

## **APLICAÇÃO DE CAMPO MAGNÉTICO EM CULTURA MISTA**

P. P. P. FILHO<sup>1</sup>, R. M. DIAS<sup>1</sup>, V. L. CARDOSO<sup>1</sup> e M. M. RESENDE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Engenharia Química  
E-mail para contato: pauloppfilho@hotmail.com

**RESUMO** – A aplicação de campo magnético em micro-organismos de cultura mista vem sendo utilizada em pesquisas para tratamento de efluentes. Este trabalho utilizou uma cultura mista que já vem sendo estudada no laboratório e adaptada em meio sintético simulando um efluente de curtume. Avaliou-se o comportamento dos micro-organismos presentes nesta cultura durante a aplicação de campo magnético permanente em biorreator com operação em reciclo durante 8 horas de processo e 2:30 h de aplicação de campo. Os resultados da contagem de células viáveis indicaram que os experimentos com e sem a aplicação do campo permaneceram na mesma ordem de grandeza de  $10^{12}$  (UFC/mL).

### **1. INTRODUÇÃO**

Diversos processos biológicos estão disponíveis para tratamento de efluentes, podendo ser aeróbio ou anaeróbio. Os micro-organismos fazem uso dos poluentes presentes no efluente para seu crescimento e obtenção de energia (Aquino, 2004).

O uso de cultura mista ao invés da cultura pura em pesquisas sobre tratamento de efluentes possui algumas vantagens. Uma delas é a capacidade biodegradativa de uma comunidade e outra é a maior resistência da comunidade a substâncias tóxicas, visto apresentar uma diversidade de micro-organismos. A maior resistência da cultura mista acontece por existir uma maior probabilidade de que um organismo que esteja presente possa detoxificar tais substâncias (Grady, 1985). Desse modo, mesmo que no interior da comunidade não haja um micro-organismo adequado para degradar totalmente a substância de interesse, em um meio compreendendo cultura mista, o produto metabólico gerado por uma espécie pode ser degradado por outra, induzindo a uma degradação completa do produto (Kataoka, 2001).

O uso de campo magnético no tratamento de efluentes despertou interesse após este aumentar a atividade microbiana e acelerar a degradação de compostos orgânicos em estudos sobre a biodegradabilidade de substratos orgânicos (Ji *et al.*, 2010, Lebkowska *et al.*, 2011).

Em pesquisas desenvolvidas na Faculdade de Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia, utilizando meios sintéticos simulando um efluente de curtume, foi utilizada aplicação de campo magnético em micro-organismos de culturas mistas para redução de Cr(VI) a Cr(III) (Dalcin *et al.*, 2011, Leles *et al.*, 2012, Moura, 2012).

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a resistência dos micro-organismos de uma cultura mista durante a aplicação de campo magnético em cultivo utilizando meio sintético.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste trabalho utilizou-se uma cultura mista de micro-organismos que já se encontrava no laboratório de Engenharia Bioquímica da Faculdade de Engenharia Química da UFU, sendo esta mantida sob refrigeração. Esta cultura mista foi a mesma utilizada para a realização do trabalho de Moura (2012) e não foi caracterizada quanto a sua população.

Para cultivo, estes micro-organismos foram dispostos em Erlenmeyers contendo meio de cultura simulando um efluente de curtume e preparado conforme Dermou *et al.* (2005) e Amoozegar *et al.* (2007) (Tabela 1).

Tabela 1 – Reagentes para meio de cultura.

Reagentes	[g/L]
NH <sub>4</sub> Cl	1
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,2
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,001
CH <sub>3</sub> COONa.3H <sub>2</sub> O	6
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5
Levedura Cervejeira Residual	3
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,001

Para a realização dos experimentos foram construídos dois biorreatores tubulares em escala laboratorial. Um deles possuía ímãs de neodímio de tamanho 10mmx4mmx2mm dispostos ao longo do comprimento do mesmo e, o outro não possuía os ímãs (Figura 1).

Figura 1 – Biorreatores com e sem a presença de ímãs.



Os dois biorreatores possuíam um volume de 283 mL e foram operados com uma vazão de 28,3 cm<sup>3</sup>/s cada para garantir uma frequência de campo de 5 Hz. No biorreator com ímãs, estes foram colocados ao longo da parede do tubo em grupos de 5 ímãs distanciados de 1 cm, totalizando 6 grupos.

O bombeamento do efluente nos reatores foi realizado por bomba peristáltica Watson Marlow, modelo 520S durante oito horas. Foram utilizados 600 mL de efluente sintético para cada reator, o qual passava por recirculação. Este efluente consistiu dos micro-organismos e do meio de cultura descrito na Tabela 1.

