

II-207 – ADAPTAÇÃO AO CROMO HEXAVALENTE DE CULTURA MISTA DE MICRO-ORGANISMOS

Alex Anderson de Oliveira Moura⁽¹⁾

Engenheiro Químico pela universidade Federal de Uberlândia. Mestrando em Engenharia Química pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

Nattácia Rodrigues Araújo Felipe Rocha⁽¹⁾

Química pelo Instituto Luterano de Ensino Superior de Itumbiara-GO- ILES-ULBRA. Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Uberlândia(UFU). Doutoranda em Engenharia Química pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

Michel Dornelas Marques⁽¹⁾

Graduando da Engenharia Química pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

Miriam Maria de Resende⁽¹⁾

Engenheira Química pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Mestre e Doutora em Engenharia Química pela Universidade Federal de São Carlos (DEQ/UFSCar). Atualmente é professora Adjunta IV pela Faculdade de Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia (FEQ/UFU).

Vicelma Luiz Cardoso⁽¹⁾

Engenheira Química pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Mestre e Doutora em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Campinas (FEQ/UNICAMP). Atualmente é professora Associada III pela Faculdade de Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia (FEQ/UFU). Tem experiência na área de Engenharia Química, com ênfase em Processos Bioquímicos.

Endereço⁽¹⁾: João Naves de Ávila, 2121 - Santa Mônica - Uberlândia - MG – CEP: 38408-100 - Brasil - Tel: (34) 3239-4411 - e-mail: moura.alex.ufu@gmail.com

RESUMO

O cromo hexavalente é um resíduo de variados processos industriais que despejam todo ano uma enorme quantidade de cromo no meio ambiente. O cromo é encontrado apenas de forma estável em dois estados de valência, cromo VI e o cromo III. Encontra-se em diversas referências indícios dos efeitos cancerígenos como também tóxicos do cromo VI, entretanto os íons cromo III não parecem ter implicações tóxicas diretamente, contudo acredita-se que dependendo de alguns parâmetros característicos pode haver a oxidação à cromo VI. O tratamento convencional desses efluentes é geralmente inviável devido ao enorme consumo de energia, baixa eficiência, elevado custo de implantação e manutenção. Tendo como um tratamento alternativo a utilização de populações bacterianas resistentes ao cromo. Este trabalho utiliza uma cultura mista obtida em um lodo coletado na AMCOA (Associação dos Manufaturadores de Couros e Afins do Distrito Industrial) na cidade de Franca - SP no estudo da redução biológica do cromo (VI) a cromo (III). Primeiramente analisou o comportamento dos micro-organismos em um meio de cultura por meio de repiques durante 30 dias. Após a adaptação dos micro-organismos foi acompanhado o comportamento dos mesmos com crescentes adições de cromo por meio de dicromato de potássio. Os resultados de adaptação dos micro-organismos se mostraram satisfatórios, alcançando uma redução de cromo VI de 99%.

PALAVRAS-CHAVE: Adaptação de micro-organismos, Redução Biológica, Cromo Hexavalente.

INTRODUÇÃO

Um dos maiores responsáveis pela degradação ambiental é a poluição química gerada por certas indústrias, que despejam todo ano uma enorme quantidade de efluentes ao meio ambiente. Esta poluição gera consequências catastróficas, e percebe-se certa negligência das indústrias em relação a essa problemática. Portanto, as pesquisas ambientais atualmente, objetivam a minimização de impactos ambientais indesejados e o desenvolvimento de tecnologias eficazes e com custos acessíveis.

O Cr VI é um efluente de inúmeros processos industriais, podendo ser citados, o efluente de curtumes, galvanoplastia e processos industriais que utilizam catalisador, que despejam uma grande quantidade de cromo, que sem tratamento esses efluentes passam ser um grande problema ambiental. O cromo é um dos metais pesados mais tóxicos descartados no ambiente por vários efluentes industriais. Os metais pesados diferem de outros agentes tóxicos porque não são sintetizados nem destruídos pelo homem, bem como a

produção de novos compostos, além de alterar a distribuição desses elementos no planeta, objetivando pesquisas na área ambiental para ser eliminados do ambiente através de tratamentos específicos.

O cromo é encontrado em nove estados de valência, variando desde -2 até +6. Desses estados, somente o Cr (VI) e o Cr (III) estão presentes de forma estável no ambiente. Existem muitas referências sobre os efeitos cancerígenos como também tóxicos do cromo (VI), entretanto os íons Cr (III) não parecem ter implicações tóxicas diretamente, sendo em alguns casos, até necessário no metabolismo de alguns seres vivos (Dermou et al., 2007).

