

# EFEITO DO TIPO DE INÓCULO NA DEGRADAÇÃO DE FENOL POR *Aspergillus* sp. LEBM2

Cátia Tavares dos Passos, Katiane Nogueira, Susana Juliano Kalil, Carlos André Veiga Burkert\*

Fundação Universidade Federal do Rio Grande – Departamento de Química – Laboratório de Engenharia de Bioprocessos – E-mail: burkert@vetorial.net

## RESUMO

Fenóis e outros compostos aromáticos gerados pela indústria de alimentos são listados como sérios poluentes do meio ambiente. A fim de garantir a eficiência dos tratamentos, a adaptação prévia do microrganismo é requerida para que a etapa de degradação seja realizada com maior eficiência. Com isso, o objetivo desse trabalho foi estudar a melhor forma de aclimatação a ser utilizada para o fungo *Aspergillus* sp. LEBM2 para a degradação do fenol. Os ensaios de adaptação foram realizados em frascos erlenmeyers de 500mL contendo 150mL de meio mineral adicionado de distintas fontes de carbono: 250mg/L de fenol; 250mg/L de fenol e 250mg/L de glicose; e 250mg/L de glicose. Esses frascos foram incubados à 25°C por 7 dias. Após o período de adaptação, testou-se os três tipos de inóculo, adicionando-se 10% em volume para frascos erlenmeyers de 500mL contendo 150mL de meio mineral adicionado de 250mg/L de fenol em todos os frascos. Foi observada diferença significativa nas velocidades de degradação, sendo que o processo mais eficiente foi utilizando o meio de adaptação contendo glicose e fenol, com velocidade média global de consumo de fenol de 0,67g./L.h.

Palavras-chave: biorremediação, bioaugmentação, biodegradação, fenóis, fungos filamentosos

## 1. INTRODUÇÃO

Os fenóis podem ser inibidores do crescimento mesmo para as espécies que o utilizam como substrato, o que pode levar a transtornos nas estações de tratamento de efluentes. Podem estar presentes nos efluentes da indústria alimentícia (azeite de oliva e outros óleos vegetais, frutas e hortaliças, destilarias, café), farmacêutica e química, sendo contaminantes comuns do meio ambiente, principalmente pelo uso de biocidas na indústria e na agricultura (Hoyos et al., 2002).

Numerosos microrganismos são conhecidos por sua habilidade de degradar hidrocarbonetos (HC). Muitos trabalhos focam a biodegradação de HC por bactérias. No entanto, o potencial de biodegradação de fungos filamentosos não tem sido completamente investigado para propósitos de biorremediação (Potin et al., 2004).

Fungos em geral, incluindo *Aspergillus*, entre outros, utilizam uma grande faixa de compostos aromáticos simples e tem altas atividades de produção de enzimas catabólicas. Além disso, alguns deles são considerados hábeis para degradar compostos fenólicos. Logo, esses microrganismos estão sendo extensamente utilizados, em estudos de bioaugmentação e biorremediação (García et al., 2000).

Com isso, o objetivo desse trabalho foi estudar a melhor forma de adaptação a ser utilizada para o fungo *Aspergillus* sp. LEBM2, isolado pelo Laboratório de Microbiologia – FURG, na região da cidade do Rio Grande – RS, de um solo contaminado com hidrocarbonetos,

para aumentar a eficiência da remoção do contaminante e diminuir o tempo de degradação do fenol.

## **2. DESENVOLVIMENTO**

### **2.1. Material e Métodos**

#### **2.1.1. Microrganismo**

O microrganismo utilizado no trabalho foi o fungo *Aspergillus* sp. LEBM2, isolado pelo Laboratório de Microbiologia – FURG, na região da cidade do Rio Grande, sendo mantido sob refrigeração em ágar batata dextrose.

#### **2.1.2. Preparo da água residuária sintética**

A composição base da água residuária sintética utilizada nos experimentos de adaptação e biodegradação de fenol foi (g/L): 0,4  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 0,2  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,1  $\text{NaCl}$ ; 0,025  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0,003  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ; 0,5  $\text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

O meio foi preparado em frascos erlenmeyers de 500mL e esterilizados para a realização dos experimentos. Após foi adicionado fenol (250mg/L).

