

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR

**ANÁLISE ECOTOXICOLÓGICA DO EFLUENTE DA INDÚSTRIA DE  
BENEFICIAMENTO DA CASTANHA DE CAJU ANTES E APÓS  
TRATAMENTO EM REATOR AERÓBIO INOCULADO COM FUNGOS.**

**Marcionília Fernandes Pimentel**

Fortaleza- Ceará  
2008

**ANÁLISE ECOTOXICOLÓGICA DO EFLUENTE DA INDÚSTRIA DE  
BENEFICIAMENTO DA CASTANHA DE CAJU ANTES E APÓS  
TRATAMENTO EM REATOR AERÓBIO INOCULADO COM FUNGOS.**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Leticia Veras Costa-Lotufo

Fortaleza - Ceará  
2008

*À minha orientadora Leticia Veras Costa Lotufo, dedico.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço de alma estufada à Prof<sup>ª</sup>. Dra. Leticia Veras Costa-Lotufu por ser assim desse jeitinho que ela é. Para além de meras bajulações e clichês baratos, digo sem hesitar que ela é capaz de me fazer enxergar holofotes no final de túneis e de mostrar as borboletas que se anunciam onde eu ainda via apenas lagartas. Por puxar de dentro de sua caixinha mágica (aparentemente inesgotável) um otimismo em estado puro que tantas vezes foi capaz de converter uma certa feição desanimada em um sorriso rasgado de “vai dar tudo certo”. Enfim, muito obrigada pela orientação cheia de leveza e sabedoria durante estes cinco anos de parceria.

Aos companheiros do Laboratório de Ecotoxicologia Marinha, agradeço com a mão no coração com a certeza da partilha bem feita e dos laços fortes atados com muito afeto ao longo dessa nossa estrada. Às minhas queridas e amadas damas de honra: Janisi Minha Prima, Jeanylle Nillin e Janaína Bernardo, além dos queridos Lucas Moreira, Isabelle Arthaud, Marcela Thuca, Paula Jimenez e Lívia Pitombinha, agradeço por tornarem o meu dia-a-dia muito mais divertido. Valeu por todos os toques, ajudinhas e pela paciência na hora da fome (11:55h).

À querida Prof<sup>ª</sup>. Dra. Sandra Tédde Santaella pela presença forte e sempre atenciosa cheia de sorrisos e soluções. Muito obrigada por ter atuado como co-orientadora nesta empreitada, por compor a banca examinadora do trabalho e por ter me mostrado o mundo destes efluentes fedidos no qual fui tão feliz.

Aos colegas do EQUAL por terem tornado este trabalho bem menos árduo com tanta gentileza e simpatia. Um agradecimento especial ao Rodolfo pela super mão na instalação do reator e ao Davi Andrade por uma miríade de coisinhas que vão desde ensinamentos, análises de DQO até caronas animadas pela Virgílio Távora na hora do *rush*. Valeu, “Dávi”.

Ao querido amigo Chagas (Chá) por ter feito esse trabalho comigo. Sem ele por perto eu jamais seria capaz de virar aqueles galões de efluentes tão pesados no balde e nem de aturar tantas análises de fenóis que deram errado. Isso sem falar nas variadas tarefas absolutamente nojentas em que eu, pobre moça, amarelei totalmente enquanto ele, sereno, colocava a mão na gosma por mim com uma carinha sorridente e amiga que me inspirava (e inspira!) tanta gratidão e afeto. Muito obrigada, Chá!

Ao Prof. Dr. Denis Abessa por ter aceitado o convite para compor a banca examinadora deste trabalho e pela simpatia de sempre.

Ao querido amigo de trabalho e da vida Wilson Franklin Júnior que, apesar de todo o volume de trabalho que o envolve, foi comigo fazer coleta em todas as terças-feiras que deus deu durante seis meses. Tomou chuva, interrompeu seus próprios trabalhos, carregou galões de efluente e se lançou comigo pela Leste-Oeste naquele carrinho peba em meio a muitas piadas e risadas. Aqui vai o meu mais pleno agradecimento a esse amigo que tanto admiro. Esse gesto que eu jamais vou esquecer.

