



II-209 – BIODEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS COM *Aspergillus sp.* SELVAGEM DE SOLO AMAZÔNICO

Libertalamar Bilhalva Saraiva⁽¹⁾

Engenheira Química pela Fundação Universidade de Rio Grande (FURG/RS). Doutorado em Engenharia Química na Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN/RN). Professora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Amazonas (IFAM/AM)

Elainy Farias Rego

Tecnóloga em Processos Químicos pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Amazonas (IFAM/AM)

Paula Gabrielly Almeida Vieira

Tecnóloga em Alimentos pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Amazonas (IFAM/AM)

Sônia Maria de Melo Lima

Bióloga pela Universidade do Sagrado Coração (USC/BAURU/SP). Mestre em Desenvolvimento Regional (UFAM/AM.). Doutoranda em Biotecnologia (UFAM/AM). Professora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM/AM). E-mail: smmlima@cefetam.edu.br

Endereço⁽¹⁾: Rua Mário Assayag, 738 - AM - CEP: 60036-495 - Brasil - Tel: (92) 36719723 - e-mail: liberta.saraiva@cefetam.edu.br

RESUMO

O trabalho estudou a degradação de compostos fenólicos e matéria orgânica de efluente sintético pela atividade do microrganismo *Aspergillus sp.* de solo amazônico, em reatores em batelada. Os fungos vêm atualmente sendo estudados quanto a sua aplicação na recuperação de ambientes degradados por poluentes químicos, e os resultados obtidos por muitos pesquisadores demonstram que estes organismos podem degradar compostos recalcitrantes como os fenóis com adição de glicose como fonte primária de carbono. Os experimentos foram conduzidos em duas etapas. Na primeira etapa foi estudada a atuação do microrganismo em ambiente de laboratório de microbiologia e para isto foram inoculados erlenmeyers com o fungo *Aspergillus sp.* e efluente sintético com variação de concentração da glicose como fonte primária de carbono. As concentrações de fenol e glicose foram medidas como matéria orgânica pela análise de DQO. Tanto nos reatores com efluente sem glicose (RF) quanto nos reatores com efluente com glicose (RFG), foram observadas remoções da ordem de 96% de matéria orgânica (DQO) ao longo do experimento. Na segunda etapa o fungo foi inoculado em reator de acrílico em processo de batelada com as concentrações de fenol e glicose que obtiveram os melhores resultados na etapa anterior, com variação do tempo de detenção hidráulica (TDH) de um a cinco dias. No tempo de 3 dias de TDH houve uma remoção maior que 70%, o que infere que o *Aspergillus sp.* pode ser utilizado na degradação de compostos fenólicos em reator em batelada.

PALAVRAS-CHAVE: *Aspergillus sp.*, solo amazônico, remoção de fenol.

INTRODUÇÃO

Os compostos poluentes orgânicos persistentes, como os fenólicos, presentes em águas residuárias industriais são de difícil degradação e dificultam o processo de tratamento biológico causando graves problemas ao meio ambiente e a saúde humana. De acordo com a Resolução do CONAMA N° 357 (2005), a concentração padrão de lançamento para fenol em qualquer tipo de efluente foi estabelecida para um máximo de 0,5 mg/L.

Os compostos fenólicos presentes na água podem derivar da degradação de substâncias naturais, atividade industrial e práticas agrícolas. Durante a decomposição das folhas e madeira formam-se compostos fenólicos. Na indústria, os fenóis e compostos derivados são utilizados na produção de diversos polímeros, nos têxteis, resinas, detergentes, explosivos, anti-oxidantes. Na agricultura os compostos fenólicos ocorrem em herbicidas, inseticidas e fungicidas. Os compostos fenólicos e o nitrogênio amoniacal destacam-se dentre os principais contaminantes descartados pela indústria petroquímica (RIBEIRO et al, 2005).

Os processos físico-químicos como ultrafiltração e oxidação química, têm sido empregados para o tratamento de efluentes contendo fenol, porém esses métodos exigem investimentos e manutenção de custo elevado



(RODRIGUES, 2006). Por outro lado, os custos dos tratamentos biológicos são relativamente baixos e evitam a formação de poluentes secundários (OLIVEIRA, E. C. et al., 2005).

