

Artigo Técnico

**DESENVOLVIMENTO DE UM COMPLEXO BACTERIANO
PARA SER UTILIZADO COMO AUXILIAR NO
TRATAMENTO BIOLÓGICO DE EFLUENTE INDUSTRIAL**

Alessandra Thais Wanderley Santos¹

Sarah Vicente Chagas¹

Maria Mayara Wyrlla Santos David¹

Ellison Neves de Lima²

Av. Portugal, 584, Bairro Universitário- Caruaru - PE – Brasil

(81) 2103.2000 www.asc.es.edu.br

alessandra.thais51@gmail.com

Rua Manoel Tavares, 103, Pinheirópolis, Caruaru-PE - Brasil

¹ - Graduandas do curso de Bacharelado em Farmácia do Centro Universitário Tabosa de Almeida.

² - Docente do curso de Bacharelado em Farmácia do Centro Universitário Tabosa de Almeida.

RESUMO: O tratamento da água busca torná-la adequada para reutilização, não sendo necessariamente um sinônimo de água potável. Muitas vezes utilizando microrganismos, empregados no processo anaeróbio sendo eles as bactérias, a capacidade de uma bactéria anaeróbia decompor um substrato é bastante específica, dependendo principalmente das enzimas que possui. O devido trabalho buscou desenvolver um produto a base de bactérias das espécies: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus polymyxa*, para auxiliar no tratamento biológico de efluentes industriais. Nos testes realizados em laboratório foi desenvolvido um meio nutritivo, para ser observado o crescimento de cada bactéria. No processo de Inoculação foram produzidos três meios um composto por 0,4mL solução nutriente+ 200mL de meio líquido, sendo identificados como meio A B e C, para observar em qual meio o crescimento bacteriano é mais eficaz. Logo após a contagem de UFC/ml, resultando em um gráfico, que apresenta uma curva de crescimento onde foi utilizado como padrão para a produção do complexo bacteriano. No processo de produção o meio de crescimento com melhor resultado é colocado no reator com 25L onde contém 20L do meio mais 10% do Inóculo. Logo após com base nos resultados do gráfico relacionado com o crescimento das bactérias foi observado os estágios de crescimento bacteriano de acordo com o tempo, e assim dado início ao momento em que ocorreu a esporulação, o pH é ajustado para 5,5. Logo após duas horas o produto já pronto é envasado com os conservantes necessários para que não haja contaminações. O complexo bacteriano apresentou resultado positivo quando testado em três lavanderias diferentes da região.

Palavras-Chave Bacillus; águas residuais, tratamento biológico

ABSTRACT: Treatment of Water search makes it suitable for consumption, not being necessarily hum synonymous with drinking water. MANY times using microorganisms Employees In anaerobic process Being eels as bacteria, CAPACITY A anaerobic bacteria decompose hum the substrate is quite specific, depending mainly Enzyme Possessing. Proper work sought to develop a product of a base bacteria species: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* and *Bacillus polymyxa*, paragraph assist in the biological treatment of industrial effluents. Nos testes done IN Laboratory was developed hum nutritious medium, to be watched Growth of each bacteria. In the process of inoculation Were produced Three um Composite Media PER 0.4 mL nutrient solution + 200 ml of liquid medium, being identified as medium B and C, paragraph note on Wed Half Bacterial Growth and More Effective. Soon after the CFU / ml count, resulting in hum graph, which shows a growth curve Where was Used as a Standard for the Production of Bacterial complex. In the production process of the Growth Medium Top result is placed in the reactor with 25L 20L Contains Where do Meio More than 10% of the inoculum. Soon after results with the bases We Related Graph The Growth of the bacteria was observed OS Bacterial Growth Stages According to the time, and given the time SO Home que occurred sporulation, the pH is adjusted paragraph 5.5. Soon after two hours the PRODUCT already ready and packaged with OS Required preservatives so that no contamination. Bacterial complex was positive When Tested in Three Different laundries Region.

Keywords: Bacillus; residual waters; biological treatment

INTRODUÇÃO

O crescimento populacional e o aumento das atividades industriais vêm causando uma desordem e grandes problemas para o ambiente, podendo ser observados através de alterações na qualidade do solo, ar e água. Logo a contaminação das águas é um dos grandes problemas da sociedade moderna, sendo necessário um processo de tratamento para reutilização (KUNZ, 2002).

O tratamento da água busca torná-la adequada para o consumo, não sendo necessariamente um sinônimo de água potável. Apresentando parâmetros básicos que interferem na qualidade da água, tais como: temperatura, cor, turbidez, pH, alcalinidade, dureza, teor de matérias orgânicas e metais. (SANEAGO, 2006)

Observa-se que 10% de toda água consumida no meio urbano, seja destinada a operações de lavagem de roupas, o que torna importante o estudo deste tipo de efluente. Diante do problema da escassez de água, a legislação ambiental tem ficado mais rigorosa e o descarte de efluentes devem seguir um controle cada vez mais rígido de qualidade. (BUSS, 2015).

Segundo o CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2011) no caso de águas no processo de recuperação o lançamento de efluentes deverá seguir muitas obrigatoriedades disposta na resolução seja ela progressiva, intermediária e final. Já Freire et al (2000) afirma que existe um grande interesse tanto de ordem econômica quanto de ordem sanitária para que os efluentes industriais sejam submetidos a tratamentos adequados antes do seu lançamento em recursos hídricos. Sendo os tratamentos baseados em processos biológicos os mais utilizados, devido a sua facilidade no manuseio para grandes volumes.

Este processo se realiza através da estabilização biológica da matéria orgânica, o mecanismo envolvido na biodegradação é a respiração celular promovendo, a oxidação de compostos orgânicos quebrando moléculas complexas tornando-as mais simples e estáveis, sendo o oxigênio o principal receptor de elétrons levando a liberação de energia para manutenção e crescimento. (VAZOLLÉR, 1991)

Freire (2000) afirma que este processo opera com pouco substrato auxiliar, sendo capaz de remover a carga orgânica e toxicidade do efluente em reduzidos tempos de retenção hidráulica. Já Vazollér (1991) fala que a etapa de depuração biológica ocorre quando é introduzido o complexo de bactérias no efluente a ser tratado.

