

BIODEGRADAÇÃO DE BENZENO NA CONCENTRAÇÃO DE 100 MG/L EM REATORES EM BATELADA COM BIOMASSA IMOBILIZADA

Zuleika PINHEIRO (1); Kelly RODRIGUES (2); Rinaldo ARAÚJO (3); Germana SILVA (4)
Glória MARINHO (5)

(1) IFCE, Rua Geraldo Neves da Silveira, 95, Lucinao Cavalante – Fortaleza CE , e-mail:

zuleika.cefetce@yahoo.com.br

(2) IFCE, e-mail: kelly@ifce.edu.br

(3) IFCE, e-mail: rinaldo@ifce.edu.br

(4) IFCE, e-mail: germana@ifce.edu.br

(5) IFCE, e-mail: gloriamarinho@gmail.com

RESUMO

O Brasil tem sido alvo de constantes pesquisas, devido à grande contaminação de águas subterrâneas por derivados de petróleo. Os maiores problemas de contaminação são atribuídos aos hidrocarbonetos monoaromáticos, que são os constituintes mais solúveis e móveis da gasolina. Estes compostos são: benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno e seus isômeros (orto-, para - e meta-) e recebem a denominação de BTEX. O uso de micro-organismos é altamente conveniente, principalmente em função da dispensa de reagentes químicos adicionais, da freqüente auto-sustentabilidade do processo e da natureza pouco poluente dos processos biológicos. No presente trabalho, foi estudada a concentração de benzeno de 100 mg/L. Foi formado um grupo de reatores em duplicata composto por: dois reatores de controle (RC); dois reatores com efluente sintético e fungos (RF) e dois reatores com efluente sintético, fungos e glicose (RFG). Os reatores foram divididos em 4 ciclos com duração de uma semana em cada ciclo, onde a cada semana o reator era alimentado com uma nova água residuária contendo as mesmas características. No final do experimento houve 100% de remoção de benzeno para o tempo reacional de 14 dias. Portanto, esta tecnologia mostrou-se viável para tratar água residuária sintética rica em benzeno.

Palavras-chave: *Aspergillus niger*, reatores em batelada, benzeno

1 INTRODUÇÃO

A proteção do meio ambiente contra agentes poluidores de origem industrial é um problema complexo para os países em desenvolvimento. Em assim sendo, torna-se necessário caracterizar as diferentes formas de contaminação do meio ambiente causada pela atividade industrial, sem restringir o desenvolvimento sócio-econômico de um país, mantendo o desenvolvimento sustentável (ARTHAUD, 2005).

O Brasil tem sido alvo de constantes pesquisas, devido à grande contaminação de águas subterrâneas por derivados de petróleo. Os maiores problemas de contaminação são atribuídos aos hidrocarbonetos monoaromáticos, que são os constituintes mais solúveis e móveis da gasolina. Estes compostos são: benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno e seus isômeros (orto-, para - e meta-) e recebem a denominação de BTEX (MONTEIRO et al. 2002).

Os tratamentos de efluentes industriais envolvem processos necessários à remoção de impurezas geradas na fabricação de produtos de interesse. Os métodos de tratamento estão diretamente associados ao tipo de efluente gerado, ao controle operacional da indústria e as características da água utilizada. Dentre os vários processos podem-se destacar os tratamentos físicos, que são caracterizados por métodos de separação de fases: sedimentação, decantação, filtração, centrifugação ou flotação dos resíduos. Além desses ainda existem processos como os de troca iônica, oxidação química, biológicos e adsorptivos (CRESPILHO et al. 2004).

A utilização de micro-organismos em processos industriais é bastante difundida, abrangendo atividades diversas, que vão desde a produção de queijos e cervejas até a síntese de novos fármacos. O uso de micro-organismos em processos de produção em grande escala é altamente conveniente, principalmente em função da dispensa de reagentes químicos adicionais, da freqüente auto-sustentabilidade do processo e da natureza pouco poluente dos processos biológicos. Esses fatores concedem aos referidos processos um grande potencial para serem aplicados em rotinas de descontaminação de efluentes (BRITO et al. 2004).

