

## OTIMIZAÇÃO DO MEIO DE CULTIVO DO LODO BIOLÓGICO PARA A BIODEGRADAÇÃO DO FENOL

Louise Hase Gracioso<sup>1</sup>, Ingrid Regina Avanzi<sup>1</sup>, Elen Aquino Perpetuo<sup>2</sup>

*Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Santa Cecília e Centro de Pesquisa e Capacitação em Meio Ambiente, Cubatão-SP<sup>1</sup>, Pesquisadora associada do Centro de Pesquisa e Capacitação em Meio Ambiente, Cubatão-SP<sup>2</sup>*

Recebido em: 07/08/09 Aceito em: 05/10/09 Publicado em: 04/06/10

### RESUMO

Os compostos fenólicos pertencem a um grupo tóxico de poluentes ambientais descartados do processo de muitas indústrias, tais como refinarias de óleo e indústrias químicas. Alguns destes componentes são listados como os principais poluentes do meio ambiente pelas agências de proteção ambiental de vários países. Os efluentes destas indústrias normalmente são tratados através de processos biológicos, pois alguns microrganismos adquirem a habilidade de se adaptar e utilizar os compostos fenólicos como fonte de carbono e energia, porém infelizmente, mesmo os adaptados, não resistem às oscilações de concentração. O presente trabalho pretende melhorar o processo biológico de degradação do fenol, através da otimização do meio de cultivo dos microrganismos presentes no lodo biológico (bactérias heterotróficas). Estes microrganismos foram colocados em um mini reator biológico para a degradação do fenol e seus intermediários (catecol e hidroquinona) e as variáveis de temperatura, pH, aeração e fonte de fosfato foram estudadas de modo a estabelecer as condições ótimas para o desenvolvimento do processo.

*Palavras-chave. Biodegradação; fenol; lodo biológico.*

### 1. Introdução

O fenol é um hidrocarboneto aromático, que em seu estado puro, encontra-se como sólido branco ou incolor, mas comercialmente, é encontrado em solução aquosa. Produzido naturalmente ou por processos antropogênicos, ele pode ser encontrado em alimentos, no ser humano, restos animais e em material orgânico em decomposição, podendo também ser isolado de piche, mas é hoje sinteticamente produzido. Atualmente, o maior uso de fenol tem sido como intermediário na produção de resinas fenólicas, que são usadas em compensados, adesivos, construção civil e automobilismo, produção de fibra sintética como nylon e precursores de resina Epox (Sassano, 2008).

O fenol em concentrações acima de 1 mg.L<sup>-1</sup> é tóxico aos organismos e a fauna aquática (Tay et al., 2001). No Brasil, os padrões de qualidade de água estabelecem concentrações de fenol de até 3 µg.L<sup>-1</sup> para águas de classe I (destinadas ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção; à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; e à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral). Os padrões de emissão correspondem a valores de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> (CONAMA, 2005). O fenol é biodegradável tanto aeróbia como anaerobicamente (Tay et al., 2001, Bolaños, 2001), mas pode ser tóxico aos microrganismos (prin-

cipalmente aos não aclimatados) mesmo a concentrações relativamente baixas (10 mg.L<sup>-1</sup>). O fenol pode ser inibidor do crescimento mesmo àquelas espécies que o metabolizam e o utilizam como substrato. A degradação de fenol a gás carbônico e água em um ambiente aeróbio pode ocorrer através do consumo de fenol como fonte de carbono pelos microrganismos presentes, porém pode gerar produtos intermediários tóxicos.

A otimização das condições de cultivo para o crescimento microbiano e a biodegradação do fenol seria o primeiro passo para o correto dimensionamento de um biorreator para o tratamento de efluentes fenólicos. O tratamento de efluentes fenólicos em biorreatores é uma tecnologia já existente, porém as condições ótimas para o crescimento microbiano ainda não foram estabelecidas. Em se tratando de escala industrial, estas condições de cultivo podem representar boa parte do investimento. Além disso, o desempenho dos microrganismos pode ser melhorado com a adição ou subtração de determinados compostos. Desse modo, um reator biológico que é extremamente sensível às oscilações na descarga de poluentes, poderia apresentar um melhor desempenho.

Este trabalho consistiu no estudo experimental da degradação de poluentes orgânicos (fenol) presentes em efluentes industriais, empregando processos biológicos e tem como principais objetivos: estudar a cinética de biodegradação do fenol pelo lodo biológico;

identificar os intermediários gerados pela degradação aeróbia do fenol; otimizar as condições de cultivo dos microrganismos; utilizar o processo desenvolvido como modelo para degradação aeróbia de outros aromáticos.