Os protozoários e micrometazoários como representantes da microbiota vão desempenhar o papel de bioindicadores do processo e podem ser identificados com facilidade, pois sofrem múltiplas influências como por exemplo, a natureza dos despejos, pH, demanda bioquímica de oxigênio (DBO) etc. (VAZOLLÉR, 1991).

As bactérias permanecem na sua maioria na fase endógena, pois nesta etapa ocorre a diminuição da biomassa, consequência da autooxidação, além de ocorrer a floculação bacteriana, separando assim a biomassa do efluente tratado. (CORDI, 2008).

Os compostos de origem microbiana exibem atividade superficial e produzem diferentes subprodutos e metabólitos, sendo relatados como produtores de vários biossurfactantes, que apresenta uma baixa toxicidade, assim possibilitando o uso nas indústrias alimentícias e de cosméticos, mas principalmente é utilizado para aplicações ambientais (BARROS, 2007)

Representantes do gênero *Bacillus* apresentam características fisiológicas abrangentes, são organismos capazes de crescer em condições extremas de temperatura, pH e salinidade. Na maioria das vezes são mesofílicos apesar de existir algumas espécies termofílicas, cuja suas características sofrem alterações de acordo com o ambiente no qual é isolado. São organismos produtores de catalase, formadores de ácido em meios com carboidratos, fazendo com que essa seja a principal diferenciação comparada a outros gêneros bacterianos. Sendo eles secretores de enzimas proteolíticas, são capazes de degradar a caseína e gelatina, algumas espécies produzem hemolisina e reduzem nitrato. (PAZ, 2005)

O *Bacillus subtilis*, é da família Bacillaceae, extremamente heterogêneo, tanto geneticamente quanto fenotipicamente, são bastonetes capsulados. Formam colônias irregulares consistência cremosa e de diâmetro entre 2 e 4 mm, sendo capazes de produzir pigmento amarelo, laranja, âmbar ou rosa, quando cultivado em meio especial (GOMES, 2013)

Barros (2007) afirma que o *Bacillus subtilis* produz um composto biologicamente ativo denominado surfactina, devido à sua grande atividade superficial é utilizada em tratamentos de resíduos de petróleo, além de ser de extrema importância no processo de tratamento de efluentes industriais

O *Bacillus licheniformis*, é formado por bacilos Gram positivos, não são capazes de deformar a célula, sendo eles desprovido de inclusões de poli-beta-hidroxibutirato. Quando cultivado em meio especial possuem um aspecto de líquen, são secas e aderentes a superfície do mesmo. (GOMES, 2003)

O *Bacillus polymyxa*, é uma bactéria gram positiva, mesófila que produz esporos ovais, com paredes grossas, caracterizado por produzir 2,3-butanodiol e acetoína, produzindo também acetato de etila, etanol e diacetil, sendo ainda fixadora de nitrogênio. (LUERCE, 2002)

O presente estudo tem como objetivo desenvolver um complexo bacteriano compostos pelas bactérias: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* e o *Bacillus polymyxa*.

MATERIAL E MÉTODO

O presente estudo foi realizado no Laboratório Bioenzima® localizado no município de Caruaru-PE, aonde o *Bacillus polymyxa* foi isolado do farelo de soja, já os *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* foram obtidos a partir da coleção de microrganismo da Universidade Federal de Pernambuco. Sendo um estudo do tipo descritivo experimental de laboratório. Os microrganismos foram isolados em placas de Petri, uma com o meio nutritivo e outra com o meio Plate Count. No meio nutritivo as bactérias cresceram rapidamente, já no Plate Count elas cresceram separadamente facilitando a observação das suas colônias para identificação das mesmas.

Pré-Inóculo

Para pré-inocular o meio com as bactérias foi desenvolvido um meio nutritivo com extrato de Carne 0,45g, peptona 0,75g, extrato de Levedura 0,75g, NaCl 0,75g, açúcar 0,30g e água destilada 150mL, esse meio foi distribuído em três frasco Erlenmeyer de 250mL, sendo 50mL em cada frasco Erlenmeyer, autoclavados durante 20min em uma temperatura de 120°C, quando o tempo previsto chegou ao fim, aguardou-se o esfriamento dos meios e na Capela a distribuição os microrganismos *B. subtilis*, *B. licheniformis* e *B. Polymyxa* foram feitas em cada frasco Erlenmeyer. Logo após esse procedimento, os frasco Erlenmeyer foram encaminhados para o incubadora rotatória onde ficaram durante 12 horas em uma velocidade de 200 rpm. Finalizado esse tempo, foi retirada uma amostra de cada frasco Erlenmeyer e observado o crescimento de cada bactéria.

Inóculo

Após o processo de pré-inóculo foram desenvolvidos três meios para observar em qual meio o crescimento bacteriano seria eficaz, identificados como meio A, meio B e meio C e em cada frasco Erlenmeyer foram adicionados 0,4mL de solução nutriente.

Tabela 1 – Composição de Meios de cultura para bactérias OBS: Em negrito micronutrientes

COMPONENTE	MEIO A	MEIO B	MEIO C
	g/L	g/L	g/L
Sacarose	20,00	6,00	-
Leite em Pó	-	-	6,00
Milhocina	-	6,00	6,00
Extrato de Levedura	0,66	-	-
Proteína de Soja	0,33	-	-
NH ₃ SO ₄	-	1,20	-
Mg(SO) ₄	0,40	0,12	0,40
KH ₂ PO ₄	0,40	0,80	0,40
NaCl	0,40	0,40	-
CaCl ₂	-	0,04	-
CaCo ₃	-	0,40	-
Mn(SO)₄	0,01	0,01	0,01
Zn(SO)₄	0,01	0,01	0,01
Fe(SO)₄	0,01	0,01	0,01

Todos os meios foram feitos para serem distribuídos entre três frasco Erlenmeyer de 500mL sendo 200mL de meio líquido em cada frasco Erlenmeyer e identificados com o tipo de bactéria que estaria presente no seu interior.

Cada meio disponibilizou três frascos Erlenmeyer dando um total de seis frasco Erlenmeyer que foram encaminhados para a autoclave e ficaram durante 20 minutos em uma temperatura de 120°C, quando o procedimento foi finalizado, com o frasco Erlenmeyer já frio, na capela foi feita a distribuição dos microrganismos nos seus respectivos locais. Sendo 1% das bactérias a partir do pré-inóculo. Após homogeneizar foi retirada uma amostra de cada frasco Erlenmeyer para ser feito o ponto inicial da curva de crescimento bacteriano. Os frascos Erlenmeyer foram encaminhados para o incubadora rotatória onde ficaram por 12 horas a 250rpm, e após 6 horas começou a ser feita uma série de retiradas de amostras, com intervalos de uma em uma hora. Cada amostra foi colocada em um recipiente de vidro vedado com tampa para não haver contaminações, sendo encaminhadas para a geladeira onde ficaram durante 24 horas.