À Fundação Cearense de Apoio à Pesquisa (FUNCAP) pela bolsa concedida durante o curso de mestrado que veio a proporcionar uma fase da vida de muita riqueza e glamour com cifras nunca dantes vistas em minha conta bancária.

Ao Prof Freire (EMBRAPA) por ter isolado os fungos utilizados neste trabalho e por ter descoberto que no meio do caminho havia leveduras.

À Indústria que permitiu a realização das coletas e em especial ao Claudiano que, além de ser a cara do Ben Harper, é um dos caras mais gentis que eu tive o prazer de topar pela vida. Funcionário de baixíssimo nível hierárquico na indústria, o Claudiano revelou um coração nobre feito ouro e também colocou muito a mão na gosma por este trabalho. Não creio que ele vá ler este agradecimento algum dia, mas aqui vai o meu mais tremendo muito obrigado.

Este parágrafo que segue não é um agradecimento, trata-se de um pedido especial de desculpa para a Mãe Terra por tantas artêmias que sacrifiquei para a realização deste trabalho. São pequenas, por certo, mas teriam seus papéis na natureza, se casariam com “o artêmio” e teriam várias “artêmiazinhas” se eu não as tivesse afundado numa água suja. Que fique aqui registrado o meu mais profundo respeito por todos os seres da natureza.

Agradeço aos professores do Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais do LABOMAR e ao coordenador Drude Lacerda pelos subsídios logísticos e intelectuais para uma excelente formação, bem como a todos os funcionários de um modo geral, por fazerem desta instituição um lugar muito agradável de se trabalhar e de evoluir no sentido mais amplo da palavra.

Aos colegas do mestrado pelos bons momentos desfrutados e pelas tantas ajudas que me foram disponibilizadas quando precisei. Um valeuzão especial ao Buda (pelos sushis e pelas duas coletas no meio da chuva quando o Wilson não pôde ir), à Cris, Picolé, Lula, Breno, Louize, Carlos e Lucas. “O sistema é mau, mas minha turma é legal...”.

Por todo o amor, piadas sempre atualizadas e pelas bases fortes de concreto de sempre, agradeço aos meus seis irmãos mais velhos e ao Júlio Pimentel, em especial.

À Alice no País das Maravilhas, mais conhecida como minha mãe, por ser fadinha, princesa e fofinha. Essa minha vida de estudos está dando certo também porque ela botou fé. Depois que o Sr. Pimentinha se foi, ela é quem movimenta as crias e me deu um gás forte para eu estar aqui terminando esse mestrado agora. Valeu, Alicinha. A você, todo amor do mundo.

Finalmente, agradeço ao meu rapaz Lucas Brito que tem feito com que qualquer nuvenzinha negra metida a besta se dissipe fácil, tremendo de medo de tanta felicidade. Essa dissertação está pronta agora, após alguns percalços, com uma pitada da participação dele, mesmo que de forma indireta. Obrigada pelas nossas danças matinais, pelas parcerias guitarra-violão num Bob Dylan repaginado naquele compasso só nosso e pelos sanduichinhos de queijo sempre esticante. Esse casamento é um lençol felpudo.

*O papel do infinitamente pequeno é infinitamente grande.*

Louis Pasteur

# **ANÁLISE ECOTOXICOLÓGICA DO EFLUENTE DA INDÚSTRIA DE BENEFICIAMENTO DA CASTANHA DE CAJU ANTES E APÓS TRATAMENTO EM REATOR AERÓBIO INOCULADO COM FUNGOS.**

Autora: Marcionília Fernandes Pimentel. Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Letícia Veras Costa-Lotufo. Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais.