Os fungos fazem parte de um grupo de organismos cuja significância para a humanidade só foi mostrada há pouco mais de um século. Estes são importantes como o primeiro agente de decaimento nos ciclos do carbono, nitrogênio e outros nutrientes (GRIFFIN, 1994), sendo esta a razão que justificou o emprego de um sistema de tratamento de fungos.

A capacidade de sintetizar diversos compostos gera ampla variedade de aplicações tecnológicas destes micro-organismos, daí a sua utilização para os mais variados fins, inclusive para o tratamento de águas residuárias de indústrias petroquímicas. Os fungos apresentam metabolismo flexível, o que favorece a assimilação de diversos nutrientes, incluindo compostos nitrogenados (NETO, 2006). Essa flexibilidade é devida tanto à mudança no padrão do metabolismo interior dos fungos, regulando por uma variedade de enzimas, como pela alteração das vias metabólicas (JENNINGS, 1995).

As alternativas mais promissoras para a resolução dos inúmeros problemas ambientais ocasionados pela atividade industrial derivam do estudo de novas tecnologias para o tratamento de efluentes industriais. Nesse contexto, a utilização de processos biológicos baseados no uso de fungos e bactérias, ou diretamente de suas enzimas, tem aparecido como uma das alternativas de grande potencial (BRITO et al. 2004).

Esta pesquisa teve como objetivo remover benzeno de água residuária sintética empregando reatores em batelada com biomassa fungica imobilizada.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Imobilização da biomassa

Foram usados 12 erlenmeyers de vidro, com volume total de 250 mL, os quais foram esterilizados juntamente com espuma de poliuretano utilizada como meio suporte, em autoclave, durante 20 minutos a uma temperatura de 121°C. Foi acrescido 100 mL da solução de nutriente cuja composição é mostrada na Tabela 1. Os frascos foram mantidos em mesa agitadora com rotação de 200 rpm durante uma semana. Após três dias o meio nutritivo foi trocado para melhor crescimento do fungo.

Tabela 1- Composição do meio nutritivo

Constituinte	Concentração (g/L)
Sulfato férrico	0,05
Nitrato de sódio	1,00
Fosfato dihidrogeno de potássio	0,20
Sulfato de magnésio	0,25
Cloreto de cálcio dihidratado	0,01
Sulfato de cobre	0,08
Sulfato de amônio heptahidratado	2,00
Ácido molibídico	0,05
Sulfato de manganês pentahidratado	0,05
Sulfato de zinco	0,04
Glicose	2,00

2.2 Composição da água residuária

A água residuária sintética utilizada foi preparada com água de torneira, adicionada de 1 mL.L⁻¹ de Vischiniac (solução de nutrientes), 50 mg/L⁻¹ de cloranfenicol e benzeno na concentração de 100 mg/L⁻¹ por ser a concentração mínima detectada.

2.3 Montagem dos Reatores

Foram usados 12 reatores constituídos de frascos cilíndricos, em vidro, com tampa rosqueável e com volume total de 2,5 L e volume útil de 2,0 L, os quais foram previamente desinfetados com ácido clorídrico 3 M. Para cada concentração estudada (100 mg/L⁻¹) foi formado um grupo de reatores em duplicata composto por: seis reatores de controle (RC), contendo apenas a efluente sintético; seis reatores com efluente sintético e fungos na concentração de 2×10^6 esporos/mL⁻¹ (RF) e seis reatores com efluente sintético, fungos na concentração de 2×10^6 esporos/mL⁻¹ e 0,5 g/L⁻¹ de glicose (RFG).

A batelada foi dividida em 4 ciclos com duração de uma semana em cada ciclo, onde a cada semana o reator era alimentado com uma nova água residuária contendo as mesmas características.

De acordo com o tempo de reação foram retiradas alíquotas (100 mL) dos reatores a cada 24 horas, para a determinação das variáveis.

