

Protocolo experimental

Biorremediação: biodegradação de contaminantes orgânicos por microrganismos

Enquadramento Teórico

Os derrames do petróleo, e de outros compostos que são transportados por via marítima em grandes quantidades, são um risco que ameaça sistematicamente os oceanos e as suas zonas costeiras em todo o mundo. As marés negras causadas por estes acidentes constituem verdadeiras catástrofes ecológicas, com efeitos devastadores e persistentes, difíceis de mitigar. Torna-se pois necessário empregar estratégias de limpeza eficientes para o combate deste enorme problema ambiental.

Os microrganismos desempenham um papel fundamental nos oceanos, sendo responsáveis, entre outros, por manter os principais ciclos biogeoquímicos e degradar diversos poluentes orgânicos. A biorremediação é o processo pelo qual os organismos vivos tais como, bactérias, fungos, ou as suas enzimas são utilizados para reduzir ou remover poluentes ambientais. Isso acontece porque muitos microrganismos têm uma capacidade natural para degradar contaminantes orgânicos, podendo estes ser utilizados como fonte de carbono e energia. A biorremediação constitui um meio de remoção de poluentes ambientais de uma forma eficiente, económica e amiga do ambiente, podendo ser aplicada para a descontaminação de águas, solos e ar. Ao nível dos oceanos a biorremediação tem, entre outros, um papel preponderante na descontaminação de derrames de petróleo, auxiliando na recuperação dos ecossistemas marinhos.

Objetivos

Este protocolo tem como objetivo investigar o potencial de biodegradação de detergentes e produtos de cuidados pessoais por microrganismos com origem ambiental. Nesta experiência os jovens poderão compreender a importância dos microrganismos para a regeneração de ambientes marinhos poluídos com petróleo ou outras substâncias contaminantes orgânicas. Pretende-se que os jovens possam avaliar e reconhecer o potencial de microrganismos para degradar poluentes

orgânicos, identificando estripes microbianas que possam ser eficientes na remoção destes poluentes. Espera-se assim sensibilizar os jovens para os ciclos de nutrientes e a sua importância, para o flagelo da poluição dos oceanos, as suas consequências e soluções naturais e eficientes de tratamento. Este protocolo enquadra-se na Área Curricular de Biologia e Geologia (11º ano) e de Biologia (12º ano) do Ensino Secundário. Insere-se no Princípio Essencial 5 “O Oceano suporta uma imensa diversidade de vida e de ecossistemas”, no Princípio Essencial 6 “O Oceano e a humanidade estão fortemente interligados” e no Princípio Essencial 7 “Há muito por descobrir e explorar no Oceano” sobre a cultura científica do Oceano fomentada pelo projeto Conhecer o Oceano¹.

¹ <http://www.cienciaviva.pt/oceano/home/>

www.ciimar.up.pt/oCIIMARnaEscola/OCEANLAB.php

Material abrangido por licença Creative Commons



Material

- Placas de Petri
- Meio de Cultura (Bushnell Haas contendo 15g/L de agar)
- Frascos
- Pipeta automática 1ml
- Pontas de 1 ml
- Areia/Terra
- Solução salina (NaCl a 0,85%)
- Eppendorfs
- Soluções contaminantes (ex: protetor solar, detergente lava-tudo, detergente da loiça normal, detergente ecológico, champô)
- Espalhadores/cotonetes

Procedimento

A. Preparação de placas de Petri contendo o meio de cultura sólido

1. Pesar 3,27 g de meio Bushnell Haas Broth e 15 g de agar e dissolver em 1 L de água destilada.
2. Agitar em placa de agitação até dissolver completamente (ferver).
3. Dividir o meio por diferentes frascos de acordo com o nº de detergentes que se pretende testar.
4. Autoclavar os diferentes frascos a 121 °C durante 15 minutos.
5. Deixar arrefecer até à temperatura de $\pm 45^{\circ}\text{C}$ e juntar a cada frasco os detergentes a 0,1%.
6. Agitar ligeiramente e plaquear o meio em placas de Petri.

B. Inoculação

1. Recolher de um local pretendido uma amostra de areia ou terra.
2. Num frasco, adicionar uma colher de areia ou terra a 50 ml de solução salina e agitar vigorosamente.
3. Repousar o frasco de modo a permitir a decantação da areia ou terra.

4. Diluir o sobrenadante, retirando para um eppendorf 0,1 ml de sobrenadante e adicionando 0,9 ml de solução salina (diluição de 10x).
5. Repetir este passo mais uma vez, mas desta vez retirar 0,1 ml de amostra da diluição 10X e adicionar mais 0,9 ml de solução salina (diluição 100x).
6. Plaquear a amostra não diluída e as diluições de 10x e 100 x nos meios sólidos preparados anteriormente, espalhando 0,1ml de amostra.
7. Identificar cada placa atribuindo-lhe um número e identificando igualmente as condições presentes na placa (solução contaminante e diluição utilizada).
8. Incubar à temperatura de 25 °C durante 48-72 horas.

C. Análise dos Resultados

1. Após um período de 48-72 h, verificar o crescimento nas placas e registar o nº de colónias na diluição que apresente uma contagem entre 30 e 300 colónias.
2. Para cada detergente calcular o nº de unidades formadoras de colónias (UFC) por ml de amostra, de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{UFC/ml} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de colónias} \times 1/\text{diluição}}{\text{Volume plaqueado (0,1 ml)}}$$

3. Concluir acerca da capacidade dos microrganismos provenientes de amostra de areia/terra para biodegradar os detergentes testados e comparar as biodegradabilidades dos diferentes contaminantes.

Biorremediação: biodegradação de contaminantes orgânicos por microrganismos

Registo da experiência

1. Indica quais os objetivos desta atividade experimental.
2. Regista na tabela 1 a solução contaminante e a diluição utilizada, o nº de colónias e o respetivo valor das unidades formadoras de colónias (UFC) por ml para as diferentes placas. Elabora a legenda da tabela.

Tabela 1:

	Solução Contaminante	Diluição	Nº de Colónias	UFC/ml
Placa 1				
Placa 2				
Placa 3				
Placa 4				
Placa 5				
Placa 6				
Placa 7				
Placa 8				
Placa 9				
Placa 10				
Placa 11				
Placa 12				