Após esse tempo, todas as amostras foram diluídas de 10 em 10, a primeira contendo 1 ml da amostra, mais 9 ml de água peptonada, assim por diante até chegar em 10⁻⁸, sendo selecionadas as diluições em que apresentaram a melhor eficácia para o resultado. A água peptonada foi feita com peptona de carne 10g/L, NaCl 5g/L, água destilada 1L e o pH precisa está entre 7,0 e 7,4, sendo autoclavada durante 15 minutos em uma temperatura de 120°C. Assim que selecionadas, as diluições foram distribuídas 0,1 ml em placas de Petri identificadas com o tipo de diluição no meio Plate Count, e encaminhadas para a estufa onde ficaram durante 24 horas a uma temperatura de 37 graus.

Logo após as amostras foram submetidas a leituras de absorvância no espectrofotômetro (INCA TECNOGIA), as informações referentes à capacidade do composto em absorver luz. A representação gráfica dos valores de comprimento de onda (λ) *versus* absorvância é denominada espectro de absorção. Assim ao observar os gráficos, notou-se que o meio B teve maior destaque em relação ao crescimento das bactérias, os procedimentos citados anteriormente foram todos realizados novamente, apenas com o meio B.

Quando houve o início da esporulação, a entrada de ar que existe no reator foi fechada e foi adicionado o ácido cítrico para que o pH baixasse para 5,5 e a bactérias esporularam em 2 horas. Logo após, o reator foi desligado e o produto foi envasado com os conservantes necessários para que não houvesse contaminações. Os conservantes utilizados foram: glicerol

4%, polietilenoglicol 1%, nonilfenol etoxilato 1%, benzoato de sódio 0,5% e sorbato de potássio 0,5%.

Controle de Qualidade

Temperatura

Com o termômetro de Mercúrio com precisão de 01°C, imergiu-se até completa imersão do bulbo, logo após aguardou a estabilização e deslocamento do Mercúrio onde deu-se os resultados apresentado nas tabelas 11 e 12.

pH

Para medir o pH foi necessário o uso do pHâmetro (HANNA), com água destilada o eletrodo foi lavado e logo após secado cuidadosamente com papel absorvente. Imergiu-se o eletrodo na amostra onde aguardou-se a estabilização dando os resultados apresentados nas tabelas 11 e 12.

DQO

Foi selecionado um tubo digestivo conforme descrição na Tabela 02.

Tabela 2 – Concentração dos reagentes versus dimensões do tubo de digestão (DQO)

Tubo de Digestão	Amostra (mL)	Solução de digestão	Reagente de ácido sulfúrico (mL)	Volume Total (mL)
16x100mm	2,5	1,5	3,5	7,5
20x150mm	5,0	3,0	7,0	15,0
25x150mm	10,0	6,0	14,0	30,0
Ampola padrão de 10mL	2,5	1,5	3,5	7,5

Foi feito a curva de calibração, usando a solução padrão conforme descrito na tabela 03 logo a baixo.

Tabela 3–Volume de solução Padrão a completar para 100(mL) (Absorbância)

0,0 (Branco)	0,0
50,0	10,0
100,0	20,0
200,0	40,0
300,0	60,0
400,0	80,0
500,0	*Solução Estoque (100mL)

***Solução de Biftalato de Potássio**

Fez-se uma prova em Branco, adicionando água destilada no lugar da amostra e foi executado o mesmo procedimento descrito para a amostra. O Branco foi utilizado para “zerar” o espectrofotômetro (BEL photonics).

Na capela foram executadas as seguintes etapas: Colocou-se nos tubos, 1,5mL da solução de digestão, logo depois foi adicionado 2,5mL de amostra de água residuária e depois adicionado 3,5mL de reagente ácido sulfúrico. Foi fechado os tubos agitados várias vezes para uma devida homogeneização. Logo após foi colocado os tubos no bloco digestor (Tecnal) para fazer a digestão da amostra a 150°C por 2 horas. Depois foi retirado os tubos do bloco, esfriado, agitado e deixou sedimentar a amostra. Após todo processo o espectrofotômetro foi ajustado o seu comprimento de onda para 600nm e zerado com a prova em Branco, logo depois foram realizadas as leituras das amostras, calculado o valor obtido no equipamento usando a equação de regressão e foi expresso o resultado em mgO₂/L de DQO.

DBO

Calculou-se as três diluições necessárias de cada amostra em função da DQO e faixas de diluição conforme o tipo de efluente/afluente, conforme valores abaixo:

- 0 a 1% - Despejos com carga razoavelmente alta e efluente industrial bruto,
- 1 a 5% - Despejos domésticos e efluentes industriais sedimentado (após tratamento primário),
- 5 a 25% - Efluentes oxidados e efluentes tratados por tratamento biológico,
- 25 a 100% - águas de rios pouco poluídas.

Cada uma das diluições obtidas foi preparada em balão volumétrico de 1000 ml, sendo 10 ml da amostra diluídos em 1000ml com água de diluição, que teve volume necessário de 1,050L para cada amostra sendo 350 ml para cada diluição.

Para cada diluição encheu-se dois frascos de DBO, um para a leitura do Oxigênio Dissolvido inicial, tempo 0, e o outro que foi encubado durante 5 dias em uma estufa incubadora (Qimis) à 20°C.

Com a ajuda do oxímetro (Digmed) foi realizada a leitura de OD inicial, onde foi inserido um ímã no interior do frasco que estava em cima do agitador magnético (Gostirrer) possibilitando a agitação da diluição e logo depois o eletrodo foi introduzido no frasco de DBO aguardando-se alguns segundos para que o oxímetro compensasse as variações de temperatura dando o resultado de forma direta. Após 5 dias o processo foi realizado novamente para colher o resultado do OD final.

