

POTENCIAL DESEMULSIFICANTE DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS AO FLUIDO DE CORTE

Camila Martins dos Santos¹

Vívian Martins dos Santos¹

Felipi Lima Matozinho¹

Catiussa Maiara Pazuch²

Luís Fernando Firmino Demetrio³

Danielle Hiromi Nakagawa⁴

Gerenciamento de resíduos sólidos e líquidos

RESUMO

Ao atingir sua vida útil, o fluido de corte precisa ser descartado, sendo necessário tratamento prévio que, convencionalmente, ocorre por métodos físico-químicos. Entretanto, este processo pode aumentar o potencial poluidor do efluente dado aumento da composição química do mesmo. Visando contribuir com o meio ambiente, busca-se um método alternativo e inovador empregando bactérias. O presente trabalho visou isolar e selecionar bactérias capazes de realizar a desemulsificação do fluido de corte. Para tanto, bactérias autóctones do fluido e bactérias provenientes de uma amostra de solo de uma mata nativa da região contaminada em laboratório com fluido de corte foram isoladas em meio ágar nutriente e Bushnell Haas, respectivamente. Após isoladas, as bactérias foram submetidas a testes de desemulsificação, sendo (i) através da comparação com desemulsificação química realizada através de H₂SO₄; (ii) por meio da avaliação da capacidade de degradação de hidrocarbonetos utilizando 2,6-diclorofenol-indofenol como indicador. As bactérias isoladas corresponderam a *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus*, *Pseudomonas oryzihabitans* e *Ochrobactrum anthropi*. No primeiro teste, as bactérias testadas apresentaram equivalência do potencial desemulsificante de 0,1; 0,2; e 0,3% da desemulsão por H₂SO₄, enquanto no segundo, dois das três bactérias testadas apresentaram resultados positivos. As bactérias se mostraram capazes de realizar a desemulsificação e, portanto, podem ser aliadas ao tratamento do fluido de corte, substituindo os métodos convencionais.

Palavras-chave: Biodesemulsificantes; Usinagem; Fluido de Corte; Bioaumentação.

INTRODUÇÃO

Nos processos de usinagem de metais se utiliza o fluido de corte, o qual atua reduzindo a geração de calor produzido através do atrito entre ferramenta-peça e cavaco-ferramenta. O fluido de corte emulsionável é constituído por três ingredientes essenciais: óleo, água e aditivos. Dependendo do processo de trabalho, a concentração do óleo no fluido de corte pode variar de 1 a 20% (DINIZ; MARCONDES; COPPINI, 1999; DILGER; FLURI; SONNTAG, 2005), sendo necessário o processo de emulsão para homogeneização da fase aquosa e oleosa.

¹Alunos (as) do Curso Técnico em Biotecnologia do Instituto Federal do Paraná – campus Jaguariaíva, camilakovalhukk@gmail.com.

⁴Prof. Me. Danielle Hiromi Nakagawa – Instituto Federal do Paraná – campus Jaguariaíva, danielle.nakagawa@ifpr.edu.br.

Após atingir o tempo de vida, este lubrificante deve ser descartado. No entanto, os fluidos de corte apresentam características agressivas ao meio ambiente, à comunidade e a outras atividades econômicas, sendo, portanto, necessário o tratamento prévio (IGNÁCIO, 1998). Dada a dificuldade de tratamento, vale ressaltar que, segundo Fávero (2003), os principais impactos causados pelo descarte incorreto dos fluidos são: desenvolvimento de doenças, contaminação do solo e água com óleos e graxos, metais pesados, resíduos sólidos, solventes e formação de películas flutuantes de óleo e contaminação do ar com vapores, dioxinas e gases nitrosos que podem ser levados para o solo e a água através das chuvas.

Dentre as etapas do tratamento, encontra-se a desmulsificação - consiste na separação da fase aquosa e oleosa do efluente, realizada através de métodos físicos, os quais possuem elevado custo, e/ou químicos, que podem aumentar o potencial poluidor do efluente devido à adesão de componentes químicos. Em substituição ao tratamento por processos físico-químicos, estudos alternativos utilizando bactérias são desejáveis (QUEISSADA; SILVA; PAIVA, 2011). Ressalta-se que, uma vez realizada a desmulsificação do fluido de corte, o óleo pode ser reutilizado para outros fins, destacando a importância desta etapa no tratamento.

A produção de biodesmulsificantes se inicia com o isolamento de cepas, conseguinte das otimizações de cultivo e das propriedades desmulsificantes. É uma recente proposta e apresenta necessidade de ser investigada para se conhecer melhor a diversidade microbiana que apresenta esta capacidade (HUANG et al, 2010). Representa uma solução inovadora na quebra de emulsões do tipo óleo em água ou água em óleo, devido à baixa toxicidade, biodegradabilidade e alta eficiência em condições extremas (Rodrigues, 2013). Diante do exposto, o trabalho possui como objetivo isolar e verificar o potencial biodesmulsificante de bactérias autóctones de fluido de corte e de bactérias presentes em solo contaminado com este efluente.