Efluentes produzidos por indústrias, que são lançados no meio ambiente são fiscalizados por órgãos ambientais que limitam de emissão de poluentes, fazendo com que cada vez mais as empresas encontrem soluções para tornar seus processos de tratamento mais eficazes, minimizando os impactos ambientais. Os limites máximos de lançamento de Cr (VI) e Cr (III) em rios são 0,1 mg/L e 1 mg/L, respectivamente (Resolução CONAMA nº 397, de 3 de abril de 2008). Entretanto, essa norma não é obedecida por grande parte das indústrias principalmente de curtumes o que provoca um grande impacto ambiental.

O tratamento convencional desses efluentes é geralmente inviável pelo grande consumo de energia, baixa eficiência, elevado custo de implantação e manutenção, utilização de grande quantidade de produtos químicos, e estes quando utilizados, requerem um posterior tratamento. Como tratamento alternativo tem-se o uso de populações bacterianas resistentes ao cromo, uma técnica econômica e eficiente (Dermou et al., 2005)

Muitas dessas bactérias são capazes de armazenar quantidades de cromo superiores àquelas presentes no meio em que estão inseridas, por biossorção na biomassa celular, por transporte ativo e precipitação, por exemplo.

A biorredução de Cr (VI) a Cr (III) por uma cultura mista bacteriana pode ser feita em condições aeróbicas e/ou anaeróbicas, sabendo-se que a maioria dos sistemas biológicos para tratamento de efluentes contendo Cr (VI) é operado em batelada (Wang et al., 1995). Dermou et al. (2005) foram os primeiros a reportar a redução biológica de Cr (VI) em uma planta piloto de filtro trickling usando cultura mista de microrganismos, originário de lodo industrial. Verificaram que a operação deste filtro com uma sequência reator batelada (SBR) com recirculação levou a altas reduções nas taxas de Cr (VI), prometendo assim uma possível solução tecnológica a um problema ambiental sério.

Os resultados obtidos por Dermou et al (2005) motivou a realização deste trabalho que teve por objetivo a seleção e a adaptação de bactérias originárias de um lodo coletado na AMCOA (Associação dos Manufaturadores de Couros e Afins do Distrito Industrial) na cidade de Franca – SP, para a utilização em estudos de redução biológica de cromo hexavalente.

MATERIAIS E MÉTODOS

ADAPTAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS

Para o desenvolvimento deste trabalho foi utilizada uma cultura mista, obtida a partir do lodo de uma indústria de curtume localizado na cidade de Franca, AMCOA- Associação dos Manufatores de Couros e Afins do Distrito Industrial de Franca/SP.

Na manutenção e o crescimento dos micro-organismos foi utilizado o meio de cultura apresentado na Tabela 1. O meio de cultura possibilitou a nutrição, o crescimento e a multiplicação dos micro-organismos.

Tabela 1. Componentes utilizados no meio.

Reagentes	[g/L]
NH ₄ Cl	1
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,001
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,001
CH ₃ COONa. 3H ₂ O	8,0
K ₂ HPO ₄	0,5
Extrato de levedura	8,0

Colocou-se 50 mL do lodo e 250 mL de meio de cultura em 8 erlenmeyers de 500 mL. Durante 30 dias foi realizada a adaptação ao meio de cultura e verificando simultaneamente o aumento do inóculo. Os erlenmeyers contendo o meio e a cultura mista eram colocados sob agitação de 170 rpm, a temperatura de $27^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas. Após este período as amostras foram centrifugadas numa rotação de 12500 rpm, com a temperatura em torno de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante 10 minutos. Em seguida o sobrenadante foi armazenado para posterior tratamento e o sólido transferido para um erlenmeyer contendo um novo meio de cultura. Para acompanhar o crescimento dos micro-organismos realizou-se a análise de Sólidos Voláteis em Suspensão (SSV), segundo APHA (2005).

Posteriormente, seguiu-se a adaptação dos micro-organismos adicionando diferentes concentrações de cromo. As concentrações de cromo (VI) estudadas foram de 30, 50, 75 e 100 mg/L, utilizando o $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (dicromato de potássio) como fonte de cromo hexavalente.

Os erlenmeyers com os meios contendo cromo foram incubados por agitação constante (170 rpm) em câmara de agitação a $27^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 48 horas. Após este período retiraram-se alíquotas de 30 mL que foram centrifugadas a 12.500 rpm por 10 min. Este procedimento permitiu a avaliação do sobrenadante em relação à concentração de cromo hexavalente e os sólidos quanto ao crescimento da biomassa. Estas análises foram realizadas em duplicata para garantir a confiabilidade dos resultados.

