

## **PERFIL DE RESISTÊNCIA OSMÓTICA DE BACTÉRIAS NATIVAS COM POTENCIAL DE DEGRADAÇÃO DE RESÍDUOS SALINOS**

**PAMELA LAIS CABRAL SILVA<sup>1</sup>; THAYLI RAMIRES ARAÚJO<sup>2</sup>; ROGER MARQUES VASQUES<sup>2</sup>; GUSTAVO AMARO BITTENCOURT<sup>2</sup>; LUCIARA BILHALVA CORRÊA<sup>2</sup>; ÉRICO KUNDE CORRÊA<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Núcleo de Educação, Pesquisa e Extensão em Resíduos e Sustentabilidade - UFPEL –  
pamela\_lais@hotmail.com

<sup>2</sup>Núcleo de Educação, Pesquisa e Extensão em Resíduos e Sustentabilidade - UFPEL –  
thayliaraujo@gmail.com

<sup>2</sup>Núcleo de Educação, Pesquisa e Extensão em Resíduos e Sustentabilidade - UFPEL –  
rogermarquesea@gmail.com

<sup>2</sup>Núcleo de Educação, Pesquisa e Extensão em Resíduos e Sustentabilidade - UFPEL –  
gustavobittencourt32@gmail.com

<sup>2</sup>Núcleo de Educação, Pesquisa e Extensão em Resíduos e Sustentabilidade - UFPEL –  
luciarabc@gmail.com

<sup>3</sup>Núcleo de Educação, Pesquisa e Extensão em Resíduos e Sustentabilidade –  
ericokundecorrea@yahoo.com

### **1. INTRODUÇÃO**

A partir da Revolução Industrial, que iniciou na segunda metade do século XVIII, houve uma explosão demográfica que ocasionou na maior exploração dos recursos naturais e na produção de resíduos (CALDERAN, 2013). Atualmente, um dos fatores que mais se destacam na poluição ambiental são os efluentes industriais, estes que por muitas vezes possuem em sua composição metais pesados, elevada carga de matéria orgânica, macro e micro nutrientes e contaminantes físicos e se não tratados causam danos nos corpos hídricos e solos (AGUIAR, 2002).

Entre os efluentes de mais difícil tratamento, se sobressaem os efluentes salinos, que possuem origem nas indústrias químicas, mineradoras, petrolíferas, tintureiras, têxtil e agro-alimentares, dentre elas a mais significativa está a indústria de pescado (GEBAUER, 2004; LEFEBVRE *et al.*, 2006; DASGUPTA *et al.*, 2015; FERRER-POLONIO *et al.*, 2015). O cloreto de sódio é um sal amplamente utilizado como conservante neste tipo de manufatura, portanto há uma geração considerável de efluentes salinos.

Este tipo de efluente é de difícil tratamento, pois os organismos decompositores tem sua atividade inibida pela presença de elevada pressão osmótica. Dessa forma, surge a possibilidade de empregar bactérias halofílicas como forma alternativa para tratar esses resíduos e iniciar a redução de sais e matéria orgânica nesses efluentes (SANTOS, 2012).

As bactérias halofílicas são bactérias que apresentam crescimento em ambientes com variadas concentrações de NaCl. O grupo que se desenvolve em concentrações de NaCl de 5% a 15% são classificadas como halofílicas, e as que se desenvolvem em concentrações de 15% a 30% são consideradas bactérias halofílicas extremas (PIUBELI, 2011; ZHANG *et al.*, 2014).

Tendo em vista esses aspectos, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a resistência à pressão osmótica de cepas nativas isoladas de bacalhau seco salgado, avaliando seu potencial de crescimento perante diversas concentrações de cloreto de sódio.

### **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

## 2.1. Cultivo in vitro

Duas cepas selecionadas foram submetidas à fermentação suplementados de NaCl. A fim de remover o estado de latência dos isolados, uma alçada de cada cepa foi transferida para tubos de ensaio contendo 10mL de caldo Brain Heart Infusion (BHI) suplementados com diferentes concentrações de NaCl (0,5%; 2%; 5%; 7,5%; 10%), incubados em estufa à 35°C por um “overnight”. Foi transferido 10mL de cada tubo com as diferentes concentrações salinas do BHI contendo o inóculo para um erlenmeyer contendo 190mL de caldo BHI esterilizado com a mesma concentração salina. Os erlenmeyers foram incubados em incubadora com agitação orbital a 35°C por 5 h e 100rpm. A cada hora de fermentação foi retirada uma alíquota de 1mL de cada biorreator correspondentes as diferentes concentrações de NaCl e transferidas para uma série de tubos (diluções seriadas) contendo 9mL água peptonada 0,1% e agitados em agitador tipo vórtex. A seguir, foram selecionadas 3 diluições consecutivas e transferida 0,1 mL para uma placa contendo ágar PCA utilizando a técnica por esgotamento de superfície para enumeração das colônias (APHA, 2001).

