

BIODEGRADAÇÃO DO SURFACTANTE LINEAR ALQUILBENZENO SULFONATO DE SÓDIO UTILIZANDO FUNGOS FILAMENTOSOS

M. F. COSTA¹, B. M. A. CARVALHO¹, A. M. OLIVEIRA¹, E. N. OLIVEIRA Jr¹

¹Universidade Federal de São João del Rei, Departamento de Química, Biotecnologia e Engenharia de Bioprocessos
E-mail para contato: mayara@mayara.eng.br

RESUMO – Linear alquilbenzeno sulfonato de sódio (LAS) é um dos surfactantes mais utilizados como componente ativo de detergentes e outros produtos de limpeza, devido ao seu baixo custo e alta eficiência como tensoativo. Devido ao seu acúmulo em níveis tróficos mais baixos, a comunidade científica tem voltado seus olhares para esse e outros tensoativos, como o nonilfenol. A bioacumulação desses compostos orgânicos tem sido reportados como perturbadores endócrinos. Como forma de analisar a biodegradação dos surfactantes (em geral) no meio, um efluente sintético foi produzido utilizando o surfactante dodecil sulfato de sódio (tipo de LAS), e posteriormente tratado com três tipos de fungos filamentosos, *Aspergillus aculeatus*, *Penicillium chrysogenum* e *Penicillium crustosum*. Para a fermentação realizada em shaker, o inóculo produzido com os esporos foi colocado para fermentar o efluente sintético a 25°C, 180 rpm em meio mínimo líquido, durante cinco dias. Os resultados obtidos mostraram que o fungo que mais se destacou na biodegradação do LAS foi o *Penicillium crustosum*, removendo mais de 95% do tensoativo do meio. Os outros dois fungos *Aspergillus aculeatus* e *Penicillium chrysogenum* removeram, respectivamente, 85% e 90% do tensoativo do meio.

1. INTRODUÇÃO

A contaminação dos recursos ambientais subterrâneos e superficiais por compostos orgânicos tóxicos é um dos maiores impasses enfrentados pela geração atual. Ainda que, haja uma grande variedade de produtos químicos e processos físicos de tratamento de resíduos tóxicos, a maior parte destes somente se dilui ou são transferidos para outra fase, não ocorrendo a degradação (SILVA, 2013).

Ao longo da década de 70 e mais acentuadamente na década de 80, a sociedade começou a despertar para as ameaças a que estava sujeita se não mudasse o comportamento quanto ao uso de seus recursos hídricos (SETTI *et al.*, 2001).

Os surfactantes não-iônicos e aniônicos são usados em formulações de detergentes de uso industrial e doméstico no mundo todo, há mais de quarenta anos. Os processos biológicos empregados para o tratamento de soluções contendo alquilfenóis-etoxilados (surfactante não-iônico) em estações de tratamento de esgoto (ETE) geram alquilfenóis mais tóxicos e mais persistentes no ambiente. Os compostos mais comuns dessa classe são o octilfenol (OP) e o nonilfenol (NP), sendo também os que apresentam maior estrogenicidade.

Desses, o 4-nonilfenol é o produto mais tóxico gerado na degradação de alquilfenóis, podendo permanecer por longo tempo no ambiente, devido à sua resistência à degradação. Além disso, sofre bioacumulação, ou seja, apresenta maiores concentrações nos seres vivos do que no ambiente (AZEVEDO e SILVA *et al.*, 2008).

Estudos realizados em vários países já detectaram o 4-nonilfenol em diferentes alimentos. Em Taiwan, ele foi encontrado em 76,4% de 381 amostras de 25 itens alimentares variados. Também já foi identificado no leite materno, em estudo com mulheres italianas. Isso sugere a existência de risco para os recém-nascidos, já que indivíduos em desenvolvimento são mais susceptíveis aos efeitos tóxicos induzidos por poluentes do que os adultos (AZEVEDO e SILVA *et al.*, 2008).

Dentre os representantes dos surfactantes aniônicos, o linear alquilbenzeno sulfonato de sódio (LAS) é considerado biodegradável nos rótulos de muitos produtos de limpeza. Apesar de sua fácil assimilação em meio aeróbio, sob condições anaeróbias, possui vias metabólicas restritas e consequentemente pode ser bioacumulado, podendo ser tóxico para o ambiente aquático (BAKIREL *et al.*, 2005).

Esse efeito pôde ser observado em estudos toxicológicos em peixes, os quais podem sentir a presença de surfactantes em concentrações muito baixas (0,001 mg/L). Um dos efeitos tóxicos notados foi a alteração patológica nas brânquias: diminuição do crescimento e atividade de natação prejudicada (BAKIREL *et al.*, 2005).

