testes de rotina para o acompanhamento da biodegradação de compostos recalcitrantes, e/ou tóxicos. Nestes testes, pode-se estimar a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), determinar as taxas de consumo de oxigênio e de produção de dióxido de carbono, medir o número de organismos em um meio contaminado, bem como avaliar a mineralização de um composto através da medida de marcadores específicos (radioisótopos).

Alguns ensaios biológicos foram especialmente desenvolvidos para determinar os efeitos tóxicos de produtos químicos no meio durante a mineralização aeróbia e anaeróbia de um composto. Por exemplo, a influência de diferentes concentrações de pesticidas na biodegradação de materiais celulósicos. Os testes de toxicidade são amplamente utilizados, e envolvem diferentes metodologias para a avaliação da atividade microbiana, desde métodos analíticos simples como a determinação do número de células, até procedimentos mais elaborados como o emprego do Teste de Ames.

Os biossensores têm sido considerados como solução para uma ampla faixa de problemas analíticos dos resíduos industriais. Compreendem dois grupos distintos, os catalíticos (enzimas e microrganismos) e os não-catalíticos (anticorpos e ácidos nucleicos). Os biossensores portanto, exploram os sistemas de células vivas ou de inibição enzimática, pelo monitoramento metabólico ou da atividade enzimática frente a perturbações originadas pelos poluentes ambientais. Por exemplo, as algas (como biossensores) têm sido aplicadas como indicadores da presença de herbicidas em rios, lagos e águas residuárias. Vários biocatalizadores celulares são empregados fornecendo um potencial considerável na detecção de incidentes, tais como o biossensor enzimático de amplo espectro baseado na inibição da acetilcolina esterase por inseticidas organofosforados. Atualmente, a pesquisa e o desenvolvimento buscam ferramentas capazes de permitir o uso *on-line* das indicações dos biossensores.

O desenvolvimento do PCR (*Polymerase Chain Reaction*) em 1983, foi, sem dúvida, um dos maiores acontecimentos na Biologia Molecular. O PCR permite *in vitro* a replicação de sequências definidas de DNA, e no qual os segmentos dos genes podem ser amplificados. Pode ser utilizado para detectar a presença de espécies bacterianas em amostras de efluentes e dos sistemas de biotratamento, e notadamente, para analisar sequências gênicas de GMOs.

Bioensaios realizados com uma linhagem bacteriana que apresenta bioluminescência vêm sendo empregados para o monitoramento de microrganismos degradadores de pesticidas no ambiente, ou em sistemas de tratamento. Estas análises são derivadas do progresso dos estudos sobre marcadores genéticos, nos quais a inserção de um gene em um organismo alvo resulta em uma característica celular de fácil detecção.

Algumas técnicas imunológicas foram introduzidas em 1971 para a análise de tóxicos ambientais, um exemplo é o teste ELISA (*Enzyme Linked Immunoabsorbent Assays*). Os imunoensaios foram desenvolvidos para uma ampla quantidade de pesticidas na água, com limites de detecção tão baixos como 1 a 5 ppb. Atualmente, é possível aplicar testes em campo para a determinação de bifenilas policloradas e pentaclorofenol.

Os métodos tradicionais para o controle e monitoramento de efluentes de sistemas de tratamento podem ainda incluir a avaliação de patogênicos pela colimetria, a contagem de microrganismos indicadores de depuração biológica por métodos microscópicos, a determinação de taxas de biodegradação, a avaliação de componentes específicos a certos tipos microbianos, medidas de fluorescência, entre outros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRANCO, S.M. & HESS, M.L. Tratamento de resíduos. In: TÓPICOS de microbiologia industrial, EDUSP, v.2. pp.47-76, 1975.
- FREEDMAN, B. ENVIRONMENTAL Ecology - The ecological effects of pollution, disturbance, and other stresses. 2a. ed. Academic Press. 606p. 1995.
- GLAZER, A.N. & NIKAIDO, H. Environmental applications. In: MICROBIAL Biotechnology. Eds. W.H. Freeman & Co. N. York. pp.561-620. 1995.
- GRADY Jr., C.P.L. & LIM, H.C. BIOLOGICAL wastewater treatment - Theory and applications. Marcel Dekker, Inc. NY, EUA. 1980. 963p.
- GRIFFITHS, M. Biotechnology for a clean environment. Mike Griffiths Associates, The Pantilles, Ivy Lane, Woking. Inglaterra. 19p. 1992.
- SIEGRIST, H. The removal of nutrients in activated sludge systems. EAWAG News (Swiss Federal Institute Science and Technology), 37E: 11-16, 1995.
- van der MEER, J.R. Potential and limitations to the use of microbiological methods for the treatment of environmental pollution. EAWAG News (Swiss Federal Institute Science and Technology), 36E: 20-3, 1994.
- VAZOLLER, R.F. Sub-capítulo Microbiologia e Saneamento Ambiental do Capítulo Diversidade Microbiana e Desenvolvimento Sustentável - Projeto PADCT-Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "André Tosello". Livro Biodiversidade: perspectivas e oportunidades tecnológicas-Internet-WorldWideWeb (<http://www.bdt.org.br/bdt/paper/padctbio/>), 1995.
- BOUWER, E.J. & ZEHNDER, A.J.B. Bioremediation of organic compounds- putting microbial metabolism to work. TIBTECH, 11: 360-7, 1993.