

# ESTUDO DE UM CONSÓRCIO MICROBIANO NO TRATAMENTO DE EFLUENTES FRIGORÍFICOS

Caio César de Sousa Yoshioka<sup>1</sup>; Joel Alexandre Meira<sup>2</sup>; Elisa Espósito<sup>3</sup>

Estudante do Curso de Ciências Biológicas; e-mail: caiojjcesar@yahoo.com.br<sup>1</sup>

Estudante do Curso de Doutorado da UMC; e-mail: joeltdf@gmail.com<sup>2</sup>

Professora da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: elisa@umc.br<sup>3</sup>

**Área do Conhecimento: Microbiologia Aplicada**

**Palavras-chave: Biosurfactante; Lipase; Tratamento de efluentes**

## INTRODUÇÃO

A agroindústria é hoje um importante segmento da atividade econômica mundial, destacando-se o beneficiamento animal (FERNANDES, 2007). Em frigoríficos, alto consumo de água acarreta grandes volumes de efluentes - 80 a 95% da água consumida é descarregada como efluente líquido (CONAMA, 2005). Os frigoríficos geram um efluente com elevada carga orgânica e teor de nutrientes que, uma vez lançados ao ambiente causam sério impacto e eutrofização. Segundo resolução do CONAMA de 17 de maio de 2005, nenhum efluente pode ser desprezado sem tratamento prévio. Elevadas concentrações de lipídios resultam na formação de uma camada de gordura nas lagoas de tratamento, que impede as transferências de oxigênio, prejudicando o tratamento biológico aeróbio de degradação da matéria orgânica. A concentração de lipídeos pode levar a um aumento da quantidade de microrganismos filamentosos, resultando na formação de lodos com diferentes características físicas (diminuição da densidade) e reduzidas atividades hidrolíticas, fenômeno que interfere negativamente nos sistemas de tratamento de efluentes por dificultar a ação dos decompositores microbiológicos (PUJOL *et al.*, 2007).

Nos últimos anos tem crescido o interesse por surfactantes de origem microbiana, denominados biosurfactantes. Estes, em comparação com os surfactantes sintéticos apresentam vantagens devido a sua baixa toxicidade, alta biodegradabilidade, produção a partir de substratos renováveis, estabilidade em valores extremos de pH e temperatura (FERNANDES, 2007). Resíduos orgânicos e industriais são apontados como possíveis substratos para a produção de biosurfactantes, barateando seu custo (MEIRA, 2007).

A eficácia do biosurfactante é determinada por uma análise simples envolvendo a concentração micelar crítica (CMC), determinada por sua solubilidade em fase aquosa ou a concentração mínima requerida para atingir a mais baixa tensão superficial ou interfacial. A porção hidrofílica é constituída de grupos catiônicos, aniônicos enquanto que a hidrofóbica geralmente é um hidrocarboneto linear ou ramificado, apresentando ou não duplas ligações e ou grupos aromáticos (MEIRA, 2007; FERNANDES, 2007).

Alguns organismos produzem enzimas do grupo das hidrolases capazes de catalisar uma gama de reações de interesse à agroindústria pautado, sobretudo na grande especificidade por um substrato, os triglicerídeos, estas enzimas são conhecidas como lípases, estas hidrolisam especificamente óleos e gorduras. As lípases podem ser oriundas de grupos bacterianos, fúngicos, vegetais e animais (FERNANDES, 2007; MEIRA, 2007). O processo de obtenção das lípases e biosurfactantes por microrganismos, segundo YOSSEF *et al.* (2003) se dá por meio de fermentações em estado sólido ou submersas estando envolvidos no processo a seleção do

microrganismos, substrato e a caracterização dos nutrientes assim como o suporte para as células microbianas, relacionando-se fortemente com a umidade, pH, temperatura tornando evidente a produtividade atingida direcionando a seleção dos mais versáteis ou específicos de acordo com a aplicabilidade esperada (YOSSEF *et al.*, 2003).

## **OBJETIVOS**

Isolamento e caracterização de bactérias de efluentes frigoríficos quanto à produção de biosurfactante e lipase como um método de seleção para aplicação em tratamento de efluentes frigoríficos.

## **METODOLOGIA**

### **Microrganismos**

As bactérias foram isoladas a partir de quatro diferentes pontos do reservatório de tratamento biológico, denominados RC, RA, RB e RD, e semeados em placa TSA suplementado com 10% de efluente líquido. Foi realizada uma coleta de lodo residual, denominado RE. As sementeiras foram incubadas a 28°C, e colônias bacterianas distintas foram obtidas pela técnica do esgotamento. As linhagens isoladas foram caracterizados morfologicamente pela técnica da Coloração de Gram.

### **Ensaio de condição experimental**

Alíquotas das diferentes condições experimentais (LB 10, 30, 50, 70, 90 e 100% e Efluente de frigorífico 10, 30, 50, 70, 90 e 100%) foram analisadas em espectrofotômetro quantificando a absorbância à 600nm e a quantidade de proteínas totais a 595 nm, de acordo com o método calorimétrico de Bradford

### **Teste Colapso da Gota**

Obedecendo a condição experimental, os isolados foram testados qualitativamente pelo do colapso da gota em tampas de placa Elisa. Os poços foram untados com 2 µL de óleo de motor 10 W-40, em seguida 5 µL dos sobrenadantes dos isolados foram colocados em cada um dos poços rasos e o espalhamento das gotas avaliado após 2 minutos. O resultado foi considerado positivo quando se percebeu visualmente o espalhamento da gota (YOUSSEF *et al.*, 2003).