Os fungos vêm sendo estudados quanto sua aplicação para recuperação de ambientes degradados por poluentes químicos (SILVA e COELHO, 2006). Estes estudos têm demonstrado que eles conseguem quebrar a cadeia fenólica com adição de glicose como fonte primária de carbono, alcançando-se valores bastante elevados de remoção de fenóis, pois os mesmos são heterotróficos e obtêm energia degradando matéria orgânica e disponibilizando os produtos resultantes para ação de outros microrganismos, sendo empregados em processos de biorremediação (RODRIGUES et al, 2007).

O trabalho teve como objetivo estudar a capacidade de degradação de compostos fenólicos e matéria orgânica de efluente sintético pela atividade dos fungos *Aspergillus sp.* em reatores biológicos e a influência do uso de glicose como indutor do processo.

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em duas etapas experimentais: Na primeira, os experimentos foram desenvolvidos no laboratório de Microbiologia em reatores em batelada (erlenmeyers). Na segunda, o experimento foi desenvolvido no laboratório de Análise e Controle Ambiental em reator de acrílico em escala de laboratório.

O microrganismo escolhido para o trabalho foi o microrganismo do gênero *Aspergillus sp.*, por já ter sido empregada com êxito na remoção de efluentes contendo fenol e compostos derivados e por haver uma cepa disponível no acervo do CEFET-AM, isolada a partir do solo amazônico. A cepa do fungo foi cultivado em meio sólido Ágar Batata, a temperatura de 28°C, durante 7 dias, para então ser utilizado como fonte de esporos, nos reatores. Os conídios da linhagem de *Aspergillus sp.* foram suspensos em água destilada esterilizada e a suspensão obtida foi ajustada para 2×10^6 esporos/mL. Um volume de 1,0 mL dessa suspensão foi inoculado, em erlenmeyer de 500 mL, contendo 250 mL do efluente sintético em cada reator.

PRIMEIRA ETAPA: EXPERIMENTO NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA

Na primeira etapa foram feitos dois experimentos: No primeiro foram utilizados 9 (nove) erlenmeyers de 500 mL, sendo 3 com função de controle (RC), 3 com fungos e efluente sintético sem glicose (RF) e 3 com fungos e efluente sintético com glicose (RFG). Posteriormente, foram utilizados 12 (doze) erlenmeyers de 500 mL, sendo, as concentrações de fenol e glicose, diferentes em cada triplicata, conforme Tabela 1.

Tabela 1: Concentrações do efluente sintético nos erlenmeyers

Experimentos	Erlenmeyers	Fenol (mg/L)	Glicose (mg/L)
Primeiro	RC (sem fungo)	50	0
	RF	50	0
	RFG	50	300
Segundo	RC (sem fungo)	100	0
	RF	100	0
	RFG 1	100	50
	RFG 2	100	100

Os erlenmeyers foram preenchidos com 250 mL do efluente sintético e inoculados com esporos de *Aspergillus sp.* Os frascos foram incubados e mantidos a 28° C por 7, 14, 21 e 28 dias. Uma amostra de cada reator foi retirada e analisada em diferentes intervalos de operação.

A composição do efluente sintético base foi caracterizada segundo Silva (2002), sem a glicose e o fenol como mostrado na Tabela 2.



Tabela 2: Composição do efluente sintético base

Composição	Concentração (mg/L)
NH ₄ Cl	76,1
Na ₂ HPO ₄ .12 H ₂ O	46,2
NaCl	10,1
KCl	4,7
MgSO ₄ .7H ₂ O	16,7
NaHCO ₃	243,3
Na ₂ CO ₃	162,2
Fe ₂ Cl ₃ .6H ₂ O	0,2
ZnSO ₄	0,2
MnSO ₄ .H ₂ O	0,2
CuSO ₄	0,2

RESULTADOS DA PRIMEIRA ETAPA

Os resultados obtidos para o primeiro e segundo experimentos da primeira etapa da pesquisa estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Remoção de matéria orgânica no 1º e 2º experimentos

Experimentos	Erlenmeyers	DQO (mg/L)				
		Bruto	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Primeiro	RC	83,86	83,86	83,86	83,86	-
	RF	83,86	83,86	80,07	72,50	-
	RFG	1296,63	189,98	34,60	11,85	-
Segundo	RC	216,51	-	216,51	216,51	216,51
	RF	216,51	-	299,89	8,06	11,85
	RFG 1	250,62	-	163,45	15,64	n.d.
	RFG 2	402,21	-	n.d.	19,43	8,06

Pode-se verificar, pela tabela que em todos os reatores com fenol e glicose houve uma redução significativa na DQO, porém nos reatores sem glicose (1º experimento) o microrganismo não metabolizou o fenol quando só tinha este composto como fonte de carbono.

