Utilização de Fungos na Degradação de Compostos Fenólicos de Derivados de Petróleo

Thariny Farias[1], Elton Alves[1], Igor Costa[2], Libertalamar Saraiva[3], Renato Barreto[3], Sônia M. M. Lima[3]

[1]Alunos do curso de Tecnologia em Processos Químicos. Bolsista CNPq .IFAM. e-mail: thariny_farias@hotmail.com
[2]Aluno do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas. Apoio técnico - IFAM. e-mail: biofarma12@gmail.com
[3]Professores do IFAM.. e-mail: liberta.saraiva@gmail.com

Resumo: As atividades em postos de abastecimento de combustível além dos e efluentes gerados em lavagens de automóveis e outras limpezas podem constituir fontes de materiais tóxicos como o benzeno e seus derivados. Os compostos fenólicos são acumulados nos corpos de água receptores e causam aumento da demanda de oxigênio. Os fungos representam uma alternativa no tratamento de efluentes que possuem compostos aromáticos recalcitrantes, como fenol e derivados. O presente trabalho propôs estudar a degradação de compostos fenólicos em efluente de postos de gasolina pela ação dos fungos *Aspergillus sp. e Trichoderma sp.* em um reator em batelada. O reator foi operado por 60 dias, com tempo de retenção de quatro dias, atingindo em sessenta dias 43% de eficiência de remoção em DQO. Os resultados obtidos, mesmos ainda incipientes em função do tempo de operação do reator, mostram o potencial dos microrganismos na degradação de efluente de posto de combustível. E a adaptabilidade ao meio, que foi observada pelo grande crescimento dos microrganismos.

Palavras–chave: Compostos Fenólicos, Efluente, Petróleo, *Aspergillus sp., Trichoderma sp*

1. INTRODUÇÃO

O envolvimento de postos revendedores de combustíveis com poluição ambiental refere-se, geralmente, a vazamentos dos tanques de armazenagem subterrâneos. No entanto, as próprias atividades de abastecimento de veículos, transferência do combustível dos caminhões para os tanques subterrâneos e troca de óleo também podem constituir fontes de contaminantes, além dos e efluentes gerados em lavagens de automóveis e outras limpezas que podem conter óleos, graxas, sabões, material argiloso em suspensão.

Dentre os diferentes tipos de poluentes tipicamente atribuídos às atividades humanas, os produtos de petróleo são um dos mais relevantes em razão de seu potencial tóxico. Esta toxicidade é atribuída à presença de substâncias como benzeno e seus derivados, além de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, como os compostos fenólicos (MARTINS *et al*,2007).

Os compostos aromáticos apresentam características recalcitrantes e são altamente tóxicos e acumulam-se nos corpos de água receptores e causam aumento da demanda de oxigênio. A problemática do descarte é decorrente do fato de que muitos desses poluentes se encontram dissolvidos no efluente e, portanto, não podem ser removidos por processos físicos convencionais. Estes compostos são encontrados em diferentes concentrações em diversos tipos de águas residuárias de indústrias, tais como, as de azeite de oliva, química, farmacêutica, corantes, pesticidas, solventes, destilarias de vinhos, de resinas, de papel e outros (ALBUQUERQUE, 2000).

Os compostos fenólicos são encontrados no meio ambiente como resultado da decomposição de substância húmicas, lignicas e taninos em concentração menores que os gerados pelas atividades antrópicas, TIMUR et al (2004). Além disso, os resíduos de compostos fenólicos são os de maior potencial poluidor, em virtude de suas características ácidas, tóxicas e bactericidas. Estes compostos fenólicos, geralmente apresentam-se em efluentes industriais em altas concentrações e sua remoção é onerosa e de difícil depuração pelo meio ambiente.

Os compostos fenólicos são acumulados nos corpos de água receptores e causam aumento da demanda de oxigênio. A problemática do descarte é decorrente do fato de que muitos desses poluentes se encontram dissolvidos no efluente e, portanto, não podem ser removidos por processos convencionais. A oxidação biológica tem se revelado como uma forma efetiva para a remoção de

ISBN 978-85-62830-10-5

compostos fenólicos de efluentes industriais e domésticos. A atividade microbiana destaca-se como importante fator na eliminação de poluentes químicos, pois tanto bactérias quanto fungos têm desenvolvido mecanismos de sobrevivência na presença de compostos aromáticos em concentrações consideradas tóxicas. Os fungos representam uma alternativa no tratamento de efluentes que possuem compostos aromáticos recalcitrantes, como fenol e derivados (TRABULSI, 2002; RODRIGUES, 2004).