### **Ensaio em meios indutores (Sais e Glicerol) a produção de biosurfactante**

A produção de biosurfactantes foi induzida empregando os seguintes meios: A) Meio de sais (1.9 g/L de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 3.0 g/L de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 7.0 g/L de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> e 2.0 g/L de MgSO<sub>4</sub>) e B) meio de glicerol 3%. Os isolados bacterianos foram inoculados em 50 mL destes meios e agitados por 24h à 28 C em *shaker* a 150 RPM. Após crescimento microbiano o teste do colapso da gota foi realizado.

### **Ensaio com geradores atmosféricos de Anaerobiose e Carbono aumentado**

Todas as bactérias isoladas foram incubadas a 28°C em câmara de anaerobiose Anaerobac e com gerador de CO<sub>2</sub>, durante 7 dias.

### **Meio diferencial para linhagens produtoras de lipase**

Ensaio qualitativo de produção de lipase constou de meio ágar suplementado com corante Rodamina b (2%) e óleo de oliva (2%). A produção de lipase em placas de Petri foi confirmada pela presença de halos alaranjados, fosforescentes a luz UV, após 48 h de incubação em estufa a 28°C (FERNANDES, 2007).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A maioria das bactérias isoladas de efluentes frigoríficos é Gram-positiva (14), contrariando estudos semelhantes que apontaram maior prevalência de bactérias Gram-negativas (YOSSEF *et al.*, 2003). A melhor condição experimental selecionada foi LB 70% com 30 % de efluente de frigorífico devido ao crescimento colonial apresentado.

Apenas cinco linhagens são produtoras de biosurfactantes, contudo, 23 bactérias produzem lipase e dezesseis são anaerobias facultativas. Estas características podem representar uma vantagem no tratamento biológico do efluentes, uma vez que a quebra da tensão superficial pelos biosurfactantes e a hidrólise por meio da lipase, além da adaptação a condição anaerobica das lagoas de tratamento pode propiciar maior redução da carga orgânica, de acordo com o que sugere MEIRA (2007)

O ensaio de produção de biosurfactantes em meio indutor não identificou novas bactérias produtoras, entretanto a quantificação da produção de biosurfactantes e lipases está em andamento, para que se possa selecionar as linhagens mais eficientes para formação de um consórcio. A Tabela 1 apresenta os resultados da caracterização bioquímica dos isolados bacterianos.

**Tabela 1:** Caracterização bioquímica dos isolados bacterianos.

Bactérias	Gram	Biosurfactantes	Lipase	Anaerobiose e carbono aumentado	Biosurfactantes após meios indutores
1. RC-A1	-	+	-	+	+
2. RC-A2	+	-	-	+	-
3. RC-A3	+	+	-	+	+
4. RA-1AA	+	-	-	+	-
5. RA-1AB	+	-	+	+	-
6. RA-1AC	+	-	+	+	-
7. RA-2A1	-	-	+	+	-
8. RA-2A2	-	-	+	+	-
9. RA-2B	+	-	+	+	-
10. RB-A2	-	+	-	+	+
11. RD-A1	+	-	+	+	-
12. RD-A2	-	-	-	+	-
13. RD-A3	+	-	+	+	-
14. RD-A4	+	+	-	+	+
15. RD-A5	+	-	+	+	-
16. RE-A	+	-	+	+	-
17. RE- B	-	-	+	+	-
18. RE- C	-	+	+	+	+
19. RE- D	-	-	+	+	-
20. RE- E	+	-	+	+	-
21. RE- F	+	-	+	+	-
22. RE- G	-	-	+	+	-
23. RE- H	+	-	+	+	-
24. RE- I	-	-	+	+	-

## CONCLUSÕES

Os isolados bacterianos apresentam potencial para o tratamento de efluente de frigorífico, devido a produção de biosurfactantes e lípases. Análises quantitativas de biosurfactantes e lípases estão em andamento, o que favorecerá o emprego de consórcios bem elaborados para este tipo de tratamento, atendendo a exigências do CONAMA (2005).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CONAMA (CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE). Resolução 357, de 17 de maio de 2005. Ministério do Meio Ambiente.

FERNANDES, M. L. M. 2007 Produção de lípases por fermentação em estado sólido e sua utilização em biocatálise. Tese de Doutorado em Química. Universidade Federal do Paraná. Curitiba

MEIRA, J. A. 2007. Produção de Biosurfactantes por fermentação no estado sólido e desenvolvimento de aplicações para tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

PUJOL, S. B.; AITA, C.; GIACOMINI, S.J.; HÜBNER, A. P.; BALLEM, A.; LEAL, A.; LEAL, L. T. 2007. Dinâmica da remoção de DQO e de N no tratamento de efluente de frigorífico em reator aeróbico de biogrânulos. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Maria. RS.

YOSSEF, N.H.; DUNCAN, K.E.; NAGLE, D.; SAVAGE, K.N.; KNAPP, R.M.; MECINERNEY, M.J. 2003. Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms. Department of Botany and Microbiology, University of Oklahoma, 770 Van Vleet Oval, Norman, OK 73019, USA.