As placas foram incubadas a 35°C/24h e a contagem foi realizada pelo método da Contagem Padrão em Placas (CPP) (APHA, 2001).

## 2.2. Análise estatística

O experimento seguiu delineamento completamente casualizado, com três repetições, em arranjo bifatorial onde o primeiro fator foi a “concentração de NaCl” (0,5; 2,0; 5,0; 7,5; 10,0%) e o segundo fator o “tempo de fermentação” (1; 2; 3; 4; 5h). Os dados obtidos foram tabulados e tiveram a sua normalidade testada usando o teste de Shapiro-Wilk, sua homocedasticidade pelo teste de Hartley e a independência dos resíduos por análise gráfica. Após a verificação destes pressupostos, foi conduzido a análise de variância ( $\alpha = 0,05$ ) e observando significância estatística ( $p < 0,05$ ) foi aplicado análise de regressão com ajuste ao modelo polinomial, conforme a Eq. 1.

$$y = y_0 + ax \quad (1)$$

Onde, “y” é a concentração de colônias no meio expressa em log de Unidades Formadoras de Colônias por volume de meio (UFC.mL<sup>-1</sup>), “y<sub>0</sub>” e “a” são as constantes do modelo e “x” o tempo de fermentação (h).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cepa A (Fig. 1) apresentou um crescimento maior nas concentrações de NaCl de 0,5% e 2%, na concentração de 5% ainda apresenta crescimento, porém menor em comparação as concentrações mais baixas, no entanto as de concentração 7,5% e 10% pode-se observar baixo crescimento. O *overnight* permitiu que as cepas nas concentrações 0,5% e 2% abandonassem a fase lag de crescimento, portanto durante o período de avaliação encontravam-se na fase log. Da mesma forma, a concentração 5% foi avaliada durante o final da fase log e as concentrações 7,5% e 10% na fase de declínio. Isto ocorreu devido ao *overnight*, que de acordo com a resistência a pressão osmótica diminuiu o tempo das fases de crescimento.

A cepa B (Fig. 2) também apresentou crescimento na presença de NaCl, contudo houve ela atingiu um crescimento maior em todas as concentrações, em comparação a cepa A. O *overnight* permitiu que a cepa B, em todas as concentrações, saísse da fase lag. Portanto ela possui maior resistência a pressão osmótica.

Figura 1: Crescimento da cepa A em diferentes concentrações de NaCl.

