

REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA DE EFLUENTE DE INDÚSTRIA FARMACÊUTICA EM REATORES EM BATELADA AERADA COM INÓCULO DE *Aspergillus niger* AN400

Raquel MARTINS (1); Eloiza DAMASCENO (2); Isabel MOREIRA (3); Kelly RODRIGUES (4); Glória MARINHO (5)

(1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE, Avenida Contorno Norte, 1800, Conjunto Esperança, e-mail: raquel.cefetce@yahoo.com.br

(2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE, e-mail: eloizapd@hotmail.com

(3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE, e-mail: isabel_belcris@hotmail.com

(4) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE, e-mail: kelly@ifce.edu.br

(5) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE, e-mail: gloriamarinho@ifce.edu.br

RESUMO

A indústria farmacêutica acarreta a geração de uma quantidade significativa de resíduos potencialmente poluidores. Ao serem lançados em corpos d'água, os efluentes das indústrias farmacêuticas provocam desequilíbrio no ambiente, por transportarem compostos de difícil degradação. No intuito de minimizar os impactos causados pelos despejos dos efluentes desta atividade industrial, torna-se prioritário estudar a biodegradabilidade de tais resíduos. Esta pesquisa teve como proposta avaliar reatores em batelada aerada inoculados com *Aspergillus niger* AN400 no tratamento biológico de efluente industrial farmacêutico. A pesquisa foi desenvolvida em três fases: cultivo/contagem dos esporos, montagem e operação dos reatores. Para o estudo foram utilizados três reatores, sendo: um de controle (RC), contendo apenas o efluente e dois reatores contendo o efluente mais a espécie fúngica, adicionado de 0,5 mg/L de glicose (RFG). Os tempos de reação investigados correspondem a períodos de 0 h, 1 dia, 3 dias, 6 dias, 9 dias, 12 dias e 15 dias. As variáveis analisadas foram: pH (potencial hidrogeniônico), DQO (Demanda Química de Oxigênio) e SSV. Os resultados obtidos na operação dos reatores foram: DQO, 92% no 9^a dia de reação e 90% ao final do experimento. O tratamento proposto mostrou-se uma boa alternativa para a melhoria da qualidade do efluente gerado pela indústria farmacêutica estudada.

Palavras-chave: tratamento biológico, reatores em batelada, efluente farmacêutico, *Aspergillus niger* AN400

1 INTRODUÇÃO

O impacto da poluição química, durante as últimas décadas, tem focado quase que exclusivamente nos poluentes convencionais, especialmente nos agrotóxicos/carcinogênicos e intermediários industriais que mostram persistência no meio ambiente (DAUGHTON *et al.* 1999). Este espectro de produtos, entretanto, é somente uma parte do potencial poluente. Os fármacos pertencem a um grupo de substâncias que, até recentemente, tem sido expostos ao meio ambiente com muito pouca atenção. A razão pela qual eles podem ser micropoluentes é porque os estes são desenvolvidos com a intenção de desempenhar um efeito biológico, ou seja, são lipofílicos, capazes de passar pelas membranas, e são persistentes, pois não são inativados antes de ter o efeito de cura. Assim, os fármacos têm muitas propriedades necessárias para bioacumular e provocar efeitos nos ecossistemas aquáticos e terrestres (SORENSEN *et al.* 1998).

Estima-se que aproximadamente metade das águas residuais de indústrias farmacêuticas produzidas em todo o mundo são descartadas sem passar por um tratamento específico (ENICK E MOORE, 2007).

Uma importante rota de entrada de produtos farmacêuticos no meio aquático é a descarga de resíduos indústrias controlados. Uma vez que os tratamentos convencionais parecem não ser eficientes na degradação de fármacos, a remoção destes efluentes deve ser considerada uma prioridade. Desta forma, a sua dispersão no ambiente seria consideravelmente atenuada (GONZÁLEZ, O. *et al.*, 2009).

Águas residuais da indústria farmacêutica tem sido tratadas tradicionalmente com o uso de processos físico-químicos (KULIK et al, 2008) e biológicos aeróbios (SUMAN RAJ e ANJANEYULU, 2005), pois a remoção de substâncias contidas em efluentes de indústria farmacêutica é uma tarefa difícil devido à grande variedade de substâncias químicas produzidas nesta atividade, o que conduzirá a águas residuais de composição variável (MELERO et al, 2009).