Com os resultados obtidos foi realizado o seguinte cálculo:

$$\text{DBO (mg O}_2\text{/l)} = (\text{OD}_i - \text{OD}_f) \times 100$$

% de diluição

Onde: OD_i = concentração de O₂ dissolvido inicial

OD_f = concentração de O₂ dissolvido após 5 dias

% de diluição = diluição prévia da amostra

Determinação de Sólidos Suspensos

O filtro de fibra de vidro (WHATMAN GF/C), foi calcinado em forno mufla, durante uma hora a $550\pm 50^{\circ}\text{C}$, foi resfriado no dessecador e pesado em balança analítica 0,1mg. Logo depois foi colocado o filtro no suporte apropriado (Milipore), e conectado ao kitassato e ao sistema de vácuo, foi filtrado uma quantidade da amostra conhecida, homogeneizada, aplicando o vácuo. Foi anotado o volume filtrado e logo depois lavado o filtro três vezes com 10mL de água destilada.

O filtro foi seco em estufa por uma hora a $103-105^{\circ}\text{C}$, logo depois esfriado no dessecador e pesado em balança analítica 0,1mg. Assim foi determinado o valor de SST em mg conforme a equação: $\text{SST (mg/L)} = (\text{Pff-Pif}) * 1000$

*Pff= peso final do filtro em g. *Pif= Peso Inicial do filtro em g *=Volume da amostra em Litro

Sólidos sedimentáveis

Após ser bem agitada, a amostra foi despejada no cone de imhoff (Vitalab) até a marca de 1L, onde ficou cerca de 45 minutos, logo após esse tempo foi possível observar a quantidade de partículas contida nas amostras de efluente e na amostra da afluenta realizou-se a leitura de acordo com a graduação do cone Imhoff.

Óleos e Graxas

Foi conectado o funil Buckner no kitassato de 2 litro, logo depois foi preparado o filtro de papel de musseline, colocado no funil sobre o papel foi colocado água destilada para umedece-lo. Após todo sistema a vácuo montado foi colocado para passar pelo funil de Buckner 100mL de suspensão auxiliar de filtração* e em seguida os filtros foram lavados com 1 litro de água destilada. O vácuo foi aplicado até esgotar a água do filtro. Logo depois foi colocado um volume de amostra representativa em becker acidifica-los na proporção de $1\text{MI}^{**}/800\text{mL}$, em seguida foi filtrado a amostra aplicando o vácuo. Logo em seguida com uma pinça o filtro foi enrolado e transferido para um cartucho de celulose. Foi adicionado pedaços de papel umedecido com solvente (n-hexano) para auxiliar na coleta do material sólido, logo depois todos os pedaços de papel foram colocados no cartucho que logo foram tampados e colocados em um Becker de 100mL. Foi seco o conjunto a 105°C por 30 minutos. Logo depois o cartucho foi encaixado no circuito do determinador de gordura (Tecnal temperatura). Foi adicionado 120 mL de n-hexano em copinhos de vidros que já haviam sido destilados e pesados no início de todo processo, o sistema foi fechado e o determinador de gordura foi programado para alcançar uma temperatura de 110°C . Durante o processo o cartucho foi mergulhado durante 30 minutos a temperatura de 110°C , logo depois foi suspenso e o sistema ficou aberto por 1 hora e 30 minutos, após esse tempo o sistema foi fechado novamente até alcançar a temperatura de 135°C . Ao atingir essa temperatura esses copinhos foram retirados e levados para a Mulfla (EDG equipamentos) a 105°C , por 30 minutos. Foram colocados no dessecador até atingir a temperatura ambiente e depois pesado em balança analítica. No fim do processo foi realizado um cálculo final;

$$\text{Mg de óleo e graxas/L} = (\text{A-B}) \times 1,000 / \text{V}$$

A= peso do copinho após a destilação da amostra em gramas

B= peso do copinho em gramas

V= volume da amostra em litros

*Suspensão de Sílica concentração 10g/L em água destilada, utilizada para auxiliar filtração

** Ácido clorídrico concentrado 1mL do ácido para cada 80mL da amostra

RESULTADO E DISCUSSÃO

Figura 1 – Curva de crescimento de *B. subtilis* com composição de nutrientes do Meio A

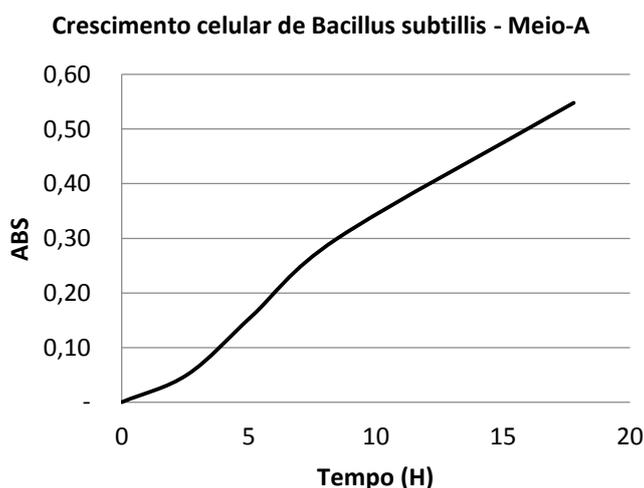


Tabela 2 – Comportamento da Absorbância a 540 nm do crescimento de *B. subtilis* no Meio A

Tempo	0	2,6	5,13	8,46	17,79
ABS	-	0,05	0,16	0,30	0,55

Figura 2 – Curva de crescimento de *B. subtilis* com composição de nutrientes do Meio B

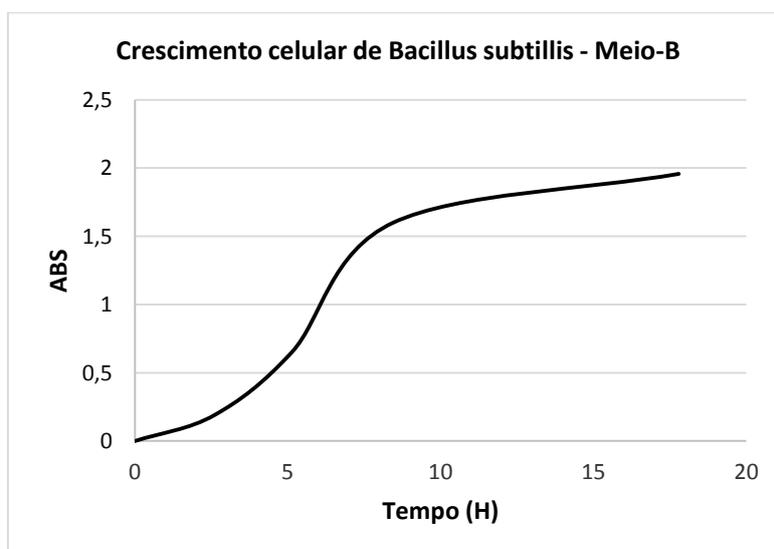


Tabela 3 – Comportamento da Absorbância a 540 nm do crescimento de *B. subtilis* no Meio B

