

PRODUÇÃO DA BACTÉRIA *Corynebacterium xerosis* PARA FLOCULAÇÃO DE MINERAIS

L.N. Rigo¹, N.D. Denardin¹, I.A.H. Schneider²

¹ FEAR/FAMV – Universidade de Passo Fundo

Campus I, Bairro São José, CEP 99.001-970, Passo Fundo, RS, Brasil

² Departamento de Metalurgia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Centro de Tecnologia – Av. Bento Gonçalves 9500, Cep: 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil

E-mail: ivoandre@upf.tche.br

RESUMO

A bactéria *Corynebacterium xerosis* flocula minerais como a fluorita e a calcita. O futuro uso desse microrganismo em escala industrial necessita de estudos prévios sobre as condições de produção da bactéria, ou seja, um meio de cultura ideal bem como as condições ótimas de pH, temperatura e oxigenação. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi estudar o crescimento da bactéria *C. xerosis* para a floculação de minerais. Em frascos agitados, avaliou-se o crescimento em três meios de cultura (Caldo Nutriente, 523 de Kado e Extrato de Carne) bem como o efeito da temperatura. Em um fermentador de bancada com capacidade para 10 litros, estudou-se o crescimento bacteriano monitorando-se o pH do meio e o teor de oxigênio dissolvido. O crescimento foi avaliado em termos de produção de massa seca e por análise visual das bactérias por microscopia ótica. Os resultados demonstraram que o meio Kado e o meio Caldo Nutriente permitem o crescimento da *C. xerosis*, porém o crescimento foi praticamente nulo com o meio Extrato de Carne. O meio Kado foi o que proporcionou uma maior taxa de crescimento bem como uma maior produção de massa de bactérias. Entretanto, as bactérias crescidas em meio Caldo Nutriente apresentaram-se melhores para a floculação da fluorita. As condições ótimas de crescimento, para ambos os meios, ocorreram em pH 7,0, à temperatura de 37°C e sob condições anaeróbicas ou levemente aeróbicas.

PALAVRAS-CHAVE: biorreagentes, *Corynebacterium xerosis*, floculação

1. INTRODUÇÃO

Alguns microrganismos têm sido estudados como agentes floculantes para partículas minerais. Como exemplos, pode-se citar as bactérias *Mycobacterium phlei* (Dubel et al, 1992), *Candida parapsilosis* (Schneider et al, 1994) e a *Corynebacterium xerosis* (Haas e Schneider 1998a e 1998b; Haas et al, 1999). Essas bactérias são capazes de se aderir aos minerais e formar pontes entre as partículas, promovendo a agregação e o aumento da velocidade de sedimentação (vide Figura 1).

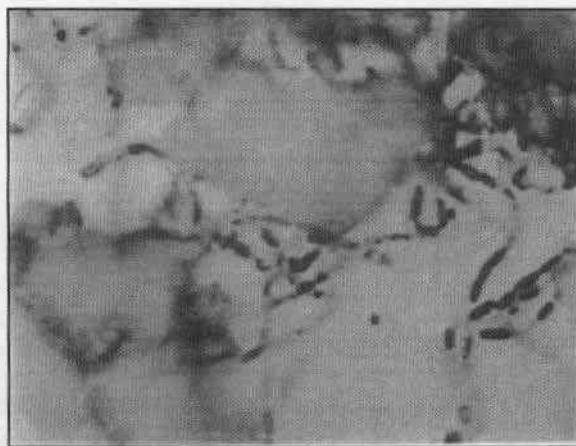


Figura 1 - Floculação de partículas de fluorita com a bactéria *C. xerosis*.

A bactéria *Corynebacterium xerosis* é um ótimo floculante para os minerais fluorita e calcita (Haas e Schneider, 1998a e 1998b; Haas 1999). Porém, o futuro uso desse microrganismo em escala industrial necessita de estudos prévios sobre as condições de produção da bactéria, ou seja, um meio de cultura ideal bem como as condições ótimas de pH, temperatura e oxigenação (Shuler e Kargi, 1992).