Os fungos tem a capacidade de suportar possíveis choques na concentração de carga orgânica e hidráulica às quais são submetidos, e são tolerantes a variações de escassez de umidade, oxigênio e nutrientes – vantagens do emprego de fungos como inoculo de reatores biológicos (GRIFFIN, 1994). Por sobreviver e crescer em meios com concentrações elevadas de compostos recalcitrantes, os fungos vem mostrando que são capazes de degradar efluentes tóxicos, estando entre os microrganismos utilizáveis no tratamento biológico (SANTOS & LINARDI, 2004).

Estudos sobre o papel desempenhado pelos fungos no tratamento de efluentes industriais têm crescido amplamente, isso porque esses micro-organismos possuem grande potencial para degradar moléculas de alto peso molecular, como as presentes em águas residuárias de indústria de azeite de olive, de indústria têxtil de beneficiamento da castanha de caju, de laticínios, de pesticidas, com fenol, entre outras (FACÓ, 2002; GIFFONI, 2000; SÁ, 1997; SAMPAIO et al, 2004; SANTAELLA, 1999; SANTOS et al, 2006; RODRIGUES, 2006).

A presente pesquisa, na perspectiva de apresentar alternativa para o tratamento de efluentes farmacêutico, utilizou batelada aerada com inóculo de *Aspergillus niger* AN400.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Cultivo, produção e contagem de esporos da espécie fúngica

Os esporos de *Aspergillus niger* AN400 foram produzidos em placas de Petri estéreis contendo 15 mL de meio de cultura Sabouraud Dextrose, previamente esterilizado a 121° C, durante 15 minutos, e 1 mL de solução de Vishniac (Tabela 1), como fonte de nutrientes para os fungos. As placas permaneceram a 28° C, durante cinco dias, para o crescimento dos esporos por toda sua superfície, período após o qual os mesmos foram removidos para tubos de ensaio para posterior contagem. A remoção dos esporos das placas de Petri foi realizada com uso de alça de Drigalsky e solução de Tween 80.

Para a contagem dos esporos foi preparada uma solução de esporos utilizando 50 µL de suspensão, previamente agitada em agitador tipo Vórtex, acrescido de 950 µL de solução Tween 80, resultando em diluição de 1:20. Em seguida, 20 µL da solução preparada foram trans-feridos para câmara de Newbauer, onde se procedeu a contagem dos esporos em microscópio óptico Bioval com aumento de 400 vezes.

Tabela 1 – Composição química da Solução de Vishniac empregada nesta pesquisa

Produto Químico	g/L de solução
EDTA – Etileno diamino tetracético	10,00
ZnSO₄ . 7H₂O	4,40
MnCl₂ . 4H₂O	1,00
CoCl₂ . 6H₂O	0,32
(NH₄)₆Mo₇O₂₄ . 4H₂O	0,22
CaCl₂ . 2H₂O	1,47
FeSO₄ . 7H₂O	1,00

2.2 Água residuária

A água residuária utilizada foi coletada do Laboratório Madrevida, localizado em Fortaleza-CE e acrescida de 1 mL/L de Vishniac (solução de nutrientes), a fim de dotá-la de melhores condições nutricionais para os fungos.

2.3 Montagem e operação dos reatores em batelada aerada

Neste experimento foram utilizados três baleiros (reatores), cada um com volume total de 2,5 L, e volume útil de 2 L. Os três reatores em batelada foram montados e divididos em dois lotes: um reator de controle (RC) contendo apenas a água residuária e dois reatores com fungo e glicose (RFG1 e RFG2) contendo a água residuária, 0,5 g/L de glicose e o inóculo de *Aspergillus niger* AN400, na forma de solução de esporos, na concentração de 8×10^8 esporos/mL.