#### **2.1.3. Aclimação do microrganismo**

Foram testados três tipos de inóculo, sendo os cultivos realizados em frascos erlenmeyers de 500mL, incubando-se a 25°C por 7 dias. Todos os frascos continham a composição base da água residuária sintética, descrita anteriormente, sendo que o frasco 1 era acrescido 250mg/L de fenol; o frasco 2 com 250mg/L de fenol e 250mg/L de glicose; e o frasco 3 com 250mg/L de glicose.

#### **2.1.4. Ensaios de crescimento/degradação em biorreator de bancada em batelada**

Foram realizados três tipos de experimentos variando-se o tipo de inóculo, obtidos conforme o item 2.1.3.

Como biorreatores, foram utilizados frascos erlenmeyers de 500mL de capacidade, contendo 150mL de água residuária sintética acrescida de 250mg/L de fenol, sendo inoculados com o respectivo inóculo, correspondente a 10% em volume. Paralelamente foi realizado um ensaio controle, sem a inoculação do microrganismo, para avaliar as perdas abióticas. A temperatura de todos os ensaios foi controlada em estufa à 25°C.

#### **2.1.5. Determinação do fenol total**

Para a determinação do conteúdo total de fenol o método usado foi o que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu, envolvendo adição sucessiva de 1mL de carbonato de sódio (20g/L) e 0,5mL do reagente Folin-Ciocalteu para 10mL de amostra. Depois de 30 min, leu-se a absorvância à 20°C, 750nm contra água destilada e reagente branco.

### 2.1.6. Avaliação dos resultados

Os resultados foram analisados pela velocidade global de degradação de fenol, utilizando a equação 1. Os resultados foram avaliados com auxílio do programa STATISTICA 5.0, através do teste de Tukey, que permitiu avaliar se havia diferenças significativas entre as médias.

$$\text{Velocidade global de consumo de fenol} = \frac{C_i - C_f}{t_f} \quad \text{Equação (1)}$$

Onde:  $C_i$  = concentração inicial de fenol (mg/L)

$C_f$  = concentração final (mg/L)

$t_f$  = tempo em que ocorreu a degradação (horas)

### 2.2. Resultados e Discussão

A figura 1 mostra os resultados obtidos para os ensaios de degradação de fenol utilizando diferentes inóculos. Pode-se observar que a degradação foi mais rápida para o inóculo preparado com mistura de glicose e fenol, com término em 288 horas. Convém ressaltar que em todos os casos a degradação foi total. Não houve perdas abióticas significativas.

A figura 2 mostra as médias de velocidades globais de degradação de fenol obtidas com o uso dos diferentes inóculos. Observa-se que a velocidade média obtida utilizando o inóculo contendo glicose e fenol foi estatisticamente superior (média de 0,67 mg/L.h), não havendo diferenças significativas entre as médias de velocidade obtidas com os inóculos contendo somente glicose ou fenol.