METODOLOGIA

Isolamento das bactérias autóctones do fluido de corte e de solo contaminado: as bactérias autóctones do fluido foram isoladas em meio de cultura Ágar Nutriente 36°C/24h. Após isoladas, as bactérias foram estocadas em meio Brain Heart Infusion (BHI) líquido.

Para isolamento das bactérias de amostras de solo uma amostra (160g) foi coletada em uma floresta nativa da região de Jaguariaíva-PR, em seguida, adicionado 5% (m/v) de fluido de corte sem uso quatro vezes em intervalos de 5 dias.

Inoculou-se, em duplicatas, 1g da amostra de solo em 100mL do meio líquido Bushnell-Haas contendo 1% v/v de FC como única fonte de carbono. Em seguida, 100 µl da solução foi inoculada em placas de Petri contendo o meio BH sólido com 1% v/v de FC, incubadas a 36°C/48h.

Identificação bioquímica das bactérias: caracterizou-se as bactérias quanto às características morfotintoriais e as que apresentaram características gram-negativas foram submetidas à identificação bioquímica dos kits Bactray I, II (oxidase negativa) e III (oxidase positiva) (Laborclin) de acordo com as instruções do fabricante.

Comparação entre a desemulsificação química e a biodesemulsificação: foram preparadas soluções bacterianas com a turbidez ajustada a 0,5 da escala McFarland (10^8 UFC/mL)(Miranda et al. 2007). Adicionou-se, para testes de biodesemulsificação, 10 µl de solução padronizada em tubos de ensaio contendo 3 ml de fluido de corte sem uso e incubou-se a 36°C/48h. Nas mesmas condições foram preparados testes de desemulsificação química contendo H₂SO₄ nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5%.

Avaliação da capacidade de degradação de hidrocarbonetos: as bactérias foram submetidas ao teste da capacidade de degradação de hidrocarbonetos proposto por Hanson et al. (1993, com modificações). Conduzido em tubos de ensaio contendo 2% v/v de solução bacteriana padronizada de acordo com o padrão de turbidez 0,5 da escala McFarland, inoculadas em 95,3% v/v de BH com 1,7% v/v de solução de 2,6-diclorofenol-indofenol (DCFI) em concentração 0,05 g/L juntamente com 1% v/v de fluido de corte como fonte de carbono e incubadas a 36°C/72h. A presença da degradação é indicada pela alteração do meio de azul (coloração original) para transparente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de identificação bioquímica realizado, foi possível identificar três bactérias, sendo elas *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus*, *Ochrobactrum anthropi* e *Pseudomonas oryzihabitans*. O gênero *Acinetobacter* vem sendo estudado na biorremediação com contaminantes como: lignina, PCB, fenol, herbicidas, entre outros (SCRAMIN; DENTZIEN; MELO, 2003; STRAND, 2003; QIHUI et al., 2017). Neste trabalho, as cepas de *Acinetobacter*, apresentaram capacidade desemulsificante frente ao fluido de corte analisado, sendo este gênero amplamente citado na literatura como potencial para biodegradação de hidrocarbonetos derivados de petróleo (LUZ et al., 2011).

Bactérias do gênero *Ochrobactrum* vêm sendo analisadas quanto à capacidade em degradar inseticidas, fenol, eritromicina e de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (KILIÇ, 2009; ARULAZHGAN; VASUDEVAN, 2011; ABRAHAM; SILAMBARASAN, 2016; ZHANG et al., 2017). Segundo Reis (2013), *Ochrobactrum anthropi* apresentam interesse particular para biorremediação e, estudos realizados por Cheng et al. (2010) demonstraram que são capazes de degradar solventes tóxicos, resíduos de petróleo e também remover Cr, Cd e Cu e outros metais tóxicos do ambiente.

Na avaliação do potencial biodesemulsificante em comparação com a desemulsificação química, encontrou-se uma equivalência aproximada a 0,1; 0,2%. As bactérias foram capazes de desestabilizar a emulsão entre as fases do fluido de corte, formando gotículas de óleo na superfície - processo denominado coalescência, uma das etapas características da separação de fases (HILÁRIO, 2012).

No teste descrito utilizando DCPIP, *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus* e *Ochrobactrum anthropi* apresentaram a capacidade de realizar a degradação de hidrocarbonetos dada a resultante descoloração do meio de cultivo (após três dias do período de incubação), mostrando-se capazes de utilizarem o fluido de corte como fonte de carbono.

Segundo Oliveira e Daniel (2001) o fluido de corte além de tóxico era considerado biorrefratário - devido a longa composição das moléculas, a aplicação de microrganismos no tratamento para a degradação do efluente não era possível. No entanto, neste estudo as bactérias isoladas apresentaram a capacidade de atuar no tratamento do fluido e podem servir como alternativa viável em relação ao tratamento convencional uma vez que não adiciona mais produto químico ao mesmo.