O experimento foi realizado durante 15 dias, ocorrendo a retirada de alíquotas nos tempos: 0 h; 1 dia; 3 dias; 6 dias; 9 dias; 12 dias e 15 dias, para a determinação das variáveis: Demanda Química de Oxigênio (DQO), pH e Sólidos Suspensos Voláteis (SSV), executadas de acordo com APHA (2005).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A variação de pH ao longo do experimento é apresentada na Figura 1. Houve diminuição do pH em todos os reatores estudados, contudo os valores menores de pH foram apresentados pelos reatores RFG devido à maior produção de ácidos orgânicos, a partir do consumo de glicose, conforme relatado por Assas et al (2002).

Assas et al (2002) obtiveram resultados semelhantes na utilização de *Geotrichum candidum* no tratamento do efluente da indústria de azeite de oliva e a diminuição do pH foi atribuída à geração de ácidos orgânicos. Da mesma forma, Rodrigues et al (2006) ao empregar água residuária sintética com fenol em reatores com *Aspergillus niger* e *Fusarium sp.* observaram redução inicial nos valores de pH, sendo que nos reatores que dispunham de glicose a diminuição do pH foi mais rápida em relação aos demais reatores, como reflexo de atividade microbiana mais intensa.

De acordo com Kyriacou et al (2005), menores valores de pH são alcançados como resultado da atividade metabólica de *Aspergillus niger*. Maior produção de biomassa de *A. niger* foi obtida por O'Donnell et al (2001) em pH 3 (5,1 g/L), registrando-se valores menores em pH 7 (1,9 g/L), fora da faixa ótima de pH para o crescimento da espécie, ao investigar o efeito do controle do pH sobre a atividade de enzimas proteases.

Nesse trabalho, observou-se que o pH diminuiu no 1º e 3º dia de batelada, quando o crescimento de biomassa atingiu os valores máximos, passando a apresentar início de fase endógena no último dia, motivado pela exaustão de nutrientes no meio. No final do experimento, o pH manteve-se constante em relação aos 4 últimos dias, com valores em torno de 9.

O processo de fermentação favorece a produção de ácidos orgânicos (Fadil et al, 2003) e, em função da concentração de glicose no meio, pode ocorrer alteração da via oxidativa de respiração aeróbia para fermentação (Griffin, 1994). Segundo Fadil et al (2003), com o consumo dos ácidos gerados na fermentação, o pH tende a subir, voltando a valor próximo do inicial. Assim, a presença de glicose propiciou o aumento de biomassa no interior dos reatores RFG, caracterizada pela grande variação de SSV e, conseqüentemente, teria ocorrido maior produção de ácidos orgânicos nesses reatores, refletida nos menores valores de pH, como medida de atividade microbiana mais intensa.

Wen et al. (2010), utilizando *Phanerochaete chrysosporium* para degradação de efluente farmacêutico sintético, observaram predominância de uma faixa de pH ácida durante sua pesquisa; diferentemente do observado, neste experimento os reatores mantiveram uma faixa básica, provavelmente decorrente da produção de amônia ocorrida ao longo do experimento.

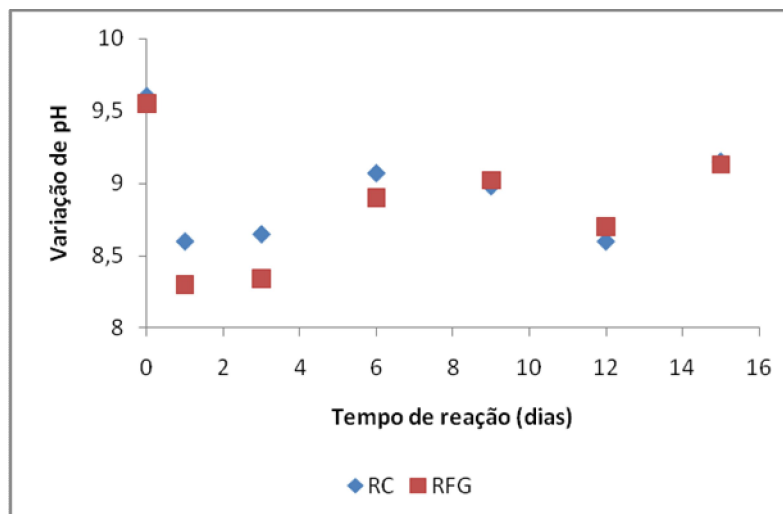


Figura 1 – Variação do pH nos reatores em batelada aerada

Na Figura 2 é apresentada a variação da concentração de matéria orgânica, medida em termos de DQO, sendo o percentual de remoção, mostrada na Figura 3.