## 2. Material e Métodos

### Planejamento experimental

O planejamento experimental foi feito utilizando-se como variáveis: concentração de fosfato, aeração, pH e temperatura. Um conjunto de 24 experimentos foi realizado em função destas variáveis e 5 experimentos idênticos representaram o ponto central, com as condições ótimas de cultivo (concentração de fosfato = 2 mM.L-1, agitação = 200 rpm, pH= 7.0, temperatura = 30o C). A concentração de fenol escolhida foi de 600 mg.L-1.

### Ensaio de biodegradação do fenol

Os microrganismos (lodo biológico) foram incubados com meio mínimo mineral, sem adição de glicose, e somente o fenol como fonte de carbono. As condições de cultivo foram: meio mineral líquido (10 mL de FeSO<sub>4</sub> a 1 mM, 1mL de MgSO<sub>4</sub> a 1 M, 0,5 mL de CaCl<sub>2</sub> a 1M e 10 mL de

M2 ( 5 g de NH<sub>4</sub>Cl, 17,4 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 10,6 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> q.s.p. 1000 mL de água Milli-q.), 600 mg.L<sup>-1</sup> de fenol, 200 rpm de agitação e 30° C. Amostras foram retiradas ao longo dos 3 dias de cultivo e analisadas quanto à degradação do fenol.

### Ensaio enzimáticos - Teste de degradação do fenol

A atividade das enzimas que degradam fenol foi confirmada através da análise dos compostos gerados (catecol e/ou hidroquinona, dados não mostrados). Para isso, foi utilizado um sistema de purificação em HPLC (Shimadzu) com detecção UV-visível em 254 nm, uma coluna de fase reversa (C<sub>18</sub> Shim-Pack) e, como fase móvel, gradiente acetonitrila/H<sub>2</sub>O.

## 3. Resultados

A figura 01 ilustra as taxas de biodegradação do fenol em diferentes condições.

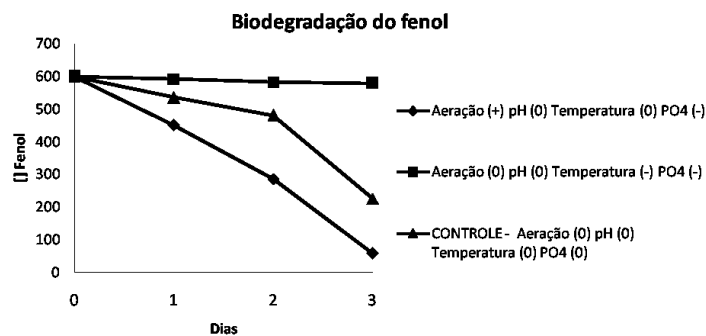


Fig.01. Gráfico mostrando o desempenho do controle (experimento 28), a melhor degradação obtida (experimento 02) e a pior degradação (experimento 21).

A biodegradação foi acompanhada através da análise de amostras diárias em HPLC, a figura 01 mostra o acompanhamento diário do controle comparando com os experimentos que tiveram a melhor e a pior taxa de biodegradação.

A tabela 01 mostra os experimentos realizados, suas condições de cultivo e a taxa de degradação do fenol realizada após 3 dias de incubação.

## 4. Discussão

Neste estudo, as principais variáveis que influenciam na biodegradação do fenol pelo lodo biológico, foram avaliadas. Sabe-se que o tratamento biológico de compostos fenólicos é o mais eficiente, em termos

de custo benéfico, porém a cinética de degradação de uma comunidade microbiana pode apresentar uma grande variação, dependendo das condições de cultivo (Lisa *et. al.*, 1997; Sehroder *et. al.*, 1997). Estudos anteriores sugerem que algumas variáveis podem determinar o sucesso ou não do tratamento biológico (Kerry *et. al.*, 1997). Estabelecer a importância de cada variável, de modo a otimizar as condições de cultivo, foi o objeto deste estudo. Foram realizados 29 experimentos, dos quais 5 foram utilizados como controle (condições ótimas de cultivo).

Verificou-se que as variáveis de temperatura, pH, agitação e concentração de fosfato, influenciaram diretamente na biodegradação do fenol e a partir dos resultados obtidos foi possível inferir a importância de cada uma delas para o processo.