C. xerosis é um bacilo gram positivo que cresce sob condições aeróbicas ou anaeróbicas facultativas e requer meios altamente nutritivos, como meios de soros e meios de sangue. As colônias, sob determinadas condições, podem formar “letras chinesas” ou cadeias. A temperatura de incubação varia de 25°C a 40°C e normalmente não esporulam (Holt et al, 1994; Atlas, 1997).

Assim, o presente trabalho tem como objetivo estudar o crescimento da *C. xerosis* com diferentes meios de cultivo (Caldo Nutriente, Kado e Extrato de Carne) e avaliar o efeito do pH, da temperatura e da oxigenação. Para tal, foram realizados experimentos em frascos agitados e em um fermentador de bancada com capacidade para 10 litros, que serão a seguir descritos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A bactéria *Corynebacterium xerosis* foi obtida da coleção de microrganismos da “Carolina Biological Supply Company” – EUA. Os meios de cultura empregados para o crescimento da bactéria foram o Caldo Nutriente (Difco), o Extrato de Carne (Difco) e o 523 de Kado. O meio 523 de Kado, neste trabalho referido somente como “Kado”, foi obtido da composição de 1,3 g de extrato de levedura, 0,12 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 3,3 g de sacarose, 2,63 g de caseína ácida hidrolisada, 0,65 g de K_2HPO_4 em 1 L de água (Kado e Heskett, 1970). Todos os meios foram preparados a uma concentração de 8 g/L.

Nos estudos em frascos agitados, utilizou-se Erlenmeyers de 250 mL preenchidos com um volume de 150 mL de um dos meios de cultura anteriormente descritos. A inoculação da *C. xerosis* foi efetuada através da adição de 2 mL de uma suspensão contendo a bactéria a uma concentração de 10^8 ufc/mL. Os frascos foram colocados em uma incubadora com movimento orbital e com controle de temperatura a uma rotação de 140 rpm. Por um período de 5 dias, a cada 24 horas, foram retiradas amostras para avaliação do crescimento microbiano em termos de produção de massa seca e análise microscópica.

O estudo de crescimento bacteriano no fermentador foi realizado em um biorreator de bancada Biostat B (B. Braum Biotech International). Nesse ensaio utilizou-se 5 L do meio de cultura Caldo Nutriente a uma concentração de 8 g/L. A inoculação foi realizada pela adição de um volume de 70 mL de uma solução inoculante que continha uma concentração celular de 10^8 ufc/mL. Como condições operacionais do processo foi mantida uma rotação 180 rpm, temperatura de 37°C e a ausência de aeração. Monitorou-se o processo em termos da quantidade de oxigênio dissolvido, pH do meio e concentração de massa bacteriana.

Os ensaios de floculação foram realizados em um aparelho de “Jar Test”. Inicialmente, a polpa, contendo 1% (massa/volume) de fluorita (CaF_2) em granulometria inferior a 37 μm (400 #) foi agitada por um período de 10 min para promover a dispersão das partículas. Corrigiu-se o pH do meio para 7,0 e adicionou-se os microrganismos a uma dosagem de 40 mg/L. A agitação rápida foi mantida ainda por um período de 2 min para promover a completa interação do biorreagente com o meio. Após, baixou-se a rotação, permitindo a formação dos flocos por um período de 2 min. Um tempo de sedimentação de 1 min foi deixado para a sedimentação dos flocos e análise da água residual.

A eficiência da floculação foi avaliada pelos seguintes parâmetros:

- análise visual da qualidade dos flocos a olho nu
- turbidez residual da água (NTU)
- remoção de sólidos suspensos (%).