O uso de glicose favoreceu a obtenção de maiores reduções da concentração de matéria orgânica. No reator RFG, no último dia do experimento, a concentração da matéria orgânica era inferior a 150 mg/L, concentração mínima detectável pelo método, tendo-se obtido 90% de remoção.

De acordo com Rodrigues (1999), eficiências menores podem ser apresentadas na partida (start) do reator, devido ao estágio inicial de formação do biofilme e da adaptação dos microrganismos ao meio (fase lag). Em tempo, a eficiência de remoção de matéria orgânica aumentou progressivamente ao longo da batelada, indicando a boa adaptação dos fungos que colonizaram os reatores.

A glicose proporcionou aos fungos melhores condições para o crescimento, como mostrado na Figura 4, promovendo uma adaptação dos micro-organismos ao efluente, resultando em maior crescimento de biomassa e, conseqüentemente, melhor eficiência de remoção de DQO. No reator RFG também houve uma diminuição do valor de SSV nos últimos dias de reação. Essa diminuição da biomassa após alcançar um crescimento máximo ocorreu, provavelmente, devido à exaustão de nutrientes no meio.

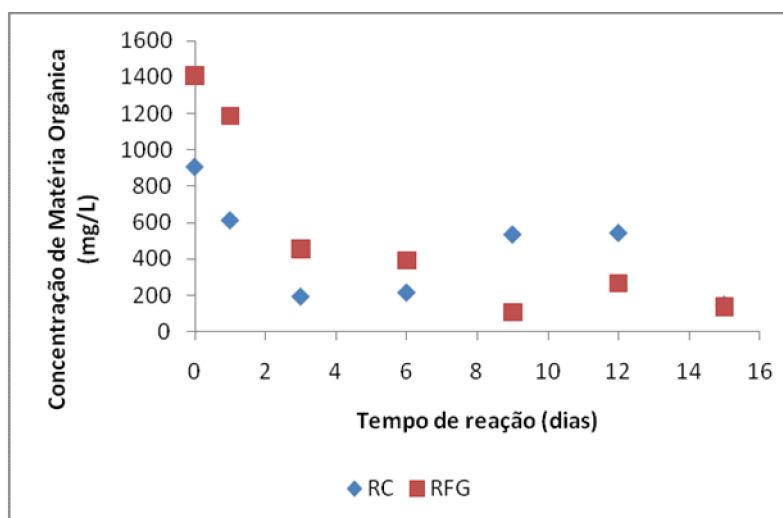


Figura 2 – Concentração de Matéria Orgânica (mg/L) nos reatores em batelada aerada

No 12^a dia houve um aumento na concentração de matéria orgânica, esse aumento pode ser atribuído à substâncias excretadas no meio pelos microrganismos, as quais não foram determinadas. A excreção de metabólitos durante a síntese de produção de biomassa é relatada por Witteveen (1993). Segundo o autor, a fonte de carbono disponível, ao ser utilizada pelos fungos na síntese de biomassa, produz energia e metabólitos que podem ser acumulados no interior da célula ou excretados. Desta forma, a excreção de metabólitos é a o resultado das reações de síntese na assimilação do substrato, como também observado por Souza et al. (2005).

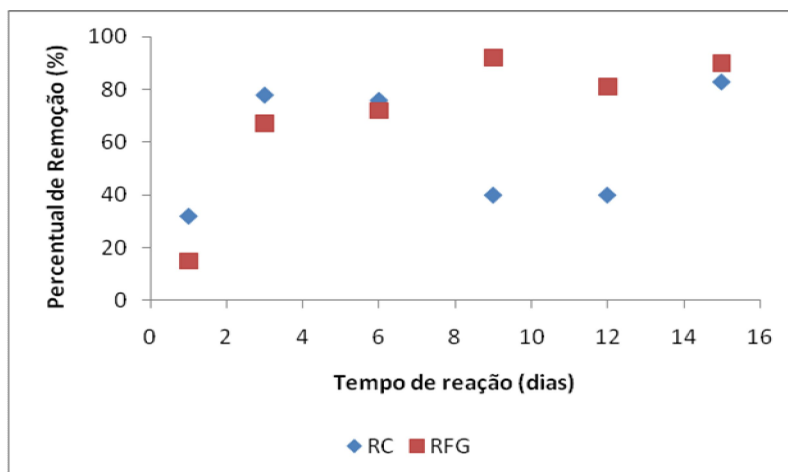


Figura 3 – Percentual de Remoção de Matéria Orgânica (%) nos reatores em batelada aerada