Tempo	0	2,6	5,13	8,46	17,79
ABS	0	0,190	0,650	1,601	1,957

Figura 3 – Curva de crescimento de *B. subtilis* com composição de nutrientes do Meio C

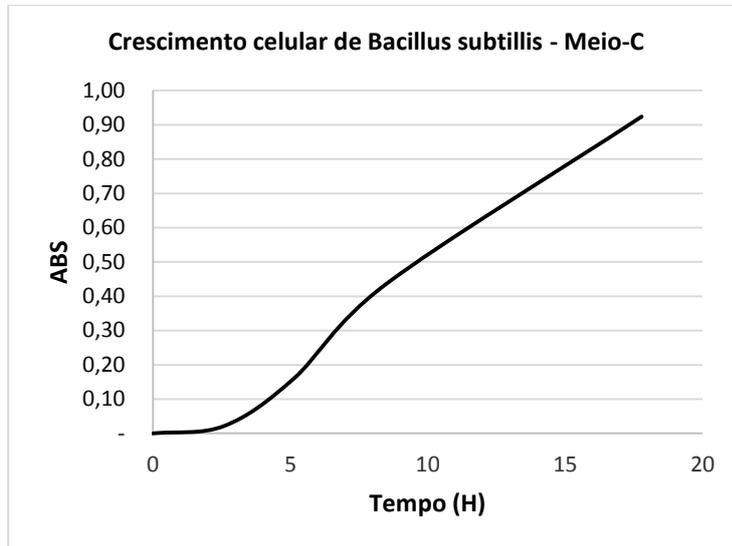


Tabela 4 – Comportamento da Absorbância a 540 nm do crescimento de *B. subtilis* no meio C

Tempo	0	2,6	5,13	8,46	17,79
ABS	-	0,02	0,16	0,43	0,92

Curva de *B. licheniformis* com composição de nutrientes do Meio A

Figura 4 – crescimento de

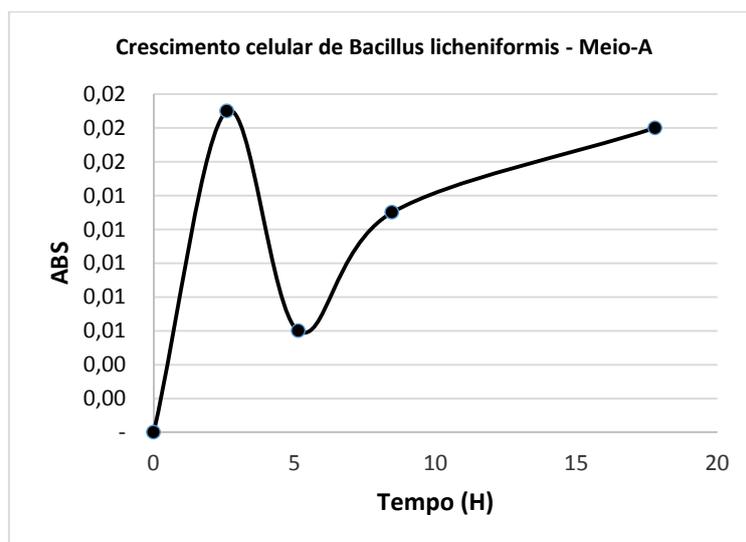


Tabela 5 – Comportamento da Absorbância a 540 nm do crescimento de *B. licheniformis* no Meio A

Tempo	0	2,6	5,13	8,46	17,79
ABS	-	0,02	0,01	0,01	0,02

Figura 5 – Curva de crescimento de *B. licheniformis* com composição de nutrientes do Meio B

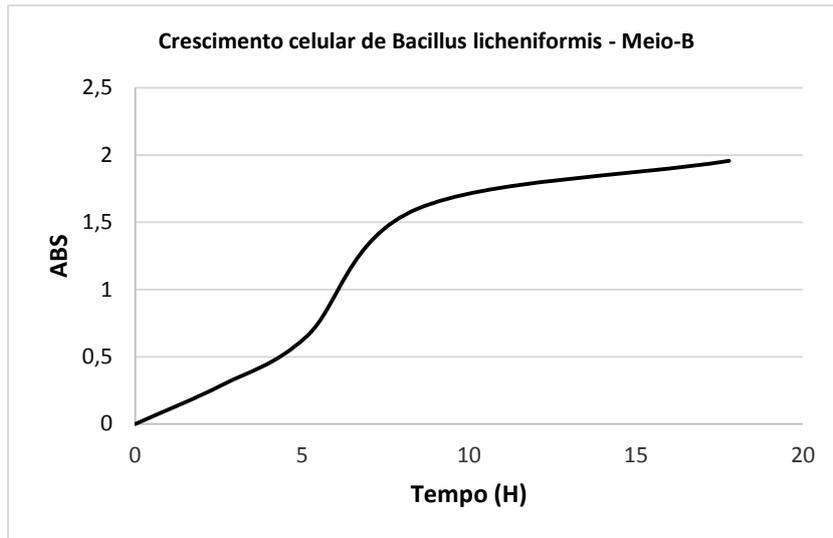


Tabela 6 – Comportamento da Absorbância a 540 nm do crescimento de *B. licheniformis* no Meio B

Tempo	0	2,6	5,13	8,46	17,79
ABS	0	0,290	0,650	1,601	1,957

Figura 6 – Curva de crescimento de *B. licheniformis* com composição de nutrientes do Meio C