Por esses motivos, o trabalho teve como objetivo avaliar a degradação do linear alquilbenzeno sulfonato de sódio (LAS), dodecil sulfato de sódio, em um efluente sintético utilizando três tipos de fungos filamentosos, *Aspergillus aculeatus*, *Penicillium chrysogenum* e *Penicillium crustosum*.

2. METODOLOGIA

A biodegradação do LAS envolveu, inicialmente, a construção de uma curva padrão para análise das amostras através do método colorimétrico azul de metileno (MBAS), onde, todo procedimento foi retirado do “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”, 1998.

Os fungos utilizados *Aspergillus aculeatus*, *Penicillium chrysogenum* e *Penicillium crustosum* foram reativados, conforme Figura 1, em meio batata dextrose ágar, concentração de 39 g/L, e após a produção de esporos, os mesmos foram coletados para inóculo.

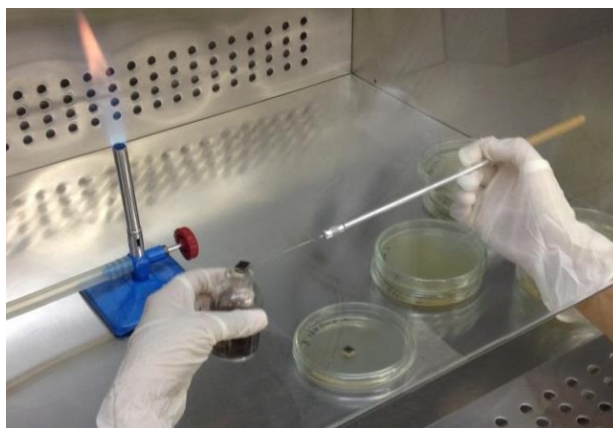


Figura 1 – Reativação dos fungos.

A fermentação foi realizada em shaker, 180 rpm, 25 °C, durante cinco dias, em meio mínimo líquido (MML) com uma concentração de 7,6 mg/L de LAS. A composição do meio utilizado está apresentada na Tabela 1. Para comparação, a cinética de crescimento foi realizada sem a presença do surfactante.

Tabela 1: Composição do MML (FONTE: SILVA, 2013)

Reagente	C ₆ H ₁₂ O ₆	MgSO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄	KH ₂ PO ₄	K ₂ HPO ₄	CuSO ₄	Surfactante
Concentração (g/L)	10,0	1,1	1,0	5,44	6,98	0,01	0,006

Após a fermentação, as amostras foram analisadas através do método MBAS e, de acordo com a absorbância da amostra, a concentração do surfactante foi calculada por meio da equação da curva padrão.

3. RESULTADOS

A cinética foi realizada utilizando 10 mL de MML e uma quantidade média de $6,98 \times 10^7$ esporos. Em termos comparativos, uma projeção foi realizada através de uma regra de três para os dados da massa seca, considerando 100 mL de MML, conforme apresenta a Tabela 2.

Tabela 2: Produção de massa seca fúngica após cinco dias

Fungo	Massa seca produzida durante a cinética* (g)	Massa seca produzida durante a fermentação (g)
<i>A. Aculeatus</i>	0,3510 ± 0,0065	0,8315 ± 0,0044
<i>P. chrysogenum</i>	0,3137 ± 0,0017	0,7459 ± 0,1037
<i>P. crustosum</i>	0,3277 ± 0,0022	0,7562 ± 0,0291

*Projeção para 100 mL

Comparando a cinética de crescimento em MML e os resultados da fermentação, o *A. aculeatus* demonstrou grande adaptação à fonte de energia oferecida pelo MML e pela substância xenobiótica utilizada, sendo o micro-organismo que mais produziu massa seca para ambos os resultados. As concentrações de tensoativo encontradas nas amostras são mostradas na Tabela 2 abaixo.

Tabela 3: Concentrações e respectivas reduções de LAS encontradas após cinco dias de fermentação em MML a 25°C e 180 rpm para os fungos *P. crustosum*, *P. chrysogenum* e *A. aculeatus*.

Amostra	Absorbância média (nm)	Concentração (mg/L)	Redução (%)*
<i>P. crustosum</i>	0,149	$0,2932 \pm 0,0697$	96
<i>P. chrysogenum</i>	0,435	$0,8001 \pm 0,3027$	91
<i>A. aculeatus</i>	0,702	$1,2744 \pm 0,1813$	85
Controle	0,464	$8,5271 \pm 0,0175$	-

*Redução da concentração comparada com a concentração do controle

O Controle foi diluído dez vezes para que a sua absorbância pudesse ser lida pelo espectrofotômetro. As concentrações puderam ser calculadas a partir da Equação 1, $y = 1,7744x + 0,0288$, onde, x é dada pela absorbância e y é o valor da concentração de MBAS.