O crescimento máximo foi alcançado no 3^o dia no RFG, após o qual houve diminuição de biomassa, provavelmente ocasionada pela exaustão de nutrientes no meio. Nesse reator, a biomassa apresentava-se sob a forma de pequenas esferas aglutinadas que formavam pequenos blocos compactos, cujo aspecto foi atribuído ao estímulo da produção de polissacarídeos pelo uso de glicose que é um composto essencial para suprimento da fonte de carbono e produção de macromoléculas como polissacarídeos, proteínas e lipídios, compostos que favorecem também o acúmulo de peso seco (COSTA et al., 2004).

Semelhantemente a Rodrigues et al. (2006), que obtiveram, em experimento em batelada, biomassa disforme e aglutinada de *Aspergillus niger* e *Fusarium sp.* ao utilizar água residuária sintética idêntica à empregada nessa pesquisa em reatores em batelada com agitação por meio de mini-compressores de ar e sem controle de temperatura.

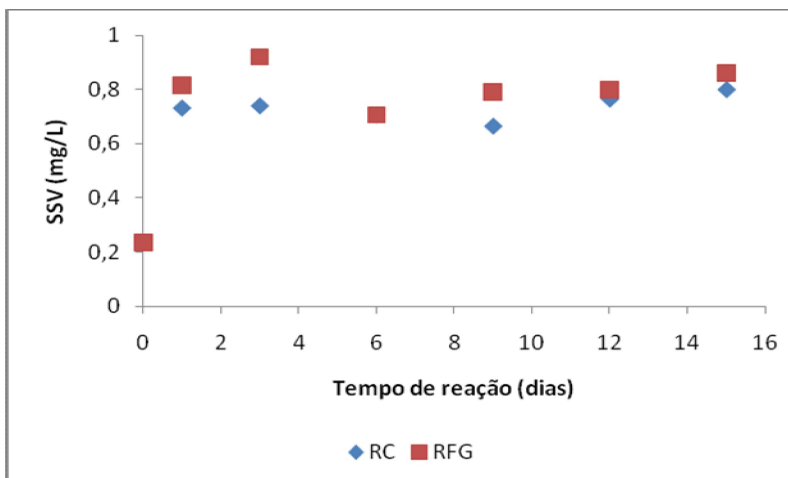


Figura 4 – Concentração de SSV (mg/L) nos reatores em batelada aerada

4 CONCLUSÃO

A tecnologia empregada com reatores em batelada aerada mostrou-se viável à degradação de água residuária de indústria farmacêutica, alcançando percentual de remoção de DQO de 90%.