Curva de crescimento de

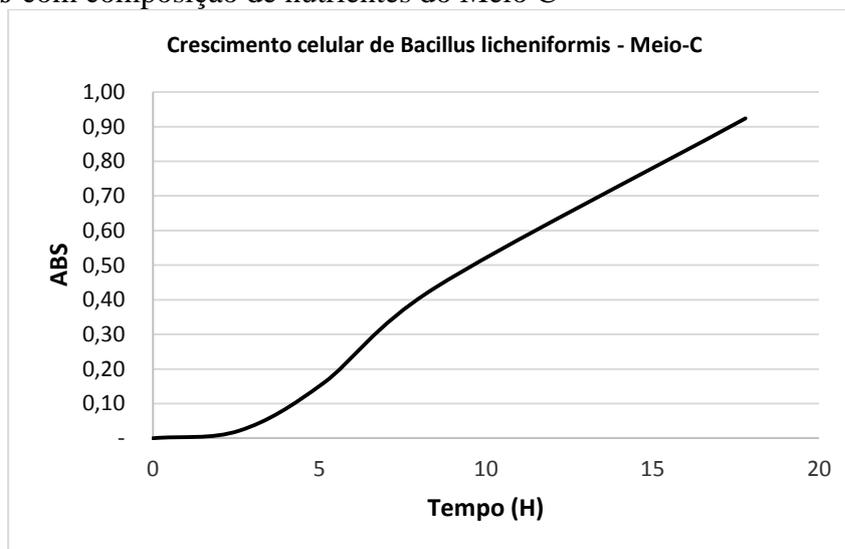


Tabela 7 – Comportamento da Absorbância a 540 nm do crescimento de *B. licheniformis* no Meio C

Tempo	0	2,6	5,13	8,46	17,79
ABS	-	0,02	0,16	0,43	0,92

Figura 7 – Curva de crescimento de *B. polymixya* com composição de nutrientes do Meio A

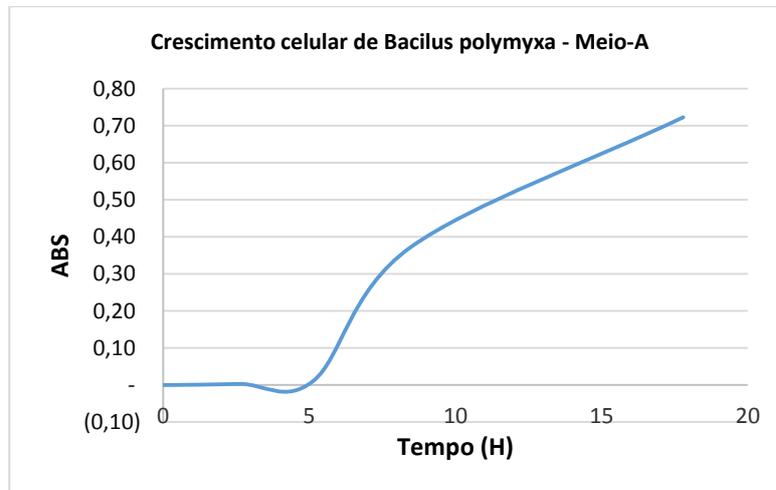


Tabela 8 – Comportamento da Absorbância a 540 nm do crescimento de *B.polimixya* no Meio A

Tempo	0	2,6	5,13	8,46	17,79
ABS	-	0,00	0,01	0,37	0,72

Figura 8 –
crescimento de
com composição de nutrientes do Meio B

Curva de
B. polymixya

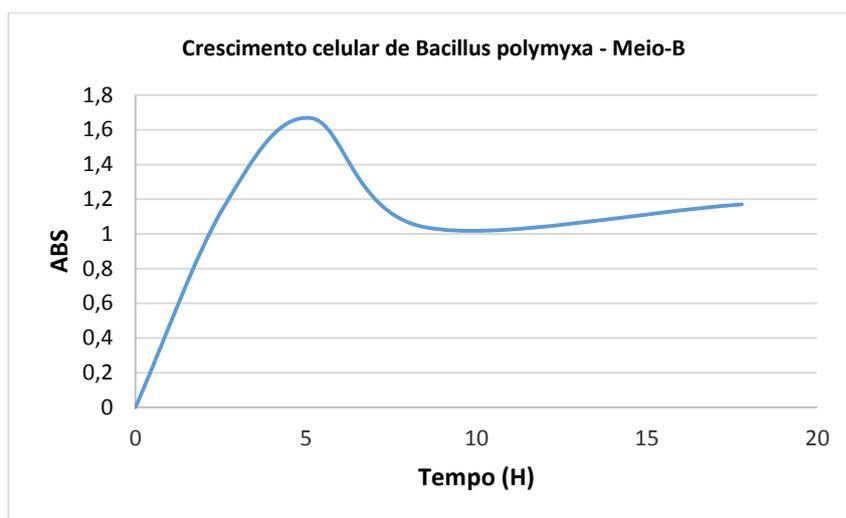


Tabela 9 -Comportamento da Absorbância a 540 nm do crescimento de *B.polimixya* no Meio B

Tempo	0	2,6	5,13	8,46	17,79
ABS	0	1,157	1,68	1,040	1,170

Figura 9– Curva de crescimento de *B. polimixya* com composição de nutrientes do Meio C

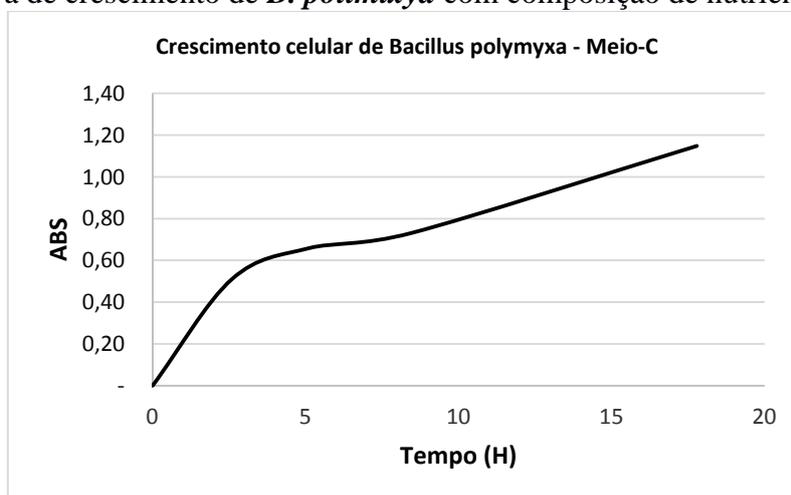


Tabela 10 – Comportamento da Absorbância a 540 nm do crescimento de *B.polimixya* no Meio C

Tempo	0	2,6	5,13	8,46	17,79
ABS	-	0,51	0,66	0,73	1,15

Os meios de cultura foram compostos de diferentes fontes de carbono e nitrogênio, para avaliar o efeito de cada um deles no crescimento celular de Bacillus sp. até atingir a esporulação. O crescimento

bacteriano é composto de quatro fases onde cada uma delas determina a estabilidade de crescimento do microrganismo.