Embora os fungos tenham um crescimento mais lento possuem a vantagem de se ramificarem rapidamente no meio através das enzimas secretoras, além de tolerarem a maioria das substâncias tóxicas. Uma espécie fúngica é capaz de produzir vários tipos de enzimas, o que torna este microrganismo de interesse relevante para remoção de compostos fenólicos. Além disso, os fungos são organismos capazes de suportar mudanças bruscas na concentração de matéria orgânica, são capazes de tolerar grandes variações no pH, temperatura, além de suportar a escassez de umidade e de oxigênio, dando viabilidade ao trabalho.

Este trabalho teve por objetivo a utilização dos fungos *Aspergillus sp. e Trichoderma sp.* na degradação de efluente de posto de abastecimento de combustíveis em reator em batelada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi desenvolvido nos laboratórios de Análise e Controle Ambiental e Microbiologia da Gerência de Química no Campus Manaus Centro do IFAM. E divididu-se em etapas experimentais:

CONSTRUÇÃO DO REATOR DE BANCADA

Na construção utilizou-se um tubo de acrílico de 100 mm de diâmetro, 500 mm de altura, 3 mm de espessura, com volume útil total de 3,7 L (Figura 1).

O sistema operacional constituiu-se de reservatórios para o afluente e o efluente, válvula de saida de água (tipo lavadora), mangueiras flexíveis. E, foi controlado utilizando o software Kemo Relais Timer (Figura 1) por porta paralela (é uma interface de comunicação utilizada para enviar e receber dados entre o computador e um periférico), sistemas de placa de circuito com leds e cabo conector instalados em um computador. O reator foi protegido com insulfilm para evitar fotodegradação dos compostos fenólicos.

Figura 1. Reator; Software Kemo Relais.

EFLUENTE SEMI-SINTÉTICO

O preparo do efluente semi-sintético foi realizado nos Laboratórios de Controle Ambiental e Físico-Química do IFAM, Campus Manaus Centro, com concentração baseada em Silva 2002, conforme Tabela 1. Modificando-se o valor em fenol puro por uma concentração de 2% de gasolina e 1% de etanol simulando um efluente de posto de gasolina.

Em um intervalo de 4 dias retirava-se 2L do efluente e ajustava-se o pH 4 ± 5 com ácido clorídrico e a glicose era adicionada numa porção de 100 mg/L.

Foram feitas as análises em um período de 60 dias, com as mesmas condições e concentrações iniciais, para facilitar a observação da degradação nesse período de tempo.

Tabela 1 - Composição do efluente semi-sintético

Compostos	Concentração mg/L
NH_4Cl	**76,1**
NaCl	**10,1**
KCl	**4,7**
$Na_2HPO_4.12H_20$	**46,2**
$NaHCO_3$	**243,3**
$MgSO_4.7H_2O$	**16,7**
$ZnSO_4$	**0,2**
$MnSO_4.\ H_2O$	**0,2**
$CuSO_4$	**0,2**
$FeCl_3.6H_2O$	**0,2**
Gasolina	**2%**
Etanol	**1%**
Clorofórmio	**1%**
Glicose	**100**

INOCULAÇÃO DOS MICRORGANISMOS

Os microrganismos escolhidos para o trabalho foram as espécies *Aspergillus sp.*(Figura 2) e *Trichoderma sp.* (Figura 3), por já terem sido empregados com êxito na remoção de efluentes contendo fenol e compostos derivados e por haver cepas disponíveis no acervo do IFAM. As cepas foram cultivada em meio sólido Ágar Batata, a temperatura de 28°C, durante 7 dias em tubos inclinados, para então serem utilizados como fonte de esporos, no reator. Os conídios da linhagem de *Aspergillus sp.* e *Trichoderma sp.* foram suspensos em água destilada esterilizada e a suspensão obtida foi ajustada para 2 x 10^6 esporos/mL para ser inoculada no reator.