REFERÊNCIAS

- APHA/AWWA/WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21st edition. Washington, D.C. American Health Association, 2005.
- ASSAS, N., AYED, L., MAROUANI, L., HAMDI, M. **Decolorization of fresh and stored-black olive Mill wastewaters by *Geotrichum candidum***. *Process Biochemistry*. 38: 361 – 365, 2002.
- COSTA, J. M., CORBELLINI, V. A., SCROFERNEKER, M. L. **Study of different nitrogens sources on glucose uptake and production of melanin precursors and fungal mass of *Fonsecaea pedrosoi* cultered in tricyclazole**. *Process Biochemistry*. 39: 633 – 636, 2004.
- DAUGHTON, C.G.; TERNES, T.A. **Environ.** *Health Perspectives*, 1999. 107, 907 p.
- FACÓ, A. M. **Tratamento biológico de percolado de aterro sanitário através de processo biológico com fungos**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2002.
- FADIL, K., CHAHLAOUI, A., OUAHBI, A., ZAID, A., BORJA, R. **Aerobic biodegradation and detoxification of wastewaters from the olive oil industry**. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2003. 51:1: 37 – 41.
- GIFFONI, D. A. **Filtros biológicos aplicados ao tratamento de água residuária sintética de laticínios**. Fortaleza, 159p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental, Universidade Federal do Ceará), 2000.
- GONZÁLEZ, O., ESPLUGAS, M., SANS, C., TORRES, A. ESPLUGAS, S. **Performance of a Sequencing Batch Biofilm Reactor for the treatment of pre-oxidized Sulfamethoxazole solutions**. *Water Research*, 2009. n. 43, p. 2149 – 2158.
- GRIFFIN, D. H. **Fungal Physiology**. 2. ed. New York: Wiley-Liss, 1994. 458 p.
- KULIK, N., TRAPIDO, M., GOI, A., VERESSININA, Y., MUNTER, R. **Combined chemical treatment of pharmaceutical effluents from medical ointment production**. *Chemosphere*, 2008. 70, 1525–1531 p.
- KYRIACOU, A. et al. **Combined bioremediation and advanced oxidation of green table olive processing wastewater**. *Process Biochemistry*, v. 40, p. 1401-1408, 2005.
- MELERO, J.A., MARTÍNEZ, F., BOTAS, J.A., MOLINA, R., PARIENTE, M.I. **Heterogeneous catalytic wet peroxide oxidation systems for the treatment of an industrial pharmaceutical wastewater**. *Water Research*. doi: 10.1016/j.watres.2009.04.012, 2009.
- O'DONNELL, D., WANG, L., XU, J., RIDGWAY, D., GU, T., MOO-YOUNG, M. **Enhanced heterologous protein in *Aspergillus niger* through pH control of extracellular protease activity**. *Biochemical Engineering Journal*, 2001. 8: 187 – 193.
- SANTAELLA, S. T. **Estudos de tecnologias apropriadas para tratamento de efluentes da indústria de castanha de caju**. Fortaleza: UFC, Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, 31p. (Relatório Institucional de Pesquisa), 1999.
- SUMAN Raj, D.S., ANJANEYULU, Y. **Evaluation of biokinetic parameters for pharmaceutical wastewaters using aerobic oxidation integrated with chemical treatment**. *Process Biochemistry*, 2005. 40 (1), 165–175 p.
- RODRIGUES, K.A. **Tratamento biológico de água residuária sintética de laticínios por decomposição fúngica**. 113f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.

RODRIGUES, K. de A. **Uso de reatores biológicos com fungo para remoção de fenol de água residuária sintética.** São Carlos. Tese de doutorado – Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Carlos, 2006.

SÁ, I.M.B. **Tratamento biológico de efluente de uma indústria de laticínios por ação de fungos decompositores.** Fortaleza, 1997. 83p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará.

SANTOS, E. M. A., Sampaio, G. M. M. S., Leitão, R. C., Facó, A. M., Menezes, E. A., Santaella, S.T. **Influência do tempo de detenção hidráulica em um sistema UASB seguido de um reator biológico com fungos para tratar efluentes de indústria de castanha de caju.** Eng.Sanit. Ambiental, v.2 no. 1-jan/mar, 39-45.

SANTOS, V. L., LINARDI, V. R. **Biodegradation of phenol by a filamentous fungi isolated from industrial effluents – identification and degradation potential.** Process Biochemistry, 2004. V. 39, 1001 – 1006 p.

SORENSEN, B. H.; NIELSEN, S.N.; LANZKY, P.F.; INGERSLEV, F.; LUTZHOFT, H.C.H.; JORGENSEN, S.E. **Chemosphere**, 1998. 36, 357 p.

SOUZA, J. V., E. S. da SILVA, F. T. da Silva, T. C. B. PAIVA. **Fungal treatment of delignification effluent from a nitrocellulose industry.** Bioresource Technology, 2005. v. 96, i. 17, 1936 – 1942 p.

WEN, X.; JIA, Y.; LI, J. **Enzymatic degradation of tetracycline and oxytetracycline by crude manganese peroxidase prepared from *Phanerochaete chrysosporium*.** Journal of Hazardous Materials, 2010. v.177, 924-928 p.

WITTEVEEN, COR F. B. Gluconat Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 1993.