As variáveis analisadas foram: DQO, benzeno e pH, de acordo com APHA (2005), exceto benzeno, cuja determinação foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC Gilson mod. 321, equipado com detector UV-VIS), coluna Varian Microsorb – MV 100-5 C18 250 x 4.6 mm, sistema isocrático com fase móvel metanol/água (70:30 v/v), $\lambda = 260$ nm, Q = 0.075 mL/min e volume de injeção de 20 μ L.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Variação de pH

Durante todo o experimento, os reatores de controle (RC) permaneceram em uma faixa de pH entre 8,3 e 6,5. Nos reatores com fungo (RF), no início de cada ciclo os valores de pH eram em torno de 8 tendo decaimento durante o tempo reacional para 4,3. Nos reatores com fungo e glicose (RFG) assim como nos reatores com fungo, o pH teve início com valores entre 7,2 e 6,5 decaindo para os valores de até 3,5. O pH ótimo para o desenvolvimento dos fungos encontra-se na faixa entre 4 e 6 (GRIFFIN, 1994), porém a maioria dos fungos filamentosos tolera variações de pH entre 2 e 9. Os valores de pH mais adequados para a atividade de *Aspergillus niger* são aqueles próximos de 4 (DACERA e BABEL, 2008; KYRIACOU et al, 2005; MISHRA e LATA, 2004). Valor esse alcançado nesta pesquisa facilitando assim o melhor desenvolvimento do fungo e obtendo uma melhor remoção do composto estudado. A variação de pH é analisada para observar a atividade metabólica do fungo. O pH de uma cultura pode variar em razão do micro-organismo e de seu comportamento metabólico, assim como também a natureza do substrato influencia bastante na sua variação. Nesta pesquisa, o pH atingiu valores menores nos reatores RFG, indicando maior atividade metabólica nos reatores em que os fungos dispunham inicialmente de glicose pois produziam maior quantidade de ácidos orgânicos, a partir do consumo do substrato primário. Cai et al. (2007), ao avaliar a degradação de fenol por *Fusarium* sp. sob diferentes valores de pH, verificou que esta espécie foi capaz de degradar completamente 420 mg.L⁻¹ de fenol em oito dias de incubação com pH de 4 a 8, enquanto que, com pH 2, a degradação completa levou mais tempo e, com pH 10, não houve crescimento do fungo mais uma vez mostrando a influência do pH sobre a degradação do poluente. Andrade et al. (2008) avaliando a remoção de fenol em reatores em batelada, alcançou valores de pH entre 2 e 4. Segundo os autores, isso mostra o reflexo da atividade de biodegradação do fenol, visto que, quando metaboliza este composto os fungos em geral liberam ácidos orgânicos provenientes da sua degradação. A variação do pH dos reatores RC, RF e RFG, podem ser observado na Figura 1.