No segundo experimento, no entanto, houve uma redução do fenol (medido como DQO) em 21 dias de incubação, confirmada pelo resultado de DQO em 28 dias, o que pode indicar que, no intervalo do 21º dia e o 28º dia, os fungos passaram a utilizar o fenol como fonte primária de carbono, ao invés da glicose, o que já se previa após os vinte e um dias do 1º experimento em que se registrou 99,09% de remoção. Ainda é possível obter eficiência na remoção do poluente com a redução da concentração da glicose.

SEGUNDA ETAPA: REATOR DE ACRÍLICO

O reator foi construído em tubo de acrílico de 100 mm de diâmetro, 500 mm de altura, 3 mm de espessura, com volume útil total de 4L. O meio suporte utilizado foi tubo de polietileno cortado em pedaços de 10 mm.

A aeração foi feita utilizando um compressor tipo aquário e medida diretamente com oxímetro. O oxigênio dissolvido (OD) foi mantido no mínimo de 2 mg/L e a temperatura em torno de $28^{\circ} \pm 2^{\circ}$ C.

O reator foi alimentado numa vazão de 2L/dia com bomba d'água, controlado por controlador de processo construído pelo Prof. Renato de Mena Barreto. O conjunto de reator, controlador de processo e meio fixo estão apresentados na Figura 1.

Figura 1: Reator em batelada com controlador de processo com detalhe do reator de acrílico e o meio suporte.



O efluente sintético continha 100 mg/L de fenol e 50 mg/L de glicose. Para a adaptação do microrganismo utilizou-se o efluente sintético e aeração. Foi verificado o crescimento do fungo pela observação visual pela presença de esporos no leito fixo, como também, e através da análise do parâmetro DQO, em 14, 21 e 28 dias.

Após a adaptação o reator funcionou durante 90 dias, com tempo de detenção hidráulica (TDH) variando de 05 (cinco) a 01 (um) dias, com alimentação de 2L/dia.

A degradação do fenol e matéria orgânica foi avaliada através da análise de DQO, seguindo a metodologia do Standard Methods of Water and Wastewater (APHA, 1998).

RESULTADOS DA SEGUNDA ETAPA

O reator de acrílico (RAc), com meio suporte de polietileno, recebeu o inoculo de *Aspergillus sp.* selvagem na forma de suspensão de esporos (2×10^6 esporos/mL). O pH do resíduo foi mantido em torno de 4,0. A temperatura de trabalho foi mantida na faixa de 28°C e a aeração com concentração de $2 \pm 0,5$ mg/L de oxigênio dissolvido durante todo o trabalho.

Após um TDH de sete dias verificaram-se visualmente a presença de turbidez no reator, a formação de estruturas gelatinosas distribuídas no interior do efluente e o desenvolvimento dos fungos aderidos somente nos meio suporte. A fase de adaptação dos fungos ao resíduo ideal foi de 14 dias.

A eficiência de remoção foi controlada pelas análises de DQO do afluente e do efluente ao reator, variando-se o tempo de detenção de cinco, três e um dias. Os resultados de DQO efluente e eficiência de remoção de matéria orgânica estão apresentados na Tabela 4 e na Figura 2.

Pelos resultados apresentados pode-se verificar que em um dia de tempo de detenção hidráulica já se obteve um resultado médio de eficiência em torno de 50%, aumentando para 70% quando o tempo de detenção foi aumentado para três dias.