Para avaliar a concentração inicial do inóculo foi realizada análise dos sólidos voláteis em suspensão. Esta Análise foi realizada pelo Método dos Sólidos Fixos e Voláteis inflamados a 550 °C/2540 E conforme Apha *et al.* (2005).

As amostras foram centrifugadas, o sobrenadante foi descartado, e os sólidos lavados duas vezes com água destilada, e centrifugados após cada lavagem, ao fim os microrganismos eram colocados em cadiinhos na estufa por 24 horas. Na sequência, os cadiinhos eram pesados obtendo a massa 1. Por fim, os cadiinhos eram transferidos para a mufla a 550°C por 30 minutos e na sequência pesados novamente obtendo a massa 2.

Conhecendo-se as massas 1 e 2 calculou-se a concentração de microrganismos na amostra utilizando a Equação 1.

$$SVS_{550^{\circ}C} = \frac{\text{massa2} - \text{massa1}}{\text{volume da amostra}} \left( \frac{g}{L} \right) \quad (1)$$

Sendo SVS = Sólidos voláteis em suspensão (g/L).

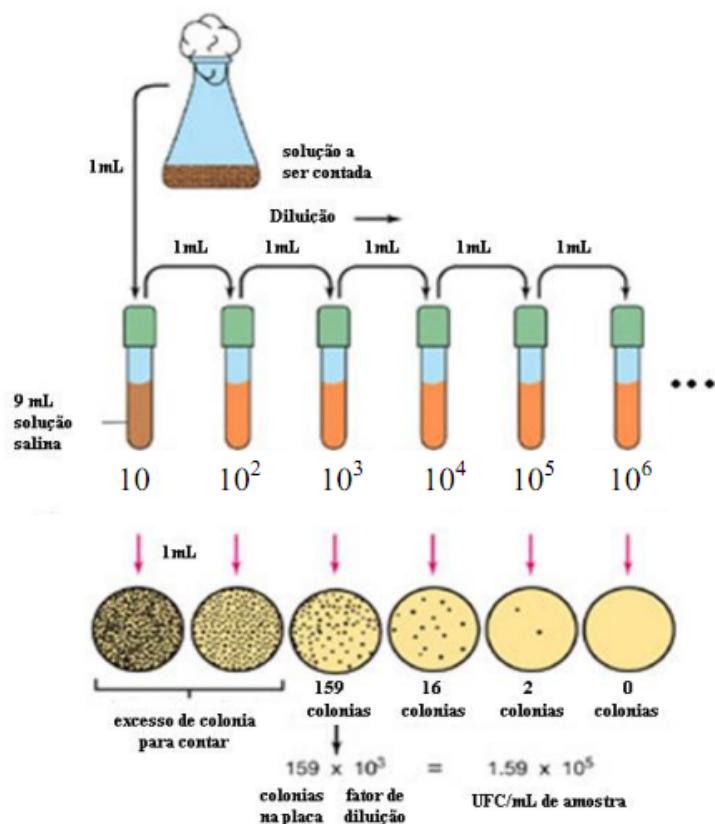
A influência ou não do campo magnético nos micro-organismos foi determinada por meio da contagem de viáveis ou de placas, segundo o método de Madigan *et al.* (2009), em um período de incubação de 48 horas.

O número de células viáveis (isto é, capazes de se reproduzir) em uma amostra envolveu a coleta de alíquotas de uma cultura microbiana em diferentes tempos de crescimento, as quais são então inoculadas em meio sólido. Após a incubação dos meios, geralmente dois dias, o número de colônias é contado. Como uma colônia normalmente é originada a partir de um organismo, o total de colônias que se desenvolvem no meio corresponde ao número de células viáveis presentes na alíquota analisada. Esta técnica deve sempre ser realizada empregando-se várias diluições (10<sup>0</sup> a 10<sup>12</sup> células) das amostras. A contagem de viáveis pode ser feita pela semeadura em superfície ou em profundidade ("pour plate").

Neste trabalho foi realizado em profundidade, onde se inoculou 1,0 ml de células. Este tipo de contagem está sujeito a grandes erros (agregados, duas células próximas, originando uma colônia), que podem ser minimizados pela realização de triplicatas para cada diluição. Esta metodologia é amplamente utilizada, exibindo elevada sensibilidade e permitindo também a contagem de diferentes tipos de micro-organismos, pelo emprego de meios seletivos (meios que favorecem o crescimento de um determinado tipo ou grupo de organismo) e/ou seletivos e diferenciais (meios que além de favorecerem o desenvolvimento

de um tipo ou grupo de organismo, também permite sua distinção, a partir de alguma característica fenotípica). O procedimento encontra-se ilustrado na Figura 2.