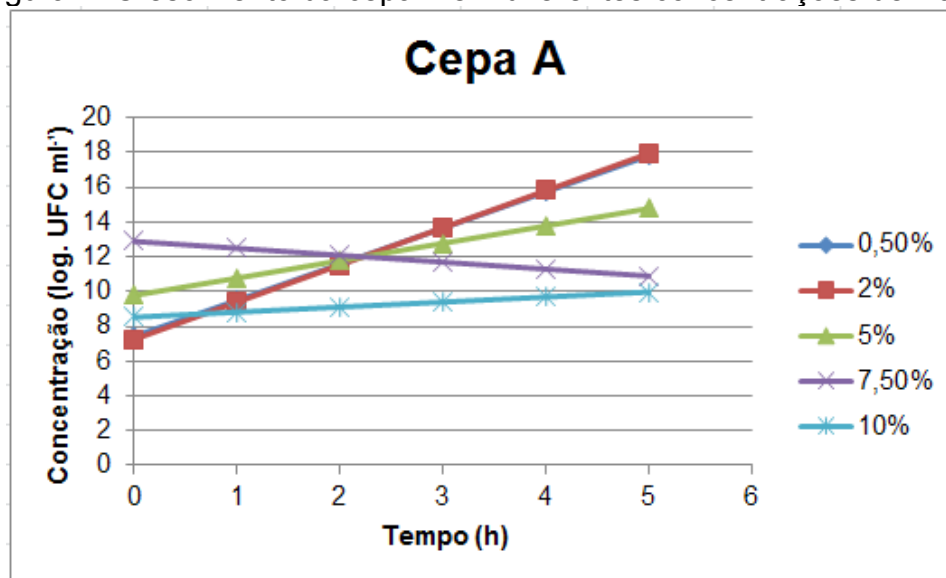
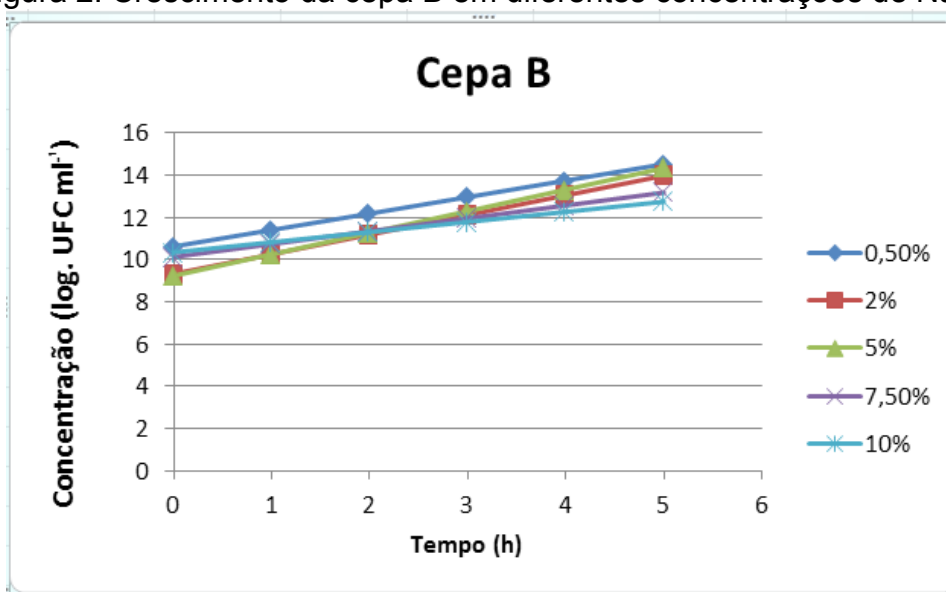


Figura 2: Crescimento da cepa B em diferentes concentrações de NaCl.



#### 4. CONCLUSÕES

As cepas investigadas apresentaram resistência a pressão osmótica em diferentes níveis, podendo a cepa A ser considerada uma bactéria halofílica halodunica e a cepa B halofílica. Desse modo, esta resistência permite o desenvolvimento de biomassa das cepas em diferentes concentrações de cloreto de sódio.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, M. R. M. P.; NOVAES, A. C.; GUARINO, A. W. S. Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6b, p. 1145-1154, 2002.
- APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: APHA, 2001. 4<sup>th</sup> ed.
- CALDERAN, T. B. **Os Consórcios Públicos na Coleta e Tratamento de Resíduos Sólidos Urbanos**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ambiente e Desenvolvimento) – Programa de Pós-graduação em Ambiente e Desenvolvimento do Centro Universitário Univates.
- DASGUPTA, J.; SIKDER, J.; CHAKRABORTY, S.; CURCIO, S.; DRIOLI, E. Remediation of textile effluents by membrane based treatment techniques: A state of the art review. **Journal of Environmental Management**, n. 147, p. 55-72, 2015.
- FERRER-POLONIO, E.; MENDOZA-ROCA, J. A.; IBORRA-CLAR, A.; ALONSO-MOLINA, J. L.; PASTOR-ALCAÑIZ, L. Comparison of two strategies for the start-up of a biological reactor for the treatment of hypersaline effluents from a table olive packaging industry. **Chemical Engineering Journal**, n. 273, p. 595–602, 2015.
- GEBAUER, R. Mesophilic anaerobic treatment of sludge from saline fish farm effluents with biogas production. **Bioresource Technology**, n. 93, p. 155–167, 2004.
- LEFEBVRE, O.; MOLETTA, R. Treatment of organic pollution in industrial saline wastewater: a literature review. **Water Research**, v. 40, n. 20, p. 3671–3682, 2006.
- PIUBELI, F. A. **Caracterização da comunidade microbiana em ambientes salinos e suas possíveis aplicações biotecnológicas**. 2011. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas.
- SANTOS, L. S. **A influência da salinidade nos processos de tratamento de efluentes por lodos ativados**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
- ZHANG, X.; GAO, J.; ZHAO, F.; ZHAO, Y.; LI, Z. Characterization of a salt-tolerant bacterium *Bacillus* sp. from a membrane bioreactor for saline wastewater treatment. **Journal of Environmental Sciences**, n. 26, p. 1369–1374, 2014.