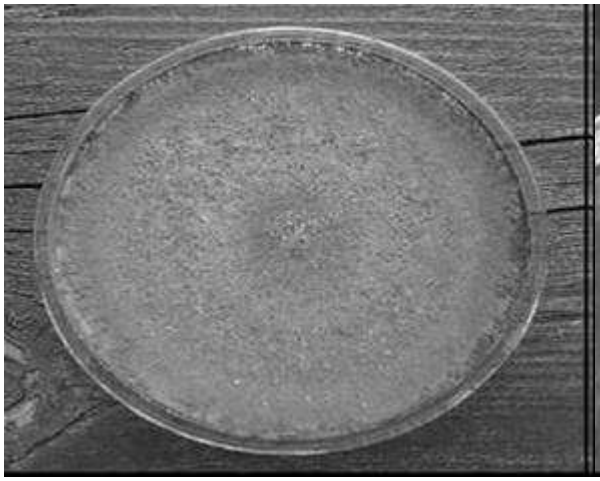

Figura 2 - *Trichoderma sp.*

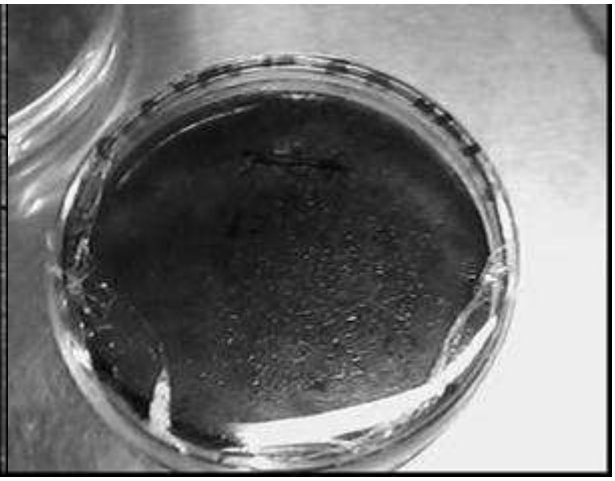

Figura 3 - *Aspergillus sp.*

CONTROLE OPERACIONAL

O reator foi operado em batelada com leito submerso, tempo de detenção hidráulica de quatro dias, com vazão de 2L e com ajuste de pH entre 4 e 5, valores óptimos para os microrganismos. A temperatura ambiente foi mantida 28±2ºC. O oxigênio dissolvido dentro do reator foi mantido em 2mg/L por meio de compressor tipo aquário.

Os parâmetros foram avaliados segundo a variação de concentração de Demanada Química de Oxigênio (DQO) no afluente e no efluente mantendo-se as mesmas condições do processo. As análises seguiram as metodologias do Standard methods for the examination of the water and wastewater (APHA, 1998).

CONTROLE DE BIOMASSA

Adicionou-se clorofórmio ao efluente para inibir o crescimento de bactérias, e após o término das análises retirou-se amostras das partes sólidas, líquidas e da biomassa para verificar a incidência ou não de contaminantes no reator. As amostras foram cultivadas em meio sólido Ágar Batata.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O reator foi operado por 60 dias, sendo alimentado com 2L a cada quatro dias coletando-se as amostras de entrada e saída em DQO, já que a utilização de um efluente semi-sintético com derivados do petróleo contém compostos orgânicos mais complexos que o fenol. Observou-se também a formação de espuma e grande crescimento de fungos. Isto comprova que as espécies utilizadas no experimento conseguem sobreviver e degradar o resíduo avaliado. Cunha *et al* (2007) observaram uma boa adaptação quando trabalharam com várias espécies de Candida.

Pelos resultados mostrados nas figuras 4 e 5 pode-se observar que a aclimatação dos microrganismos ao resíduo líquido foi de quatro dias. A partir daí observa-se o crescimento gradativo de degradação atingindo em sessenta dias 43% de eficiência de remoção (Figura 5).

Passos (2006) obteve degradação total de fenol por uma nova linhagem de *Aspergillus sp* até uma concentração de 989±15mg/L, com diferentes velocidades de reação com 72 horas para degradar 320±0,57 mg/L de fenol.

Saraiva et al (2011) obteve em uma concentração de 600 mg/L de fenol uma degradação média de 73% em reator sequencial em batelada com *Aspergillus sp.* e *Trichoderma sp.*