Figura 2 – Ilustração do método de contagem de viáveis (Adaptado de Madigan *et al.*, 2009)



### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise dos Sólidos Suspensos Voláteis mostrou que a concentração do inóculo ficou em  $3,5 \pm 0,2$  g/L.

Após a incubação das placas por 48 horas, o número de colônias foi contado para cada fator de diluição nas amostras no início e no final da recirculação nos biorreatores (Tabela 2). O início do experimento correspondeu ao tempo de 0 horas e o final do mesmo foi o tempo de processo de 8 horas. O tempo de processo de 8 horas equivaleu a um tempo de aplicação de campo de 2 horas e 30 minutos.

Os resultados apresentados na Tabela 2 indicaram que a contagem de células viáveis das amostras de efluente retiradas no início e no final da recirculação nos biorreatores, após as 48 horas de incubação das placas, não mostrou alteração significativa, permanecendo na mesma ordem de grandeza de  $10^{12}$  (UFC/mL).

Tabela 2 – Contagem do número de colônias.

<b>Biorreatore sem campo magnético</b>	<b>Biorreatore com campo magnético</b>
<b>Número de colônias (UFC/mL)</b>	<b>Número de colônias (UFC/mL)</b>
<b>Tempo – 0:00 h</b>	<b>Tempo 0:00 h</b>
$1,4 \times 10^{12}$	$1,3 \times 10^{12}$
<b>Tempo – 8:00 h</b>	<b>Tempo – 8:00 h</b>
$1,0 \times 10^{12}$	$1,0 \times 10^{12}$

Sendo assim, a aplicação do campo neste experimento não indicou morte celular e nem crescimento, uma vez que a contagem nos experimentos realizados com e sem a aplicação do campo apresentaram os mesmos valores de células viáveis.

## 4. CONCLUSÃO

Os resultados indicaram que o campo magnético não causou morte celular durante o período de contato da cultura com o campo magnético utilizado.

## 5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Federal de Uberlândia e à Faculdade de Engenharia Química pela oportunidade em realizar este trabalho e ao CNPq e à Fapemig pelo apoio financeiro.

## 6. REFERÊNCIAS

- Amoozegar, M.A., Ghasemi, A., Razavi, M.R., Naddaf, S., Evaluation of hexavalent chromium reduction by chromate-resistant moderately halophile, *Nesterenkonia* sp. strain MF2, *Process Biochemistry* 42 1475–1479, 2007.
- APHA, AWWA and WEF, 21 st edition, 2005. *Standart Methods for the examination of water & wastewater*, Washington, D.C.
- Aquino, S. F. *Formation of soluble microbial products (SMP) in anaerobic reactors during stress condition*. Tese de doutorado. Imperial College of Science Technology and Medicine, Londres, 2004.
- Dalcin, M.G.; Pirete, M.M.; Lemos, D.A.; Ribeiro, E. J.; Cardoso, V.L.; de Resende, M.M.; Evaluation of hexavalent chromium removal in a continuous biological filter with the use of central composite design (CCD). *Journal of Environmental Management*, v. 92, p. 1165-1173, 2011.
- 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.
- Grady, C. P. L. Biodegradation: its measurement and microbiological basis. *Biotech. Bioeng.*, v. 27, pp. 660-674, 1985.

Ji, Y., Wang, Y., Sun, J., Yan, T., Li, J., Zhao, T., Yin, X., Sun, C., Enhancement of biological treatment of wastewater by magnetic field. *Bioresour. Technol.* 101, 8535–8540, 2010.

Kataoka, A.P.A.G. Biodegradação de resíduo oleoso de refinaria de petróleo por micro-organismos isolados de “landfarming”. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2001.

Lebkowska, M., Rutkowska-Narozniak, A., Pajor, E., Pochanke, Z., Effect of a static magnetic field on formaldehyde biodegradation in wastewater by activated sludge. *Bioresour. Technol.*, 102, 8777–8782, 2011.

Leles, D.M.A. Lemos, D.A., Coutinho Filho, U., Romanielo, L.L., Resende, M.M. de, Cardoso, V.L., Evaluation of the bioremoval of Cr(VI) and TOC in biofilters under continuous operation using response surface methodology, *Biodegradation* (2012) 23:441–454.

Madigan, M. T. et al. *Brock Biology of microorganisms*. 12th ed. - San Francisco, Calif. : Pearson/Benjamin Cummings, 2009.

Moura, A.A. de O., *Influência de campo eletromagnético aplicado no biotratamento de efluente com cromo hexavalente*, Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.