CONCLUSÕES

Foram isoladas e identificadas três espécies de bactérias: *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus*, *Ochrobactrum anthropi* e *Pseudomonas oryzae* que apresentaram potencial biodesemulsificante de acordo com os testes realizados, logo, se otimizadas, poderão atuar no tratamento do fluido de corte.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, J.; SILAMBARASAN, S. Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3,5,6-trichloro-2-pyridinol using a novel bacterium *Ochrobactrum* sp. JAS2: A proposal of its metabolic pathway. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. V. 126. 2016.
- ARULAZHGAN, P.; VASUDEVAN, N. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a halotolerant bacterial strain *Ochrobactrum* sp. VA1. *Marine Pollution Bulletin*. V. 62. Ed. 2. 2011.
- DINIZ, A. E.; MARCONDES, F. C.; COPPINI, N. L. *Tecnologia da usinagem dos materiais*. São Paulo: MM Editora, 1999. Drodzda, Tom J.; Wick, C. 1983. *Tool and manufacturing Engineers Handbook – Machining*. 4.ed. Dearborn: Society of Manufacturing Engineers, Michigan, USA, 1983.
- FÁVERO, R.A.; FERREIRA, J.R; SILVEIRA, R.S; *Impactos Ambientais Causados pelos Fluidos de Corte e Racionalização dos mesmos*. 2º Congresso Nacional de Estudantes de Engenharia Mecânica, 2003.
- HILÁRIO, Larissa Sobral. **Avaliação de desempenho de desemulsificantes comerciais na separação da água produzida do petróleo**. 2012. 37 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Petróleo, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.
- HUANG, X. [et. al.]. Evaluation of screening methods for demulsifying bacteria and characterization of lipopeptide bio-demulsifier produced by *Alcaligenes* sp. **Bioresource Technology**, n.100, p.1358–1365, 2009.
- IGNÁCIO, E. A. Caracterização de Legislação Ambiental Brasileira voltada para a utilização de fluido de corte na indústria metalmeccânica. Dissertação (mestrado). Departamento de engenharia de produção, UFSC, Florianópolis, 1998.
- LIU, J.; HUANG, X.; LU, L.; XU, J.; WEN, Y.; YANG, D.; ZHOU, Q. Optimization of biodemulsifier production from *Alcaligenes* sp. S-XJ-1 and its application in breaking crude oil emulsion. **Journal of Hazardous Materials**, vol.183, p.466-473, 2010.
- KILIÇ, N. K. Enhancement of phenol biodegradation by *Ochrobactrum* sp. isolated from industrial wastewaters. *International Biodeterioration & Biodegradation*. V. 63. Ed. 6. 2009.
- LUZ, C. C. et al. Estudos de biodegradação de óleo diesel por consórcio microbiano coletado em Porto Velho - RO, Amazônia. *Química Nova*. V. 4. N. 5. 2011.
- PIUBELI, F. A.; BIANCHI, E. C. Transtornos em operações de usinagem: Microrganismos no fluido de corte. 2º Congresso Brasileiro de Fabricação, Uberlândia, 2003.
- QIHUI, G. et al. *Acinetobacter* sp. DW-1 immobilized on polyhedron hollow polypropylene balls and analysis of transcriptome and proteome of the bacterium during phenol biodegradation process. *Nature - Scientific Reports*. 7:4863. 2017.
- QUEISSADA, D. D.; SILVA, F. T.; PAIVA, T. C. B. Tratamentos integrados em efluente metalmeccânico: precipitação química e biotratamento em reator do tipo air-lift. **Eng. Sanit. Ambient.**, v. 16, n. 2, p. 181-188, abr/jun 2011.
- REIS, K. C. Seleção de bactérias resistentes a FE3+ com potencial aplicação em biorremediação. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras – Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola. Lavras, 2013.
- RODRIGUES, J.R.S. **Desenvolvimento de biodesemulsificantes para a quebra de emulsão água em óleo**. Tese de doutorado em Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2013.
- SCRAMIN, S.; DENTZIEN, A. F.; MELO, I. S. Indução da Enzima Pirocatecase por *Acinetobacter baumannii* Envolvida na Biodegradação do Herbicida.
- STRAND, S. E. Aerobic biodegradation of polychlorinated biphenyls. *CEWA, ESC, MICRO 518*, 1–10
- VAN DER GAST, Christopher. J. et al. Bacterial community structure and function in a metal-working fluid. **Environmental Microbiology**. v. 5. p. 453-461. 2003.
- ZHANG, W. et al. Isolation and characterization of a high-efficiency erythromycin A-degrading *Ochrobactrum* sp. Strain. *Marine Pollution Bulletin*. V. 114. Ed. 2. 2017.