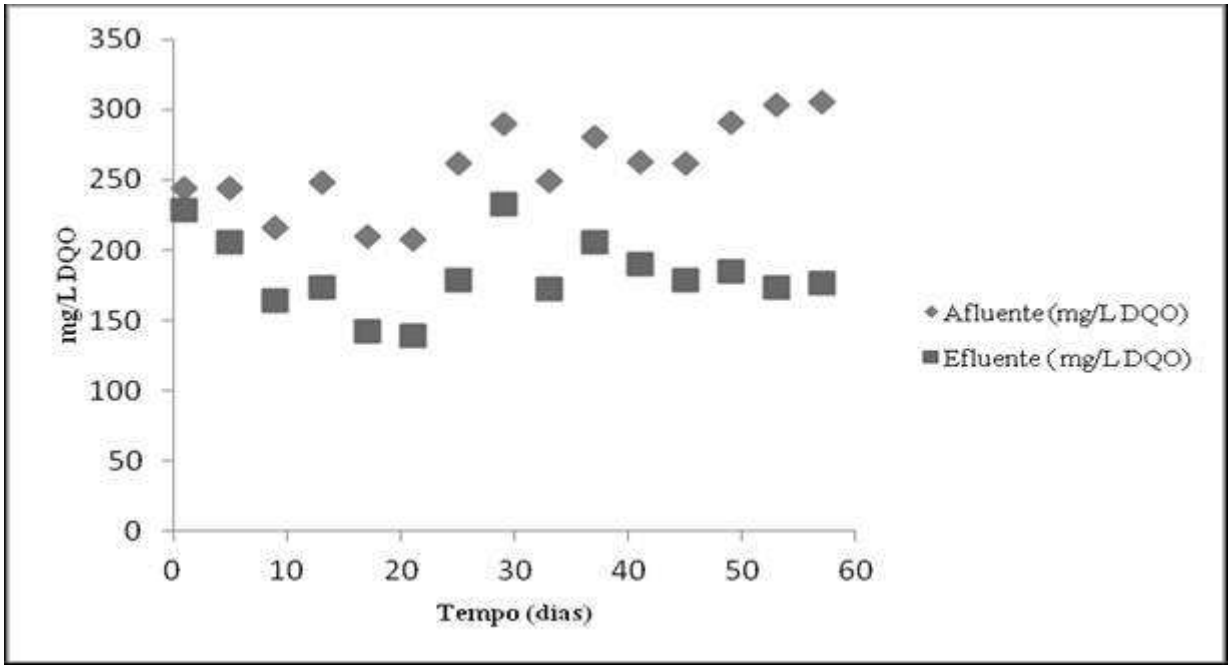

Figura 4 - Resultados afluente e efluente na análise de DQO.

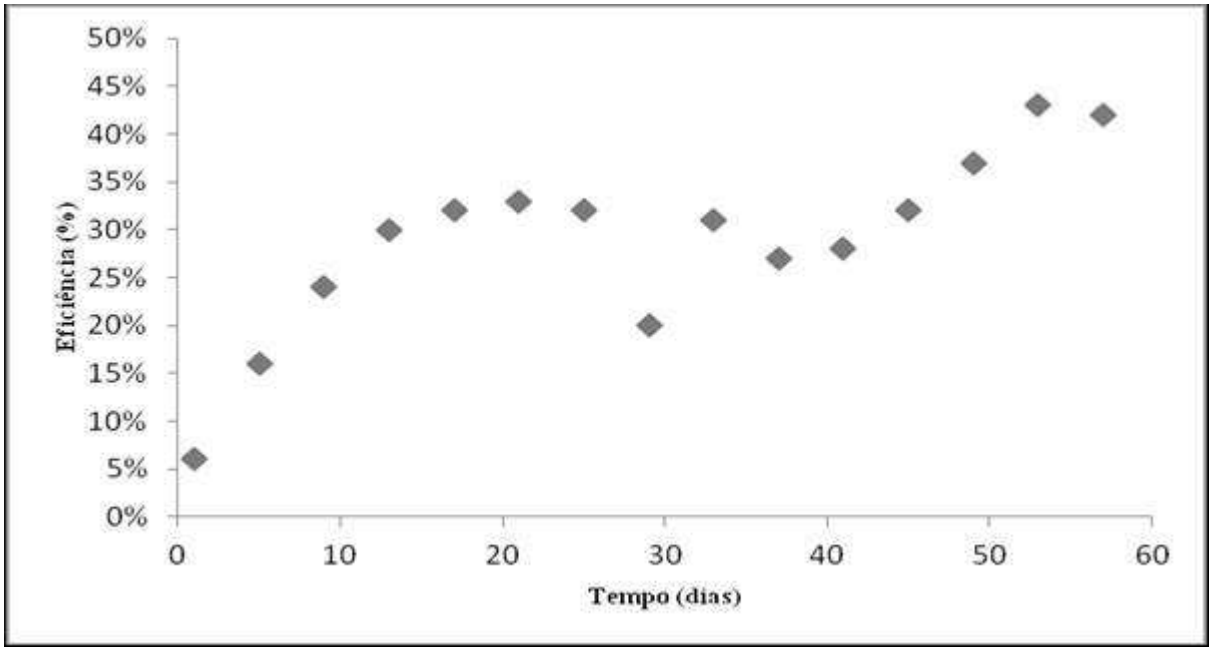

Figura 5 - Eficiência da remoção de DQO

No controle de biomassa retirou-se amostras das fases líquida, sólida e do biofilme e foi observada contaminação (Figura 6), que também pode ser observada em trabalhos anteriores.