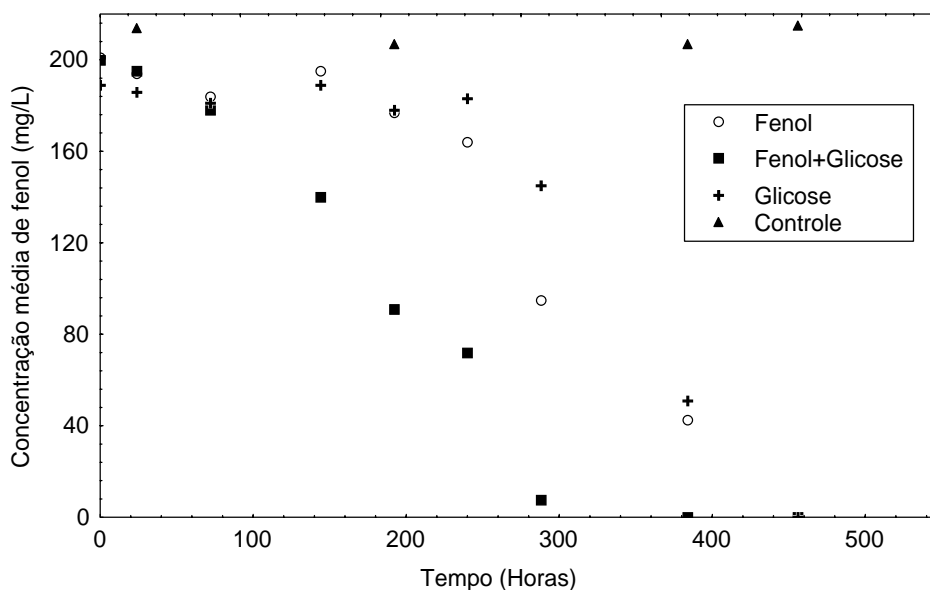


Figura 1: Ensaios de degradação de fenol utilizando diferentes inóculos do fungo *Aspergillus* sp. LEBM2.

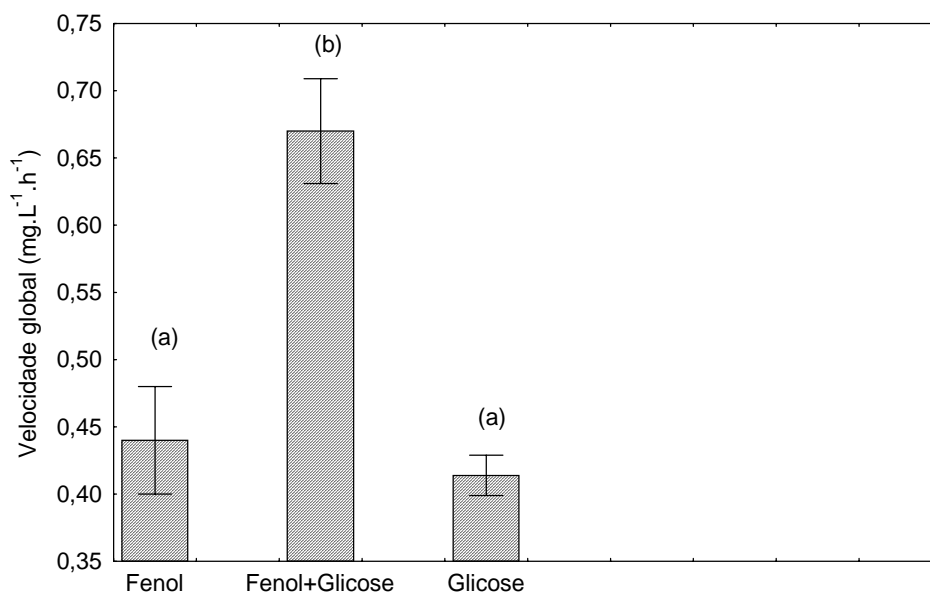


Figura 2: Velocidades globais médias de degradação de fenol para os diferentes inóculos testados e  $\pm$  desvio padrão. Letras iguais indicam que não há diferença significativa; letras distintas indicam diferença significativa entre as velocidades, a 95% de confiança.

### 3. CONCLUSÃO

Constatou-se que a adaptação do fungo *Aspergillus* sp. LEBM2 em meio contendo fenol e glicose como fontes de carbono possibilitou uma maior velocidade de degradação de fenol, tornando o processo mais eficiente.

### 4. REFERÊNCIAS

- POTIN, O., RAFIN, C., VEIGNIE, E., Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), Contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil, **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 54, p. 45-52, 2004.
- GARCÍA, I.G., PEÑA, P.R.J., VENCESLADA, J.L.B., MARTÍN, A.M., SANTOS, M.A.M., GÓMEZ, E.R., Removal of phenol compounds from olive mill wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*, **Process Biochemistry**, v. 35, p. 751-758, 2000.
- HOYOS, S. E. G.; MARTINEZ NIETO, L.; RUBIO, F. C.; CORMENZANA, A. R., Kinetics of aerobic treatment of olive- mill wastewater (OMW) with *Aspergillus terreus*, **Process Biochemistry**, v. 37, p. 1169-1176, 2002.