ANÁLISE DE SÓLIDOS VOLÁTEIS (SVS)

A análise de sólidos voláteis em suspensão permite conhecer o crescimento da biomassa por meio do cálculo da massa seca. Realizou-se a análise ao fim de cada ciclo de 48 h. Centrifugaram-se as amostras dos erlenmeyers, descartou-se o sobrenadante, e os sólidos lavados duas vezes com água destilada, e centrifugados após cada lavagem. Posteriormente, colocaram-se os micro-organismos em cadinhos pré-pesados na estufa por 24 horas. Na sequência, pesaram-se os cadinhos obtendo o peso 1.

Transferiram-se os cadinhos para a mufla a 550°C por 30 minutos e na sequência pesou-se novamente obtendo o peso 2. Conhecendo-se pesos 1 e 2 calculou-se a concentração de micro-organismos na amostra utilizando a Equação 1.

Sólidos voláteis em suspensão a 550°C

$$SVS[g/L] = \frac{P2 - P1}{V} \quad (1)$$

Sendo:

P2 = peso 2;

P1 = peso 1;

V = volume da amostra.

ANÁLISES DE CROMO HEXAVALENTE

As análises da presença de cromo (VI) nas amostras foram realizadas a partir de um determinado volume da amostra, o qual foi diluído de modo que a concentração ficasse dentro da faixa de leitura de absorbância da curva de calibração (< 400 microgramas por mililitro). O pH foi ajustado em uma faixa que variou de 1,8 a 2,2 adicionando ácido sulfúrico. Adicionava-se 2 mL de solução de difenilcarbazida. Esta solução de difenilcarbazida foi preparada pela adição de 125 mg de difenilcarbazida a 25 mL de acetona pura. Após alguns minutos, a amostra na presença da solução de difenilcarbazida passava a apresentar uma coloração rosa. Posteriormente, fez-se a leitura da absorbância a 540nm em espectrofotômetro Shimadzu UV-mini. Conhecendo-se o valor da absorbância e com a curva de calibração previamente calculada obteve-se o valor da concentração de cromo VI da amostra. A concentração de cromo hexavalente foi obtida por meio da Equação 2.

$$\text{Cr} = 1,320 * \text{Absorbância (em } \mu\text{g/L)} \quad (2)$$

RESULTADOS E DISCUSSÕES

ADAPTAÇÃO DA CULTURA MISTA

Após os 30 dias de adaptação dos micro-organismos ao meio de cultura começou a aclimação dos micro-organismos ao Cr (VI), ocorrendo assim a seleção de micro-organismos resistentes ao cromo hexavalente. Esta aclimação ao cromo hexavalente da cultura mista, foi acompanhada pela medida do crescimento celular pela medida dos sólidos voláteis solúveis. Na Figura 1 estão apresentados os dados de SSV em relação à adaptação ao Cr (VI) durante 30 dias.

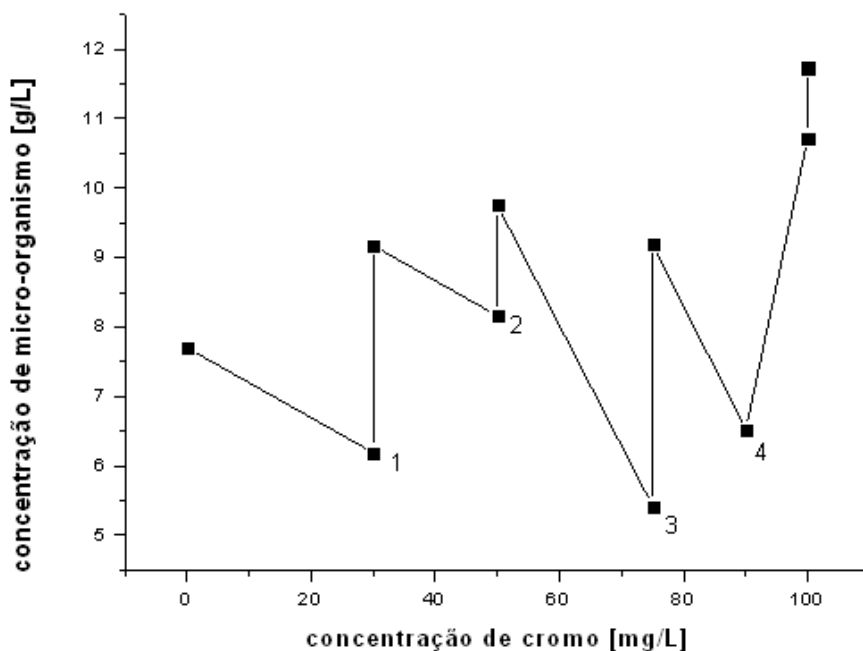


Figura 1: Comportamento da cultura mista

Pela Figura 1 pode-se observar que ocorreu uma oscilação da biomassa, sendo que nos pontos onde houve queda no crescimento dos micro-organismos, aconteceu no momento que se adicionou as diferentes concentrações crescentes de cromo VI.