Os ensaios de floculação foram conduzidos em triplicata para cada reagente e foram expressos pela média (\bar{x}) e pelo desvio padrão (σ_x).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 apresenta o crescimento da *C. xerosis* em três diferentes meios de cultura. Pode-se observar que a maior produção de massa bacteriana ocorre no meio Kado. É possível obter com o meio Kado cerca 1,5 g/L de *C. xerosis*, enquanto que com o meio Caldo Nutriente somente cerca de 0,3 g/L. No meio de Extrato de Carne não houve crescimento, sendo então descartado para futuros estudos. O melhor rendimento do meio Kado pode ser explicado pela presença de sacarose, que permite uma maior facilidade de metabolização como fonte de energia.

Observou-se também que houve, após o terceiro dia de crescimento, a formação de grumos bacterianos no meio Kado. No meio de cultura Caldo Nutriente, a bactéria manteve-se bem dispersa e homogeneizada durante os cinco dias de crescimento.

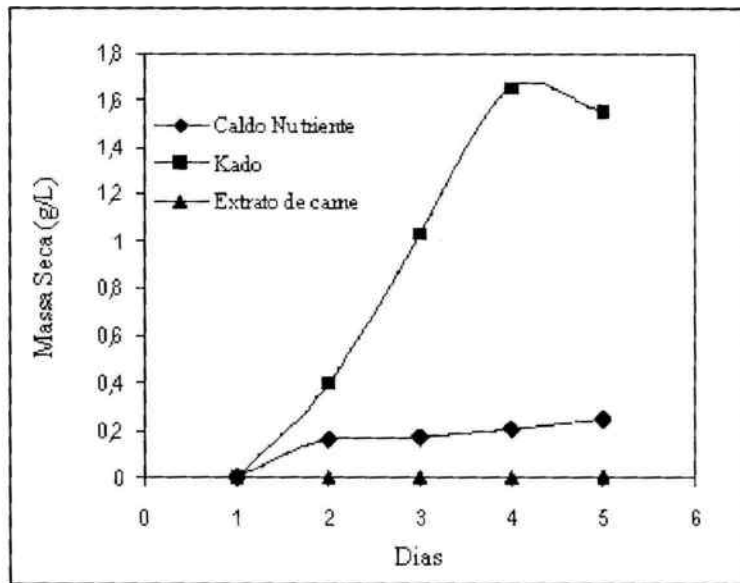


Figura 2 - Crescimento em frascos agitados da *C. xerosis* em função do tempo em diferentes meios de cultura.

As Figuras 3 e 4 mostram o crescimento da *C. xerosis* em diferentes temperaturas nos meios Kado e Caldo Nutriente. No meio Kado, a maior taxa de crescimento ocorreu a temperatura de 37°C. No meio Caldo nutriente, o crescimento foi parecido tanto a 27°C como a 37°C. O crescimento à temperatura de 17°C foi bastante baixo. Esses resultados comprovam o caráter mesofílico das bactérias e que a melhor temperatura de crescimento encontra-se entre 25°C e 40°C (Holt et al, 1994).

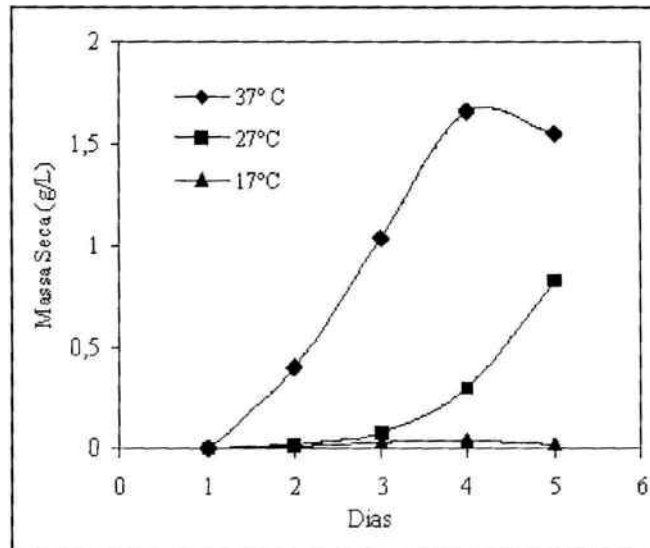


Figura 3 - Crescimento em frascos agitados da bactéria *C. xerosis* em diferentes temperaturas no meio Kado.

