

# CONSTRUÇÃO DE PROTÓTIPO DE REATOR COM SISTEMA ROTACIONAL PARA ISOLAR MICRORGANISMO COM POTENCIAL PARA BIORREMEDIAÇÃO DE ÁGUAS CONTAMINADAS POR METAIS PESADOS

Camila Fernandes da Silva; Cleide Barbieri de Souza  
Núcleo Acadêmico de Estudos e Pesquisas em Biotecnologia  
Centro Universitário Lusíada (UNILUS)  
Área Temática: Biomedicina

## RESUMO EXPANDIDO

O sistema estuarino da região da baixada Santista do estado de São Paulo é uma ampla rede de canais estuarinos e extensos manguezais, confinados entre o oceano e as escarpas da Serra do Mar. Esta região sofre com a poluição das indústrias de base (siderúrgica, petroquímica e de fertilizante) além do fato do adensamento urbano e atividades portuárias tendo uma quantidade de poluentes presentes na água e sedimentos bastante expressivos e heterogêneos. (PARREIRA, 2012)

De acordo com o relatório estuarino de Santos e São Vicente realizado pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB), em 2013, Os metais Zinco, Cádmio, Mercúrio, Cromo, Níquel, Cobre e Chumbo, ainda nos tempos atuais continuam a ser uma problemática da região. Segundo o relatório estuarino de Santos e São Vicente realizado pela CETESB em agosto de 2001, o sistema da região possui algumas amostras de águas contaminadas por até 9% de concentração de cádmio e chumbo, além de outros elementos como o cobre, o mercúrio, o níquel e o zinco, acima do critério estabelecido pelo CONAMA 20/86. Tais elementos também são encontrados nos sedimentos desta região da Baixada Santista acima das concentrações limites os quais provocam efeitos severos aos organismos aquáticos, e em outro relatório da CETESB de 2013, esses mesmo metais associados aos lançamentos de efluentes industriais, continuaram a mostrar alta porcentagem de resultados-desconformes.

A presença frequente destes íons metálicos seleciona microrganismos autóctones resistentes ou dá origem/aprimora o desenvolvimento de mecanismos de resistência destes microrganismos frente a estes íons metálicos. A comunidade científica tem papel importantíssimo nesse contexto, estudando, desenvolvendo e viabilizando alternativas para minimizar os impactos ao meio ambiente, que o caso da utilização do processo da biorremediação utilizando tais microrganismos naturalmente resistentes aos íons metálicos. A biorremediação, comparada aos processos convencionais físico-químicos, é uma alternativa ecologicamente mais adequada, eficaz, barata e de alta aceitação pública (ZINKEVICH et al., 1996; SAYER & GADD, 2001; VIDALI, 2001; SPROCATI et al., 2006; MELO & AZEVEDO, 2008).

Biofilme microbiano é um complexo ecossistema microbiano, altamente dinâmico que atua de maneira coordenada, aderidas as superfícies bióticas e/ou abióticas (sésseis) ou suspensas em solução (plancônicas), cujas células podem ou não estar envolvidas por uma matriz de exopolímeros (polissacarídeos, proteínas, lipídeos), podendo ser formada a partir de uma única ou de múltiplas espécies, que representam a parte majoritária de toda a vida microbiana, tanto em quantidade, como em termos de atividade. Assim um biofilme forma-se em qualquer superfície sólida em contato com água não esterilizada. (SCHNEIDER, 2007; KYAW\_\_\_\_; XAVIER et al., 2003).

A biorremediação mediada pelo biofilme apresenta uma alternativa mais segura para microrganismos porque as células em um biofilme apresentam uma melhor possibilidade de adaptação e sobrevivência (especialmente durante os períodos de tensão) por se encontrarem protegidos no interior da matriz. Estudos relatam o uso de biofilmes para tratamentos de água e esgoto em o início de 1980. Contudo, é somente durante a últimas décadas que os reatores de biofilme se tornaram um foco de interesse para os pesquisadores da área de biorremediação. (SINGH et al., 2006)

Para tanto, este trabalho visa uma alternativa para tratamento de águas contaminadas por metais pesados utilizando o processo de biorremediação a partir de microrganismos resistentes a íons metálicos isolados de amostras desta região contaminada, com potencial para formação de biofilme em sistema aeróbio a partir de um reator de vidro com matriz rotacional.

A primeira etapa do trabalho consistiu na construção do protótipo de reator com eixo central com tubos de cobre cortados em medidas que assegurem as posições das polias, estas foram desenvolvidas em teflon e minuciosamente calculadas para a determinação dos números de voltas/tempo precisos, os quais são de 3 rpm e o motor terá potência e engrenagens que assegurem esta precisão. A superfície rotativa anexada ao eixo central, estrutura na qual foi utilizada para a formação do biofilme, em tubo de material PVC. Pois, de acordo com Costa e colaboradores (2001) o PVC apresenta melhores resultados comparado ao poliestireno. Todo este sistema foi instalado em um tanque de vidro.

Posterior à construção do protótipo, foi realizada uma coleta no Rio Cubatão (-23.879954, -46.421845) localizado no município de Cubatão (SP) onde com materiais estéreis foram coletados: água, sedimento e solo, próximo ao córrego do rio em questão e estes foram colocados em um meio Caldo Nutriente contaminado por 4 metais: Mercúrio, níquel, cobre e zinco em concentração de 100 µM denominado, teste I. Com o protótipo em funcionamento há uma semana, foi realizado uma coleta com o que aparentemente era uma formação de biofilme na parede do PVC, para dar início a análise do microrganismo.