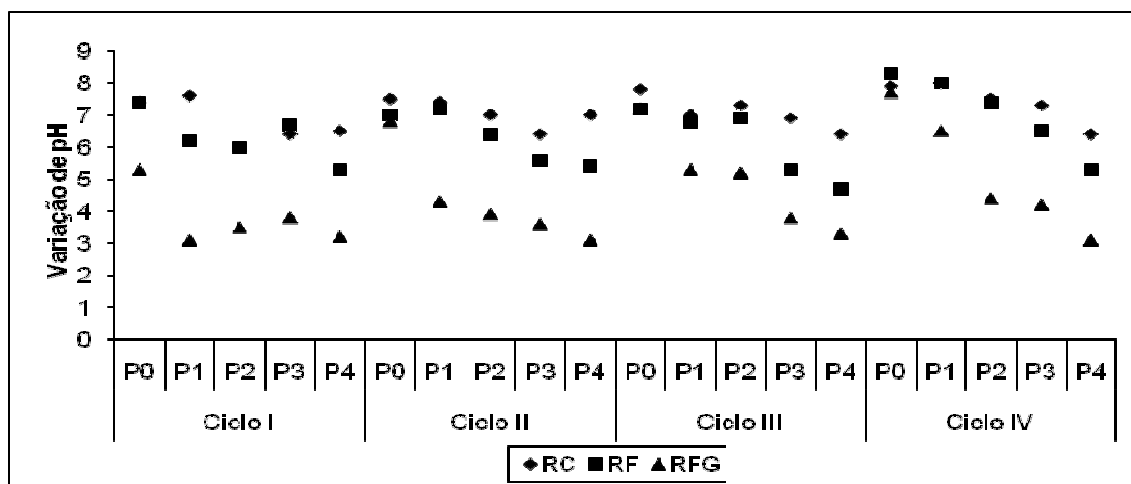


Figura 1 – Variação de pH em reatores com concentração de 100 mg.L⁻¹

3.2 Remoção de DQO

Na Figura 2 estão mostrados os percentuais de remoção de DQO dos reatores RC, RF e RFG. No 1º ciclo a remoção de DQO nos reatores RFG foi de 80% com 4 dias de operação. Nos reatores RF a remoção foi de 65%. No 2º ciclo as remoções foram de 76% nos reatores RFG e 84% para os reatores RF com oito dias de operação. Os percentuais de remoção no 3º ciclo para os reatores RFG foi de 61. Para os reatores RF a remoção foi de 41%. No 4º ciclo a remoção nos reatores RFG foi de 35% e nos reatores RF a remoção foi de 34. Nos reatores que continham glicose, o percentual de remoção de beneno foi maior do que nos reatores que possuíam apenas o inoculo fúngico, comprovando a influência do cossubstrato primário na remoção deste poluente. De acordo com Rodrigues (2007), a glicose é um composto mais facilmente degradado, resultando no aumento mais rápido da biomassa, e, conseqüentemente, na eficiência de remoção de matéria orgânica, devido seu maior consumo pela população microbiana. Pode-se observar que houve aumento e diminuição quanto à remoção de DQO nesta pesquisa. Segundo Wanderley (2007) esta instabilidade na remoção de matéria orgânica em termos de DQO pode estar relacionada com a presença de subprodutos formados no meio, ou mesmo substâncias excretadas pelos fungos oriundas do seu metabolismo.