A Tabela I apresenta os resultados de floculação de partículas de fluorita quando crescidas com diferentes meios de cultura. Pode-se reparar que as bactérias cultivadas com o meio Kado não mostraram bons resultados de floculação, enquanto que quando cultivadas com o meio Caldo Nutriente apresentaram excelentes resultados.

A baixa floculação com a *C. xerosis* crescida em meio Kado deve-se ao fato de que, talvez, os componentes do meio de cultura não permitiram a formação de compostos extra-celulares capazes de atuar na floculação. Ainda, análises complementares realizadas por microscopia ótica indicaram que o arranjo das células em forma de cadeias foi mais evidente quando o meio empregado era o Caldo Nutriente, indicando que a configuração das bactérias possa ter uma influência no resultado da floculação.

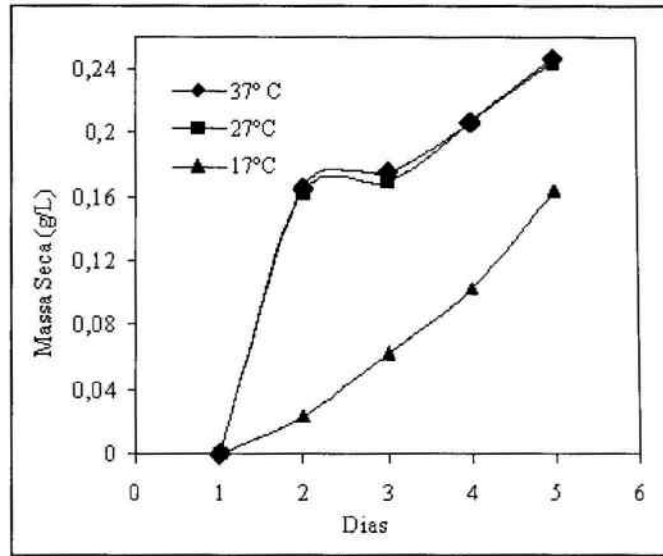


Figura 4 - Crescimento em frascos agitados da bactéria *C. xerosis* em diferentes temperaturas no meio Caldo Nutriente.

Tabela I - Floculação de fluorita com a *C. xerosis* (40 mg/L) cultivada em diferentes meios de cultura.

Meio de cultura	Sólidos Removidos (%)		Turbidez Residual (NTU)		Qualidade da Floculação
	\bar{x}	σ_x	\bar{x}	σ_x	
Branco	38	0,008	-	-	Nula
523 de Kado	84	0,018	41,6	4,71	Razoável
Caldo Nutriente	96	0,020	7,6	0,47	Excelente

Finalmente, a Figura 5 apresenta o crescimento da bactéria *C. xerosis* no fermentador de bancada empregando o meio Kado e o meio Caldo Nutriente. Os ensaios no fermentador demonstraram que o crescimento ocorre muito bem em ambos os meios em condições anaeróbicas (0 % de O_2 dissolvido no meio), apesar de que nada foi feito para evitar a transferência de oxigênio da superfície livre para o meio de cultura. O pH do meio, em ambos os casos, decresceu levemente de pH 7,0 a 6,4, não havendo a necessidade de se fazer o ajuste do pH. Observa-se, também, que os resultados, em termos de massa microbiana produzida, ficaram coerentes com os conduzidos em frascos agitados.