Com seu funcionamento por um período de 14 dias, foram realizadas duas análises microscópicas em triplicata do biofilme formado na parede da superfície PVC. Uma alíquota deste biofilme foi coletada, transcorridos os primeiros 7 dias de funcionamento, esta amostra foi colocada em meio de cultivo completo, BHI (brain heart infusion), incubada por 24 horas na estufa a 37°C. Depois foram feitas placas em meio Mueller Hinton Agar. Esses dois meios foram utilizados por serem úteis no cultivo de uma ampla variedade de microrganismos, visando assim conseguirmos isolar qualquer que fosse o microrganismo que estivesse presente na amostra coletada do biofilme produzido. Posteriormente, foram confeccionadas lâminas coradas pelo método de Gram, o qual foi observado a presença de bacilos Gram negativo. Após os outros 7 dias restantes foi repetida a análise microscópica obtendo-se o mesmo resultado.

No teste II, já que não conseguimos dar continuidade da forma desejada, pela falta do íon cobre, assim aumentamos a concentração do Zinco e Níquel em cinco vezes a anterior, ou seja em concentração de 500 µM, e mantemos a do mercúrio, adicionamos as

amostras ambientais e o microrganismo isolado no teste I, visando analisar resistência da bactéria isolada e também com o propósito de conseguirmos isolar algum outro microrganismo nesta nova condição. Assim, com o decorrer de 7 dias foram feitas coletas do biofilme e realizadas técnicas microbiológicas iguais às realizadas para o teste I, observamos a presença de duas colônias diferentes de Bacilos Gram Negativos, sendo uma delas morfológicamente semelhante a isolada no teste I. Então podemos dizer que neste teste II, foi observada a contínua resistência da bactéria isolada no teste I frente as novas e maiores concentrações dos metais, bem como, isolamos outro microrganismo.

Portanto com o desenvolvimento desse protótipo de reator em escala laboratorial e operacionalmente simples, que visa a formação de biofilmes por microrganismos resistentes a íons metálicos isolados de amostras coletadas em uma região com histórico de contaminação por estes elementos, conseguimos chegar no nosso objetivo de isolar um microrganismo que é formador de biofilme e que se mostra resistente a metais. Este estudo é de grande importância, pois este microrganismo isolado terá potencial para ser utilizado no processo de biorremediação, como agente de remoção dos íons metálicos, tal qual como já se sabe este processo é conhecidamente uma alternativa biotecnológica viável.

Assim futuramente este estudo terá continuidade, testando esse nosso microrganismo que foi isolado de amostras ambientais da nossa região, testando sua resistência em concentrações maiores de metais e comparadas com as descritas na literatura, para saber se ela se mostrará mais ou igualmente resistente, para então identificá-la e posteriormente poder testar seu potencial biorremediador.

## REFERÊNCIAS

- CETESB. Avaliação preliminar da contaminação por metais pesados na água, sedimento e organismos aquáticos do Rio Cubatão (SP). Relatório Técnico CETESB. 28 p. mais anexos. 1989
- CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Sistema Estuarina de Santos e São Vicente. Relatório Técnico, 2001.177p.
- CETESB (São Paulo). Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2013 [recurso eletrônico]. Relatório Técnico CETESB. São Paulo: CETESB, 2014. 434p.
- CONAMA – CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA nº 20,18 de junho de 1986: publicada no D.O.U. de 30/07/86. In: Resoluções CONAMA 1984-1986. Brasília, SEMA, p. 72-89. 1986
- COSTA, R.H.R et al. Pós-tratamento de efluente anaeróbio utilizando leito fluidizado trifásico aeróbio. In: Finep. Pós-tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios. Belo Horizonte: (prosab), p. 153-164, 2001.
- KYAW, C. M. Biofilme Microbianos – UNB. Disponível em: <<http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/biofilme/biofilme.html>>. Acesso em: 25 ago. de 2014.
- MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. Microbiologia ambiental. 2. ed. rev. e ampl. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008.
- PARREIRA, C. N. Avaliação da hidrodinâmica e da poluição no canal de Piaçaguera, no estuário de Santos- São Vicente (SP), a partir de informações ambientais e modelagem numérica. 2012. 176 f. Dissertação (Mestrado) - USP, São Paulo, 2012.
- SAYER, J. A.; GADD, G. M. Binding of cobalt and zinc by organic acids and culture filtrates of *Aspergillus niger* grown in the absence or presence of insoluble cobalt or zinc phosphate. *Mycological Research*, Cambridge, v. 105, p.1261–1267, Nov. 2001.
- SCHNEIDER, R. P. Biofilmes Microbianos. *Microbiologia em Foco*. n 2, vol 1, p 4 – 12. 2007.
- SINGH, HARBHAJAN. *Mycoremediation: fungal bioremediation*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.617p. 2006.
- SPROCATI, A. ET AL., Investigating heavy metals resistance, bioaccumulation and metabolic profile of a metallophile microbial consortium native to an abandoned mine. *Science of the total environment*. v.366, p. 649–658, 2006.
- VIDALI, M. Bioremediation. *Overview Pure Appl. Chem*, v. 73, n. 7, p. 1163-1172, 2001.
- XAVIER, J. B.; PICIOREANU, C.; ALMEIDA, J. S.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.
- Monitorização e modelação da estrutura de biofilmes. *Boletim de Biotecnologia*. n. 76, p. 2-13, 2003.
- ZINKEVICH, V. et al. Characterization of exopolymers produced by different isolates of marine sulphate-reducing bacteria. *International Biodeterioration Biodegradation*, Barking, v. 37, n. 3-4, p. 163–172, 1996.