Figura 6 - Placas com amostras das fases sólida, líquida e biofilme, respectivamente da esquerda para a direita.

Na placa com amostra sólida pode-se observar a amostra e o contaminante; na placa com amostra líquida é bem visível a contaminação; e na amostra do biofilme, como o esperado houve crescimento dos fungos *Aspergillus sp.* e *Trichoderma sp*. juntamente com alguns resquícios do contaminante.

Os resultados da caracterização microbiológica dos contaminantes levam a crer que os fungos encontrados no biorreator são leveduras pertencentes ao gênero *Candida*. Porém, vale ressaltar que tais resultados não são definitivos, pois a identificação laboratorial de leveduras compreende várias provas fisiológicas (assimilação de açúcares e diferentes fontes de nitrogênio) que não foram realizadas nessa pesquisa. Adicionalmente, é possível que outros microrganismos (incluindo fungos filamentosos) possam ser isolados dessas mesmas amostras, caso sejam modificadas algumas condições de cultivo.

Através da análise destas amostras, foi possível verificar que as diferentes amostras apresentam microbiota mista, porém com algumas semelhanças entre si. É provável que ocorra uma sucessão de microrganismos no efluente ao longo do tempo.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, mesmos ainda incipientes em função do tempo de operação do reator, mostram o potencial dos microrganismos na degradação de efluente de posto de combustível. E a adaptabilidade ao meio, que foi observada pelo grande crescimento dos microrganismos.

Há que observar na continuação do trabalho a formação de espuma o que em reatores industriais podem ser considerados problemas e as contaminações por outros microorganismos.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo incentivo financeiro.

Ao IFAM pelo apoio e suporte tecnológico, sem o qual seria impossível a realização desse trabalho.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, A.F. Biodegradação de compostos fenólicos incorporados em areia de moldagem utilizando microrganismos do solo**.** Campinas: UNICAMP, 2000. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil na área de concentração Saneamento), Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas, 2000.

APHA. STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF THE WATER AND WASTEWATER. 20° edição, EUA Maryland: American Public Health Association, 1998.

CUNHA, E. et al. DEGRADAÇÃO DE FENÓIS POR FUNGOS PRESENTES EM ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE REFINARIAS DE PETRÓLEO. 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental - II 135. 2007.

MARTINS, Cynthia Rodor de Oliveira. Avaliação da estrutura dos postos de revenda de combustíveis do Distrito Federal quanto à geração de resíduos aliada a análise de sua citotoxicidade e genotoxicidade. 2007. 139 f., il. Tese (Doutorado em Biologia Animal)-Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

PASSOS, C. T. Estudo da biodegradação do fenol por uma nova linhagem de *Aspergillus sp*. Dissertação de Mestrado em Engenharia e Ciência dos Alimentos- FURG – 2006.

RODRIGUES, K. A. **Empregos de fungos para remover fenóis presentes em águas residuárias.** Relatório Técnico. Fortaleza, 2004.

SANTAELLA, S. T.; CAMPOS, J. R.; LINARES, T. L (1996). Degradação de fenóis por fungos presentes em águas residuárias de refinarias de petróleo.In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRI E AMBIENTAL, 23, 2007. **Revista Sanitária e Ambiental**.

SARAIVA, Libertalamar; CARVALHO, Ana Paula; LIMA,Sônia. Oxidação biológica de compostos orgânicos fenólicos em reator em batelada utilizando resíduo de cupuaçu como fonte de carbono indutor. Manaus-AM: IFAM.2011.

SILVA, I.E.C.; LUDWIG, K.V.F.; NEUMANN, D.; SCHNEIDER, A.C.; ONOFRE, S.B.; Fungos degradadores de compostos fenólicos isolados de águas residuárias de postos de combustíveis. **Revista de Biologia e Saúde da UNISEP. Biology & Health Journal** – v.1, n.1, 2. 2002.

TIMUR. S. PAZARLIOGLU, N., PLIIOTON, R. TELEFONCU.A.,(2004). Tic film sensor base don lacceses from different sources emmobilized en polyaniline matriz. Sensors and Actuaors. 1992.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. Microbiologia. 3 ed. – São Paulo: Editora Atheneu, 2002.

VASCONCELOS, Daniela et al. Tratamento de efluentes de postos de combustíveis para o reúso usando processos oxidativos avançados. Cadernos UniFOA, edição 11. 2009.