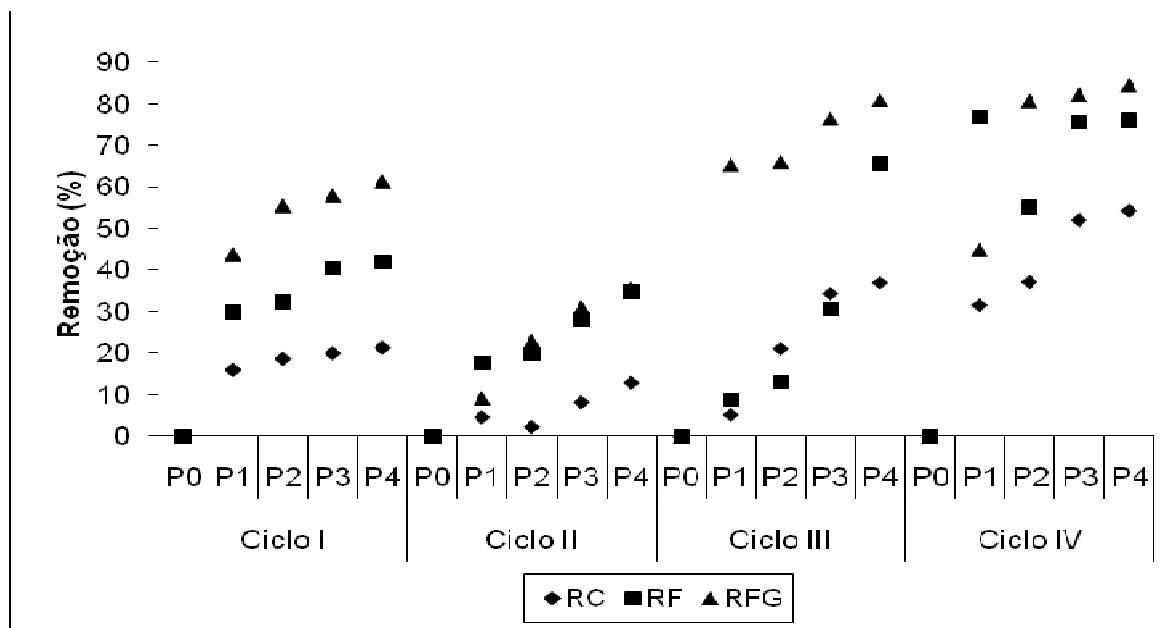


Figura 2 – Remoção de DQO em reatores com concentração de 100 mg.L^{-1}

Remoção de Benzeno

No ciclo 1, após quatro dias de operação, as remoções nos reatores com foi de aproximadamente 20%, 13% e 25% para os reatores de RC, RF e RFG, respectivamente. Provavelmente, o fungo encontrou dificuldade de metabolizar o benzeno nesses primeiros dias por ainda não se encontrar adaptado às condições do meio em se encontrava. Pode-se observar que os resultados de remoção no 2º ciclo dos reatores foram de 17%, 23%, 32% para os reatores RC, RF e RFG, respectivamente, com oito dias de operação. Nos reatores cuja concentração foi. Segundo Brito (2006) altas concentrações de benzeno podem estressar o crescimento do fungo inibindo assim o seu metabolismo. Nos ciclos 3 e 4, houve remoções de 100% nos reatores RFG mostrando assim que a biomassa estava adaptada ao meio, suportando grandes cargas do composto. De acordo com Kriacou et al. (2005), a atividade microbiana pode ser relacionada com a quantidade de biomassa e que a concentração de micro-organismos dentro de um reator é um fator importante no tratamento de águas residuárias, pois quanto maior a população microbiana maior será a eficiência de remoção do poluente, pois com o seu aumento há menor disponibilidade de alimento para os micro-organismos e conseqüentemente um melhor polimento da água residuária. Os resultados deste estudo também mostraram que os reatores que continham apenas fungo obtiveram resultados inferiores aos reatores com fungo e glicose. Segundo Vinciguerra et al. (1995), o emprego de substrato primário no tratamento de efluentes é de grande importância, pois propicia melhor degradação do poluente. A glicose representa uma fonte mais fácil de ser assimilada, sendo um composto universalmente assimilado pelos organismos, suprimindo as necessidades energéticas de quase todas as células (MARZZOCO e TORRES, 1999). Sampaio et al. (2005) estudaram o efeito da glicose na remoção de Metil Paration, um inseticida, por fungo *Aspergillus niger* AN400 e constataram que a velocidade de conversão deste substrato foi melhor com a adição de uma fonte de carbono primária. Usando a mesma espécie fúngica, Rodrigues et al. (2007) concluíram que em seu estudo com efluente sintético contendo fenol a velocidade de consumo em seu reator com uso de glicose foi maior, de modo que a presença de glicose influenciou na aceleração da remoção do substrato. Resultados estes também obtidos nesta pesquisa. Segundo Tiburtius (2003), a capacidade de certos micro-organismos para degradar substâncias orgânicas tóxicas é um fato bem documentado como é o caso da pesquisa de Melo (2009) que ao trabalhar com *Aspergillus niger* AN400 para remoção de corante azo obteve uma remoção de 95,7% de remoção no final do seu experimento, assim como Rodrigues (2007) que ao trabalhar com a mesma espécie fungica para remoção de fenol obteve 100% de remoção do composto com cinco dias de operação. Pinheiro (2009) alcançou remoção de 50% de benzeno em 5 dias de operação trabalhando com *Aspergillus niger* AN400. Kunz (2002) diz que a grande motivação de todos os pesquisadores envolvidos em estudos de biodegradação é, sem dúvida, a busca de micro-organismos versáteis capazes de degradarem, de maneira

eficiente, uma grande variedade de poluentes a baixo custo operacional. Os percentuais de remoção podem ser observados na Figura 3.