Segundo, Torota (2012), existem quatro fases de crescimento bacteriano: a fase lag, a fase log, a fase estacionária e a fase de morte. Na fase log, o crescimento é mais ativo atingindo um tempo de geração constante. A fase log é o momento de maior atividade metabólica sendo o preferido para fins industriais, já que o produto precisa ser produzido de maneira eficiente. Considerou-se que a fase log, ou exponencial, ocorreu no intervalo inicial de tempo de 14 horas. Passado este período a concentração celular permaneceu constante devido à aglomeração das células, o que impossibilita a medida por turbidimetria.

O crescimento celular do *B. subtilis*, apresentado na tabela 2 e figura 1, representando o Meio A, demonstrou que o pico de crescimento exponencial, ou seja, fase log, se prolonga após o tempo de 17,79 horas, apresentando uma ABS de 0,55. O crescimento celular, do Meio B, representada pela figura 2 e tabela 3, apresentou uma diminuição da fase log no tempo de 8,46 horas, com ABS de 0,43. Em função da tendência da curva, do gráfico 2, pode-se verificar a realização das quatro fases, acima descritas. A figura 3, que plota os dados da tabela 4, representa os resultados de crescimento do Meio C, demonstra uma tendência de crescimento onde pode-se verificar a fase lag, seguida da fase log, sem a estabilização. Os valores de ABS de 0,92 no tempo de 17,79 horas tendem a continuar. Analisando a tendências do crescimento celular para os três meios de cultura, verificou-se que o meio B foi o que melhor apresentou estabilidade no crescimento celular para o *Bacillus subtilis*, requerendo menor tempo de cultivo. Desta maneira, o Meio B foi escolhido para realização da produção industrial e elaboração do produto comercial.

A figura 4, representada pelos dados da tabela 5, do Meio A, demonstrou uma tendência de instabilidade, onde apresenta apenas fase exponencial, do *B. licheniformis*, depois cai bruscamente e sobe em seguida, demonstrando uma anormalidade no crescimento do *Bacillus licheniformis*. Fato este verificado pela baixa ABS que não passa de 0,01.

O crescimento do meio B do *Bacillus licheniformis*, representado pela figura 5 e tabela 6, mostra uma fase lag rápida e um crescimento exponencial bem estável, terminando com a fase log e em seguida o início da fase estacionária que ainda apresenta uma tendência de estabilização. Verificou-se, ao término da fase exponencial, uma ABS de 1,60 no tempo de 8,46 horas.

A figura 6 e tabela 7, representam os resultados do crescimento celular do *B. licheniformis*, no meio C. verificou-se que houve a fase lag e em seguida a exponencial que apresentou tendência de crescimento na sequência, sem apresentar a fase estacionária. Verificou-se no tempo de 17,79 horas uma ABS de 0,92. Em função dos resultados apresentados que levam a tendência de crescimento do *Bacillus licheniformis*, verificou-se que o meio B foi o que apresentou menor tempo de crescimento exponencial e maior estabilidade.

A curva de crescimento celular, apresentada pela figura 7 e tabela 8, do meio A, mostraram uma tendência bastante lenta e instável do *Bacillus polymixya*, na fase lag, seguindo com a fase exponencial sem definição do seu término para entrar na fase estacionária. O valor de ABS de 0,72, no tempo de 17,79, ainda apresentava uma tendência de crescimento.

O meio B, representado pelo crescimento celular da figura 8 e tabela 9, mostraram uma tendência exponencial, do *Bacillus polymixya*, bastante intensa, onde em um tempo de 5,13 horas apresentou uma ABS de 1,68. Em seguida cai bruscamente e depois se estabiliza.

Da mesma forma que o meio A o meio C, representado pela figura 9 e tabela 10, possuem praticamente a mesma tendência, onde a fase exponencial segue sem apresentar a fase estacionária.

Verificou-se que para o *Bacillus polimixya*, o meio B, assim como nos outros bacilos apresenta uma melhor tendência no crescimento celular. Este fato pode estar relacionado, como sendo, as fontes de carbono da sacarose e a de nitrogênio da milhocina, propiciou a adaptação destas bactérias e, como consequência resultou na melhor estabilidade das suas funções metabólicas.

Abaixo são apresentados os resultados da análise do efluente realizado após utilização do complexo bacteriano.

Tabela 11- Resultados da amostra da entrada do efluente bruto na estação de tratamento da lavanderia têxtil.

Parâmetros	Resultados	Unidade	Método
Temperatura:	25,50	°C	SMEWW 2550 B
pH	6,60	-	SMEWW 4500-H+B
D.Q.O.	919,58	mgO ₂ /L	SMEWW 5220 D
D.B.O.	613,09	mgO ₂ / L	SMEWW 5210 B
Sólidos Suspensos Totais	73,33	mg/L	SMEWW 2540 D
Sólidos Sedimentáveis	6,00	mL/L	SMEWW 2540 F
Óleos e Graxas Totais	70,00	mg/L	SMEWW 5520D

Tabela 12 - Resultados da amostra da saída do efluente após o tratamento biológico na estação de tratamento da lavanderia têxtil.

Parâmetros	Resultados	Unidade	VMR	Método
Temperatura:	24,50	°C	< 40	SMEWW 2550 B
pH	7,60	-	5,0 a 9,0	SMEWW 4500-H+B
D.Q.O.	169,84	mgO ₂ /L	≥ 80%	SMEWW 5220 D
D.B.O.	56,53	mgO ₂ / L	≥ 70%	SMEWW 5210 B
Sólidos Suspensos Totais	14,00	mg/L	N.A	SMEWW 2540 D
Sólidos Sedimentáveis	≤0,10	mL/L	≤ 1,0	SMEWW 2540 F
Óleos e Graxas	26,00	mg/L	≤ 70	SMEWW 5520D
Óleos e Graxas Mineral	10,00	mg/L	≤ 20	SMEWW 5520F

Óleo e Graxa Vegetal e Animal	16,00	mg/L	≤ 50	SMEWW 5520F
-------------------------------	-------	------	------	-------------

A tabela 12 mostra que os parâmetros: Temperatura, pH, Sólidos Suspensos Totais, Sólidos Sedimentáveis, óleos e graxas mineral e vegetal, apresentaram resultados estabelecidos pela legislação. Para os valores de cargas orgânicas biodegradáveis em forma de DBO e não biodegradáveis de DQO, os resultados são apresentadas abaixo. A análise técnica nas reduções de cargas orgânicas, conforme CPRH, são enquadradas conforme **Norma Técnica** – Controle de carga orgânica em efluente líquido industriais – CPRH 2.001, versão revisada e atualizada em 03/11/03. Esta norma define as reduções para indústria Têxteis ou lavanderias, conforme tabelas abaixo:

Tabela 13 – Faixa de redução de DQO para indústria têxtil

PARÂMETRO	REDUÇÃO
DQO	≥ 80

Tabela 14 – faixa de redução de DBO em função do volume de carga orgânica gerada.