Tabela 1. Planejamento experimental

Experimentos	Aeração (rpm)	Fosfato (mM)	pH	Temperatura (°C)	Degradação (%)
1	150 (-)	10 (-)	7 (0)	30 (0)	76,28
2	250 (+)	10 (-)	7 (0)	30 (0)	89,38
3	150 (-)	30 (+)	7 (0)	30 (0)	79,58
4	250 (+)	30 (+)	7 (0)	30 (0)	88,27
5	200 (0)	20 (0)	6 (-)	25 (-)	31,48
6	200 (0)	20 (0)	8 (+)	25 (-)	7,72
7	200 (0)	20 (0)	6 (-)	35 (+)	62,71
8	200 (0)	20 (0)	7 (0)	35 (+)	61,68
9	150 (-)	20 (0)	7 (0)	25 (-)	40,60
10	250 (+)	20 (0)	7 (0)	25 (-)	40,41
11	150 (-)	20 (0)	7 (0)	35 (+)	36,05
12	250 (+)	20 (0)	6 (-)	35 (+)	86,20
13	200 (0)	10 (-)	6 (-)	30 (0)	60,77
14	200 (0)	30 (+)	8 (+)	30 (0)	58,42
15	200 (0)	10 (-)	8 (+)	30 (0)	47,66
16	200 (0)	30 (+)	6 (-)	30 (0)	63,75
17	150 (-)	20 (0)	6 (-)	30 (0)	38,37
18	250 (+)	20 (0)	8 (+)	30 (0)	77,29
19	150 (-)	20 (0)	8 (+)	30 (0)	32,15
20	250 (+)	20 (0)	7 (0)	30 (0)	63,82
21	200 (0)	10 (-)	7 (0)	25 (-)	2,02
22	200 (0)	30 (+)	7 (0)	25 (-)	14,59
23	200 (0)	10 (-)	7 (0)	35 (+)	52,07
24	200 (0)	20 (0)	7 (0)	35 (+)	51,85
25	200 (0)	20 (0)	7 (0)	30 (0)	68,61
26	200 (0)	20 (0)	7 (0)	30 (0)	61,76
27	200 (0)	20 (0)	7 (0)	30 (0)	58,17
28	200 (0)	20 (0)	7 (0)	30 (0)	60,72
29	200 (0)	20 (0)	7 (0)	30 (0)	59,08

## 5. Conclusões

A maior taxa de biodegradação (89,38%) foi alcançada em 3 dias, com as seguintes condições: 30°C, 250 rpm, pH 7 e 10 mM de PO<sub>4</sub> e a menor taxa (2,02%) à 25°C, 200 rpm, pH 7 e 10 mM de PO<sub>4</sub>. Com base nos resultados da tabela 01, pôde-se concluir que a principal variável que influenciou na biodegradação do fenol pelo lodo biológico foi a aeração, seguida da temperatura. Em contrapartida, as variáveis de pH e concentração de PO<sub>4</sub>, não se mostraram tão relevantes neste processo. Em escala industrial, isso pode representar uma grande economia para o processo, visto que o controle destas variáveis não seria necessário.

A partir destes resultados, poderemos propor um modelo matemático que poderá ser utilizado para

simular a biodegradação de outros compostos fenólicos.

## 6. Referências

- BOLAÑOS, R.M.L., (2001), Tratamento de fenol em reator anaeróbio horizontal e leito fixo (RAHLF) sob condições mesofílicas. Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil.
- CONAMA (2005), Resolução no 357, 17 de Março de 2005.
- SASSANO F.(2008). Integração entre os processos fotoquímico e biológico no tratamento de efluentes. Dissertação.

tação (Mestrado). Escola Politécnica, USP, São Paulo-SP.

TAY, J. H., He, Y. X., E Yan, Y. G. (2001), Improved anaerobic degradation of phenol with supplemental glucose. *Journal of Environmental Engineering* 127 (38): 38-45.

LISA, D.C.; Andrew, J.D. (1997). Biodegradation of phenol at high initial concentration in the phase partitioning batch and feed batch bioreactors. *Biotechnol and Bioeng.*55:155-62.

KERRY, W.S.; Hong, L.; Jack, T.T. (1997). Effect of initial cell density, substrate concentration and temperature on penta chlorophenol degradation by *Pseudomonas* sp. UG30. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 69: 102-13.

SEHRODER, M.; Muller, C.; Postens, C.; Deckwur, W.D.; Mecht, V. (1997). Inhibition kinetics of phenol degradation from unstable steady-state data. *Biotechnol and Bioeng.* 54: 567-76.