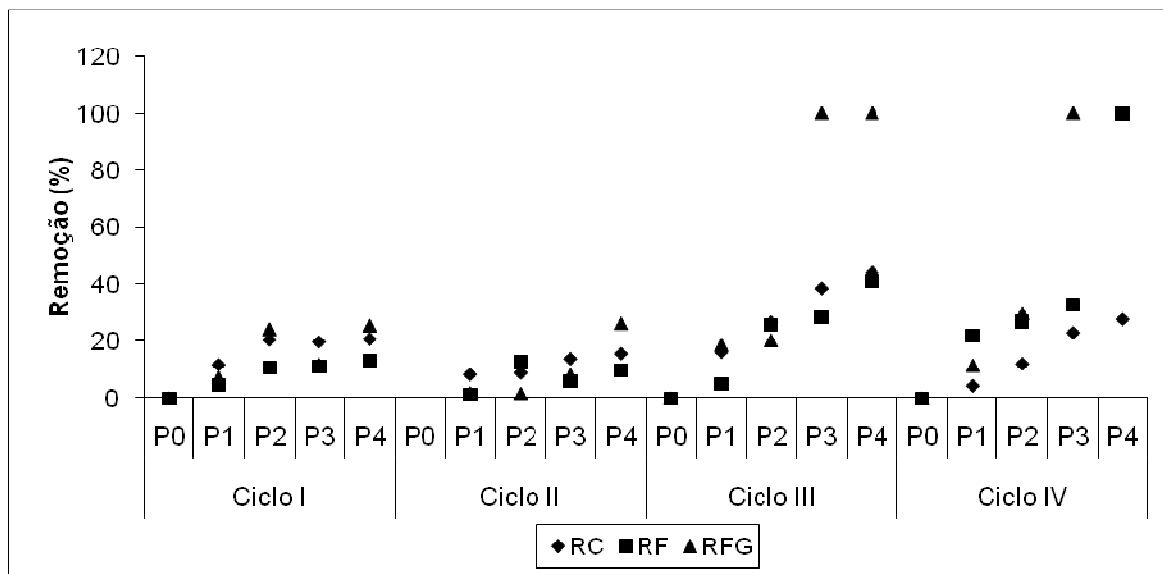


Figura 3 – Remoção de Benzeno em reatores com concentração de 100 mg.L⁻¹

CONCLUSÃO

Houve 100% de remoção de benzeno no reatores com concentração de 100 mg.L⁻¹ para o tempo reacional de 14 dias. Portanto, esta tecnologia mostrou-se viável para tratar água residuária sintética rica em benzeno.

A glicose - cossustrato primário influenciou positivamente na remoção de benzeno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- APHA – AWWA – WEF **Standard methods for the examination of water and wastewater** 19th, Washington DC, USA, 2005.
- ARTHAUD, I. D. B. (2005). **Redução de toxicidade do efluente de uma refinaria de petróleo, empregando reatores biológicos aeróbios, de leito fixo e fluxo ascendente, inoculados com *Aspergillus niger***. Universidade Federal do Ceará - Mestrado em Engenharia Civil – Saneamento Ambiental.
- BRITO, F. V.; OLIVEIRA, A. S.; NEVES, H. C.; AZEVEDO, J. A. T.; BHERING, D. L.; DOS REIS, S. M.; MACHADO, M. C.S.; AZEVEDO, G. C.; CARVALHAES, G.K. (2005). **Estudo da Contaminação de águas subterrâneas por BTEX oriundas de postos de distribuição no Brasil**. 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás.
- BRITO, N. N.; ZAMORA, P. P.; NETO, A. L. O.; BATTISTI, A. D.; PATERNIANI, J. E. S.; PELEGRINI, R. T. (2004). **Utilização de fungos na remediação de efluentes industriais**. IV– Fórum de Estudos Contábeis

CASTRO e SILVA, A.; SILVA, M. B. C.; CAVALCANTI, M. A. **Fungos: o inexplorado potencial enzimático da biodiversidade amazônica.**

COATES, J. D, ANDERSON, RT (2000). **Emerging Techniques for Anaerobics Bioremediation of Contaminated Environments.** *Tibtech* 18, 408-412.

CORSEUIL H. X., KAIPPER B. I. A. **Cosolvency effect in subsurface systems contaminated with petroleum hydrocarbons and ethanol.** *Water Research*, V. 38, p. 1449-1456. 2004.

CRESPILHO, F. N.; SANTANA, C. G.; REZENDE, M. O. O. **Tratamento de efluente da indústria de processamento de coco utilizando eletroflotação.** Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo (USP). *Química Nova* v.27 n.3 São Paulo, SP mai/jun., (2004).