Os resultados mostraram que os três fungos apresentaram resultados satisfatórios, sendo que o *P. crustosum* alcançou mais de 96% de biodegradação do surfactante, seguido pelo *P. chrysogenum*, que removeu 91% aproximadamente, e *A. aculeatus*, 85% (Tabela 3).

Embora o *A. aculeatus* tenha apresentado uma maior produção de massa seca em relação aos fungos do gênero *Penicillium*, não obteve uma maior eficiência na remoção do LAS do efluente sintético. O micro-organismo que mais se mostrou apto à biodegradação foi *P. crustosum*. Isso pode ser explicado pela maior produção de enzimas capazes de catalisar o detergente. A Figura 2 mostra um precipitado que surgiu durante a análise do meio fermentativo, do qual o *P. crustosum* estava sendo cultivado.

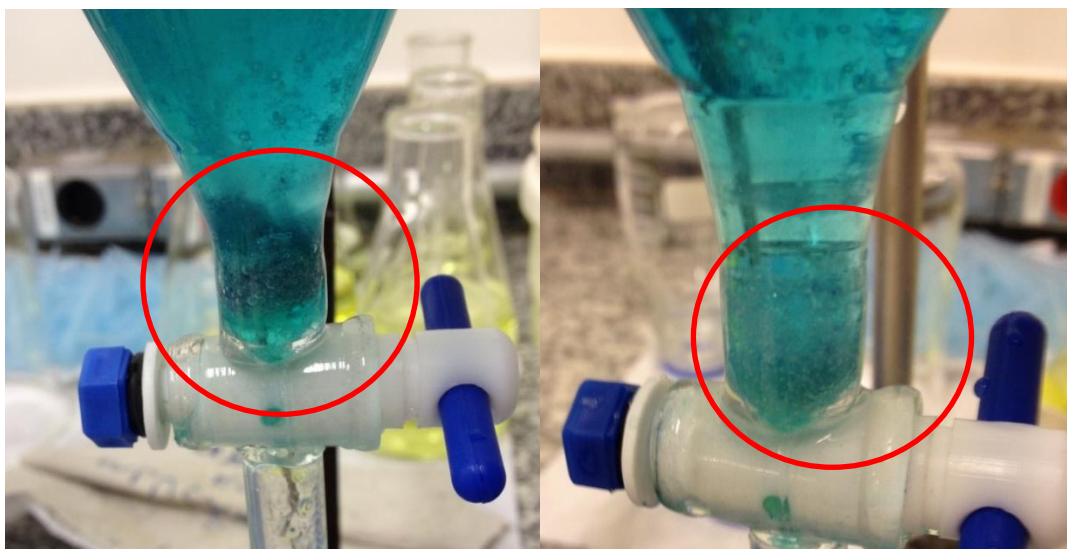


Figura 2: Detalhes das precipitações ocorridas durante as análises

Vale ressaltar que, esse precipitado não ocorreu nas análises do *Aspergillus* e foi pouco expressivo nas análises do *P. chrysogenum*. Nesse contexto, ainda que o *Aspergillus* tenha apresentado maior produção de massa seca, e consequentemente, uma maior taxa de crescimento, o *P. chrysogenum* possui uma maior produção de enzimas que metabolizam o LAS.

Acredita-se que o precipitado é rico em enzimas, pelo fato de que as proteínas se precipitem na presença de sais e solventes orgânicos, no caso utilizado, o clorofórmio. Desta forma, uma maior quantidade de enzimas produzidas, ocasionou a maior taxa de biodegradação do LAS pelo *Penicillium*.

4. NOMENCLATURA

MML – Meio Mínimo Líquido (g/L)

MBAS – Método colorimétrico Azul de Metileno.

5. REFERÊNCIAS

AZEVEDO e SILVA, C. E.; Souza S. A. C. Miranda M. R. Solução Biode(sa)gradável *Ciência Hoje*. v. 43; p. 19-23, 2008.

ESTEVES, A. S. – **Degradação de Alquilbenzeno Linear Sulfonato em reator anaeróbico de manta de lodo e fluxo ascendente**. 2010. 64 p. Trabalho de graduação – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

FILHO, J.D.P. **Degradação de Alquilbenzeno linear Sulfonado em reator anaeróbico operado em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada em carvão vegetal**, 2008. 85 p. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

MUNGRAY, A.K.; KUMAR, P. Fate of linear alkylbenzene sulfonates in the environment: A review. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 63, p. 981–987, 2009.

SILVA, K. C. **Estudo do potencial de degradação do corante reativo preto intenso N por fungos filamentosos isolados de efluente industrial têxtil**. 100 p. Tese (Mestre em biotecnologia) – Universidade Federal de São João del Rei, 2013.