No ponto 1 foi adicionado 30mg/L de cromo VI, mostrando que houve um decaimento na concentração da cultura mista, devido à perda dos micro-organismos menos resistentes ao cromo VI.

No ponto 2, já com os micro-organismos adaptados à 30 mg/L, foi adicionado 50mg/L de cromo VI indicando novamente um decaimento, porém de acordo com o tempo de contato com o cromo, os micro-organismos iam adquirindo mais resistência a mesma quantidade de cromo utilizada.

No ponto 3, adicionou-se 75 mg/L de cromo VI e no ponto 4 de 90 mg/L. Após a adição de 100 mg/L de cromo VI nota-se um crescimento ascendente dos micro-organismos resistentes ao cromo VI.

ADAPTAÇÃO DE CROMO HEXAVALENTE

Na Tabela 2 estão os resultados médios das duplicatas realizadas para as concentrações iniciais e finais do cromo VI, juntamente com a porcentagem de remoção de cromo VI encontrada.

Tabela 2: resultados de redução de cromo hexavalente em %

Concentração inicial de cromo VI (mg/L)	Concentração final de cromo VI (mg/L)	Remoção cromo (%)
31,05 ± 0,212	0,000 ± 0,000	100,0 ± 0,000
50,10 ± 0,424	0,030 ± 0,014	99,94 ± 0,028
75,60 ± 0,424	0,030 ± 0,014	99,96 ± 0,014
99,99 ± 0,014	0,055 ± 0,007	99,95 ± 0,007

Em todas as concentrações estudadas, verificaram-se remoções significativas da concentração do cromo hexavalente para a cultura mista obtida do lodo da AMCOA, alcançando em todas as concentrações quase que toda remoção desejada, ou seja, de 100%. Possibilitando um possível avanço nos experimentos relacionados a remoção de cromo hexavalente.

Dermou et al. (2007) em seus trabalhos observaram que de acordo com o aumento da concentração de Cr (VI) nas amostras, menores eram as porcentagens de remoção apresentadas no final dos testes. Analogamente ao trabalho deles, este trabalho apresentou menores porcentagens de remoção de Cr (VI) à medida que foi aumentada a sua concentração inicial.

Chen e Gu (2005) demonstraram que nos primeiros dias de análises em que as bactérias ainda não haviam sido aclimatadas não foi verificado redução de Cr (VI), mas de acordo com que elas foram se adaptando ao meio, com o passar do tempo, a concentração de Cr(VI) foi diminuindo cada vez mais, até chegar, em algumas condições de eliminação total desse composto.

CONCLUSÕES

Com base no trabalho apresentado pode-se concluir que a cultura mista utilizada foi satisfatória no que se diz respeito ao tratamento de efluentes contaminados com cromo VI, uma vez que a concentração de cromo hexavalente presente em cada meio estudado apresentou uma redução significativa, juntamente com um crescimento na concentração celular.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Universidade Federal de Uberlândia e a Faculdade de Engenharia Química pela oportunidade de realizar este trabalho, ao CNPq, a CAPES e a FAPEMIG - TEC - APQ-01583-10 pelo apoio financeiro. Os autores agradecem também a Associação dos Manufatores de Couros e Afins do Distrito Industrial de Franca/SP (AMCOA) por disponibilizar amostras de lodo de sua indústria para realização do trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA, AWWA and WPCF, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 17th ed., American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, Washington, DC, 1989. COSTA, E. R. H.
2. CHEN, Y; GU, G; 2005. Preliminary studies on contínuos chromium(VI) biological removal from wastewater by anaerobic-aerobic activated sludge process, *Bioresource Tecnology* 96 1713-1721, 2005.
3. CONAMA nº 397 - Resolução de 3 de abril de 2008.
4. DERMOU, E., VELISSARIOU, A., XENOS, D. VAYENAS, D.V.; Biological chromium(VI) reduction using a trickling filter, *Journal of Hazardous Materials* B126, 78–85, 2005.
5. DERMOU, E.; VELISSARIOU, A.; XENOS, D.; VAYENAS, D.V., 2007. Biological removal of hexavalent chromium in trickling filters operating with different filter media types, *Desalination* 211 156–163.
6. WANG, Y.-T., SHEN, H., Bacterial reduction of hexavalent chromium. *Journal of Industrial Microbiology* 14, 159–163. 1995.