PARÂMETRO	CONDIÇÃO	REDUÇÃO
DBO	Cargas ≥ 100kg/dia	≥ 90 %
DBO	Cargas < 100kg/dia	≥ 70 %

Em função dos resultados de reduções de cargas orgânicas, apresentadas na Tabela 15, e enquadradas conforme Tabelas 13 e 14, verifica-se que o complexo de bactéria apresentou resultados satisfatórios, como agente auxiliar na metabolização da matéria orgânica, e com isto redução nas suas cargas, levando-as a níveis estabelecidos pela legislação.

Tabela 15 – Tabela de redução das cargas orgânica do efluente têxtil

PARÂMETRO	EFLUENTE	AFLUENTE	REDUÇÃO
DQO	919,58	164,84	82,00
DBO	613,09	56,53	90,78

CONCLUSÃO

Em função dos resultados acima apresentados, o meio B foi o que apresentou melhor estabilidade no crescimento celular, portanto, foi escolhido para realização da produção do complexo de bactéria para o produto final.

Verificou-se ainda que o resultado da análise do efluente, após a utilização do complexo bacteriano, apresentou significativas reduções nas cargas orgânicas de DBO e DQO, conforme apresentado na tabela 15.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório Bioenzima® pela disponibilização do seu espaço físico para a realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Resolução nº 430 de 13 de maio de 2011. **Condições e padrões de lançamento de efluentes**. CONAMA, Brasília, DF.

BARROS FC, QUADROS CP, MARÓSTICA-JUNIOR MR, PASTORE GM. **Propriedades químicas, tecnológicas e funcionais para aplicações em alimentos**. Quim. Nova, Campinas- SP. v.30. 409-414, 2007.

BUSS MV, RIBEIRO EF, SCHNEIDER IAH, MENEZES JCSS. **Tratamento dos efluentes de uma lavanderia industrial: Avaliação da capacidade de diferentes processos de tratamento**. Revista de Engenharia Civil IMED, 2(1): 2-10, ISSN 2358-6508, 2015.

CORDI L, ASSALIN MRE, DIEZ MC, DURÁN N. **Montagem, partida e operação de um sistema de lodos ativados**. Engenharia Ambiental. Espírito Santo do Pinhal-SP. V. 5097-115, 2008.

FREIRE SR, PELEGREINI R, KUBOTA LT, DURÁN N, ZAMORA PP. **Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas**. Quim. Nova. Paraná. v. 23, 2000.

GOMES, A.M.A. **Cultura de alface: produção de mudas utilizando *Bacillus spp.*, escala diagramática para cercosporiose e levantamento da doença em Pernambuco** 2003. 100 f. Tese (Pós-graduação em Fitossanidade) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

KUNZ A, ZAMORA PP, MORAES SG, DURÁN N. **Novas Tendências no Tratamento de efluentes têxteis**. Quim. Nova. Paraná. v. 25: 78-82, 2002.

LUERCE, R. F. **Produção de Acetoína por *Bacillus polymyxa***. 2002. 83 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina. FURG, Santa Catarina.

PAZ, M. C. F. **Identificação e Caracterização de *Bacillus licheniformis* e *Geobacillus stearothermophilus*. Produção de Biossurfactantes e degradação do dibenzotiofeno (DBT) por uma nova amostra de *G.stearothermophilus* UCP 986**. 2005. 152 f. Tese (Doutorada em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco. UFPE, Recife-PE.

PEREIRA RS. **Identificação e caracterização das fontes de poluição em sistemas hídricos**. Revista eletrônica de Recursos Hídricos. IPH-UFRGS. v.1:20-36.2004

SANEAGO. **Manual Operação de estação de tratamento de água**.1. ed. Goiás-Go, 2006.150 p.

SILVA MVA, BRITO DJM, BRANCO DKS, FERREIRA MO. **A questão ambiental no polo de confecções de Caruaru: Um primeiro ensaio à luz dos instrumentos econômicos de proteção ambiental.** IX ENCONTRO NACIONAL DA ECOECO. Brasília-DF, 2011.

TAVARES, L. L. P.; Amanda de Araújo Alencar; VILAR JÚNIOR, J.C. ; SILVA, M.A. ; ANTUNES, A. A. ; CAMPOS TAKAKI, G.M. ; ALVES DA SILVA, C.A. . **Produção de lipase por *Bacillus licheniformis* (UCP 1014) a partir de meios a base de resíduo da indústria de sorvete.** In: A Mendez-Vilas. (Org.). *Microbes in Applied Research: Current Advances and Challenges*. 1ed.Torremolinos: World Scientific, 2012, v. , p. 392-396.

TORTORA, G. J., FUNKE, B. R., CASE, L. C. **Microbiologia** – 10. Edição – Porto Alegre: Artmed, 2012.

VAZOLLÉR RF, GARCÍA MLAR, GARCIA AD, COENCEIÇÃO JD. **Microbiologia de lodos ativados.** Séries Manuais CETESB-Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. São Paulo. V.5, 1991.

VARESCHE, M. B. A.; ZAIAT, M. ; SILVA, D. ; MODOLO, M. . **Tratamento de águas residuárias com alta concentração de lipídeos em sistema de reatores combinados enzimático/biológico.** In: VII Taller y Simposio Latinoamericano sobre Digestión Anaerobia, 2002, Mérida - Yucatán - México. *Memorias/Proceedings/Posters VII Taller y Simposio Latinoamericano sobre digestión Anaerobia*, 2002. v. 2. p. 305-308.