A análise do desvio padrão calculado, apesar do pequeno número de amostras, mostra que não houve grandes

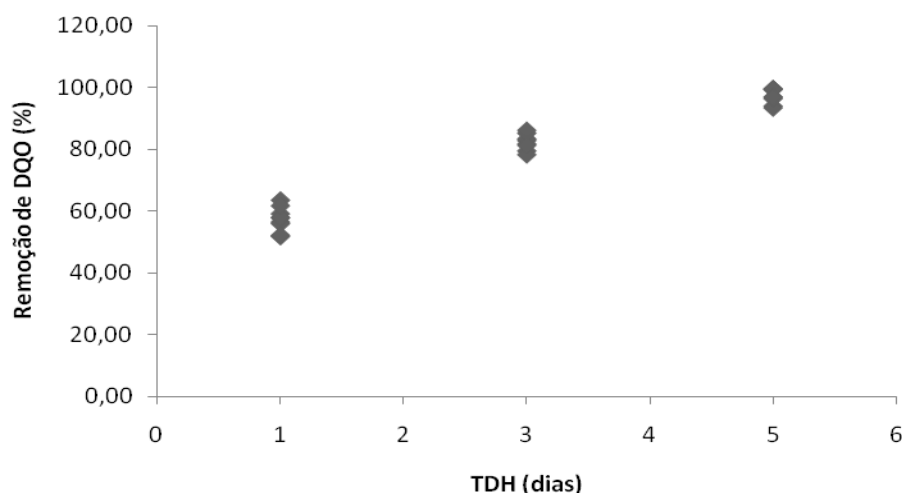


variações durante o experimento. Isto sugere que o processo é estável e que a degradação de compostos fenólicos por fungos deve estar relacionada ao alto nível de excreções produzidas pelos fungos, haja vista que se reutilizaram os fungos desenvolvidos no meio suporte, da Fase I para a Fase II, renovando o substrato ou efluente sintético. Autores como Eugênio C. Oliveira et al (2007) obtiveram uma taxa máxima de degradação de fenol de 0,17 mg Fenol/ UFC.dia, enquanto Kelly de Araújo Rodrigues (2007) obteve remoção de 100% de fenol, nos reatores em que a glicose estava disponível no meio.

Tabela 4: Valores médios, máximos e mínimos e variação de DQO, com TDH de 01, 03 e 05 dias.

TRH (dias)	DQO Média (mg/L)	Remoção (%)	Desvio padrão	n (análises)
05	4,99	97,21	2,40	09
03	31,79	82,20	2,69	07
01	76,32	57,27	3,90	09

Figura 2: Remoção de DQO em função do tempo de detenção hidráulica.



CONCLUSÕES

O trabalho realizado permite concluir:

A espécie *Aspergillus sp* apresentou capacidade para remoção de fenol em água residuária sintética com adição de glicose como fonte primária de carbono, alcançando valores de remoção em torno de 80% para um tempo de detenção hidráulico de três dias.

O uso de glicose favorece a remoção de fenol no intervalo de tempo estudado, porém os tempos de detenção hidráulicos utilizados ainda são grandes assim como as concentrações de fenol utilizadas são bastante baixas em relação aos níveis encontrados nos resíduos industriais.

Os resultados ainda permitem dizer que a remoção de compostos fenólicos é viável em reator em batelada, devendo ainda ser estudadas concentrações maiores de fenol, TDH menores e outras fontes de carbono como fonte primária.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th edition. American Public Health Association. Washington, DC. USA. 1998.
2. MORITA, Dione M.; LEITE, J. V.; COSTA, A. J. M. P. da; FERRARESI, G. N.; SOBRINHO, P. A. Avaliação da toxicidade do fenol ao tratamento biológico de águas residuárias de coquearias pelo método do “fed-batch reactor” (fbr) modificado. 19º Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental, Rio de Janeiro, 1997.
3. OLIVEIRA, E.C.; FELIX, J.P.L.; LEITÃO, R.C.; MELO, V.M.M.; SANTAELLA, S.T. Sandra Tédde . Degradação de por fungos presentes em águas residuárias e refinarias de petróleo. 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. 2007.
4. RIBEIRO, R.R.; LIMA, A. P.; GINORIS, Y. P.; COELHO, M. A. Z. Remoção biológica de fenol e nitrogênio amoniacal de efluentes em reator batelada seqüencial. VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. Rio de Janeiro, 2005.
5. RODRIGUES, Kelly Araújo. Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética. Tese de Doutorado em Engenharia Civil. São Paulo, 2006.
6. RODRIGUES, K. A.; SAMPAIO, G.M.M.; ZAIAT, M. SANTAELLA, S.T. Biodegradação de fenol por *Aspergillus niger* em água residuária sintética. 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. 2007.

AGRADECIMENTOS

A FAPEAM pelo apoio financeiro ao Projeto de Iniciação Científica, agradecemos ainda, o contínuo apoio do IFAM.