DACERA, D.D.M; BABEL, S. **Removal of heavy metals from contaminated sewage sludge using *Aspergillus niger* fermented raw liquid from pineapple wastes.** *Bioresource Technology*, v. 99, n. 6, p. 1682-1689, 2008

GRIFFIN, D.H. **Fungal physiology.** 2. ed. New York: Wiley-Liss, 1994.

JENNINGS, D. H. **The Physiology of Fungal Nutrition.** Cambridge, New York. 595 p. 1995.

KYRIACOU, A.; LASARIDI, K.E.; KOTSOU, M.; BALIS, C.; PILIDIS, G. **Combined bioremediation and advanced oxidation of green table olive processing wastewater.** *Process Biochemistry*, v. 40, n. 3-4, p. 1401-1408, 2005.

MISHRA, B.K.; LATA, A.A. **Optimization of a biological process for treating potato chips industry wastewater using a mixed culture of *Aspergillus foetidus* and *Aspergillus niger*.** *Bioresource Technology*, v. 94, n. 1, p. 9-12, 2004.

MONTEIRO, T. C. N.; BARRA, C. M.; BRILHANTE, O. M. **Estudo da contaminação de poços rasos por combustíveis orgânicos e possíveis conseqüências para a saúde pública no Município de Itaguaí, Rio de Janeiro, Brasil.** *Caderno de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, RJ. (18) 6: 1559-1607, nov- dez. (2002).

NETO, M. de A. F. **Emprego de reatores biológicos com fungos para remoção de compostos nitrogenados presentes em efluente de indústria petroquímica .** 1ª coletânea de trabalhos técnicos – Reline, p. 167-182. 2006.

OLIVEIRA, E. C.; FELIX, J. P. L.; LEITAO, R. C.; MELO, V. M. M.; SANTAELLA, S. T. **Degradação de fenóis por leveduras presentes em águas residuárias de refinarias de petróleo.** In: *Gestão e Tratamento de Resíduos Líquidos Gerados na Cadeia Produtiva do Petróleo - 1ª Coletânea de Trabalhos Técnicos.* Recife: Editora Universitária da UFPE, 133-148, 2006.
PINHEIRO, Z.B; DAMASCENO, E.P.; SILVA, G.M. M; RODRIGUES, K; SAMPAIO, G.M.M.S. **Degradação de fenol por *Aspergillus niger* AN400 em reatores em batelada.** II CONNEPI João Pessoa- PB 2007.

PINHEIRO, Z.B; DAMASCENO, E.P.; RODRIGUES, K; SAMPAIO, G.M.M.S. **Avaliação da degradação de benzeno em reatores em batelada inoculados com *aspergillus niger* an400.** 25º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental Recife- PE 2009.

RODRIGUES, K. de A. **Tratamento biológico de água residuária sintética de laticínios por decomposição fúngica.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil. 1999.

SAMPAIO, G. M. M. S., SANTOS, E. A., FACÓ, A. M., LEITÃO, R. C., MENEZES, E. A., SANTAELLA, S. T. (2004). **Pós-tratamento de efluente de um reator UASB através de um reator biológico com fungos**. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 9, n. 1, p. 73 – 81.

TIBURTIUS, E.; R.; L.; ZAMORA, P.; P.; LEAL, E.; S. **Contaminação de águas por BTXs e processos utilizados na remediação de sítios contaminados**. Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Centro Federal de Educação Tecnológica, Ponta-Grossa-PR. Química Nova vol. 27, n. 3, mai/jun., 2004.

VINCIGUERRA, V.; D'ANNIBALE, A.; MONACHE, G. D.; SERMANI G. G. **Correlated effects during the bioconversion of waste olive waters by *Lentinus edodes***. Bioresource Technology. n. 51, p. 2211 – 276, 1995.

WANDERLEY, P. R. C. (2007). ***Aspergillus niger* AN 400 como inóculo de reatores em batelada para remoção do corante vermelho do congo em meio aquoso sintético**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental, Universidade Federal do Ceará). Fortaleza.