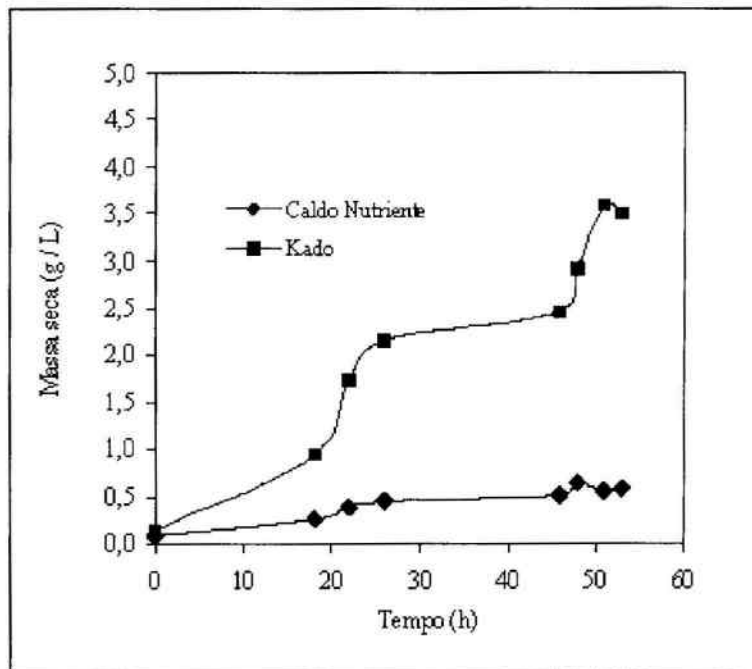


Figura 5 - Crescimento em um fermentador de bancada da bactéria *C. xerosis* em meio Kado e Caldo Nutriente a temperatura de 37°C.

4. CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que, apesar do meio Kado apresentar um maior rendimento para a produção da *C. xerosis*, esse meio não permite que as propriedades floculantes do biorreagente sejam mantidas. Assim sendo, a melhor condição para a produção da bactéria *C. xerosis* para a floculação de minerais é com o meio Caldo Nutriente em temperatura de 27°C a 37°C. O caráter facultativo da bactéria permite que o processo seja conduzido sem a adição de oxigênio e agentes regulares de pH. Porém, cuidados devem ser tomados para que o crescimento ocorra em condições estéreis. Ressalta-se, ainda, que futuros estudos devem ser conduzidos para procurar meios de cultura de menor custo e para o crescimento da *C. xerosis* em fermentadores de maior escala.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro das seguintes instituições de fomento à pesquisa: Fapergs (processo 96/1789.5) e CNPq (processos 521968/96-8 e 62.0185/98.8).

6. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Atlas, R. M. Principles of Microbiology. Brown Publishers, Louisville, 1997.
- Dubel, J.; Smith, R.W.; Misra, M.; Chen, S. Microorganisms as chemical reagents: the hematite system. *Minerals Engineering*, 5:574-556, 1993.
- Haas, S.R.; Schneider, I.A.H. Seleção de bactérias para floculação de finos de fluorita. *Anais da II Reunião Nacional de Microbiologia Aplicada ao Meio Ambiente*, 1998a.
- Haas, S.R.; Schneider, I.A.H. Floculação de finos de fluorita com a bactéria *Corynebacterium xerosis*. *Anais do XVII Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa*, v.1., p.587-599, 1998b.
- Haas, S.R.; Nascimento, F.R.; Schneider, I.A.H.; Gaylarde, C. Flocculation of fine fluorite particles with *Corynebacterium xerosis*. *Revista de Microbiologia*, 30, p.225-230, 1999.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T. Determinative Bacteriology. William & Williams, Baltimore, 1994.
- Kado, C.J., Heskett, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 60, p.969 – 976, 1970.
- Schneider, I.A.H.; Misra, M.; Smith, R.W. Bioflocculation of fine mineral suspensions by *Candida parapsilosis* and its sonication products. In: Reagents for Better Metallurgy. SME, p. 293-301, 1994.
- Shuler, M.L.; Kargi, F. Bioprocess Engineering. Basic Concepts. Englewood Cliffs, New Jersey, 1992.