## **RESUMO**

No estado do Ceará, a castanha é um dos principais produtos de exportação e por conta de tal desenvolvimento, o processamento da castanha tem emitido quantidades significativas de água residuária em ecossistemas aquáticos. Tal efluente apresenta traços do líquido da casca da castanha (LCC), no qual estão presentes fenóis e outros compostos aromáticos que são altamente poluidores. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a eficiência do tratamento realizado na indústria (efluentes BRUTO e TRATADO) e a viabilidade de tratamento em um reator aeróbio de leito fixo e escoamento contínuo ascendente, inoculado com o fungo *Aspergillus niger* (efluentes ENTRADA e SAÍDA), utilizando o teste de toxicidade aguda com *Artemia* sp., além dos níveis de fenóis totais e DQO. Foram realizadas coletas semanais durante os meses de setembro de 2007 a março de 2008 em uma indústria localizada na cidade de Fortaleza. Os resultados dos testes de toxicidade foram comparados a partir dos valores de  $CL_{50}$  e do número de náuplios mortos dentre os 30 expostos na concentração de 4% comum a todos os testes em todas as amostras. Os resultados mostraram que ambos os efluentes coletados na indústria são altamente tóxicos, levando à mortalidade de quase todos os náuplios na concentração de 4% (BRUTO =  $29,6 \pm 0,4$  e TRATADO =  $29,2 \pm 0,1$ ), o que comprova que o tratamento realizado na indústria não é eficiente para remoção de toxicidade. O mesmo ocorreu em relação aos níveis de DQO e fenóis. Com relação ao tratamento biológico realizado em laboratório, pode-se observar acentuada eficiência na remoção de toxicidade, DQO e fenóis. No período de 48h, a média de organismos mortos em 4% do efluente de ENTRADA do reator foi de  $25,4 \pm 2,1$ , enquanto que o efluente da SAÍDA apresentou uma média de  $4,9 \pm 1,9$ . Os valores médios obtidos da dosagem de fenóis totais foram de  $1,16 \pm 0,27$  mg/L para a ENTRADA e  $0,22 \pm 0,06$  mg/L para a SAÍDA ( $p < 0,05$ ). A remoção máxima realizada foi de 98,1 %. Com relação à DQO, os valores médios obtidos foram  $1328,0 \pm 123,4$  mg de  $O_2/L$  para a ENTRADA e  $231,2 \pm 41,9$  mg de  $O_2/L$  para efluente de SAÍDA ( $p < 0,05$ ). As taxas de remoção de DQO alcançaram um valor máximo de 95,8%. Vale ressaltar que foi observada forte correlação positiva entre a toxicidade e a concentração de fenóis, bem como com a DQO. A análise do biofilme presente no efluente final revelou predominância de leveduras e ausência de fungos filamentosos. Pode-se concluir, portanto, que o reator fúngico de leito fixo e escoamento ascendente operado com um tempo de detenção hidráulica de 12 horas pode ser considerado uma alternativa de tratamento biológico para o efluente desse tipo de indústria.

**ECOTOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF EFFLUENTS FROM A CASHEW NUT IMPROVEMENT INDUSTRY BEFORE AND AFTER TREATMENT IN AN AEROBIC FUNGAL BIOREACTOR.** Author: Marcionília Fernandes Pimentel. Supervisor: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Letícia Veras Costa-Lotufo. Master on Marine Tropical Sciences. Universidade Federal do Ceará.

**ABSTRACT**

The cashew nut improvement is a very important and well-developed activity in almost all states of northeast Brazil, especially Ceará. However, there are few studies regarding the contribution of the cashew nut industry to environmental pollution in Ceará. This industry's wastewater contains traces of cashew nut shell liquid (CNSL), in which phenols and other toxic aromatic compounds are present. The aim of this research was to assess the effectiveness of the treatment made by the industry (RAW and TREATED effluents) and the viability of a fixed bed bioreactor inoculated with the fungi *Aspergillus niger* in the treatment of the cashew nut industry's wastewater samples using *Artemia* sp. acute toxicity test. In addition, levels of total phenols and chemical oxygen demand (COD) were determined. Wastewater samples were collected weekly from September 2007 until March 2008 in an industry located at Fortaleza city. The results of the acute toxicity tests were compared using the LC50 values and the dead nauplii number among 30 exposed at the 4% concentration. The results showed that both wastewater are highly toxic on 4% concentration with the mortality of almost all the organisms (RAW =  $29.6 \pm 0.4$  e TREATED =  $29.2 \pm 0.1$ ), demonstrating the ineffectiveness of the treatment made by the industry on the toxicity removal. The same occurred with total phenols and COD analyses. Regarding the biological treatment conducted in the laboratory, it is possible to note a great performance on toxicity, phenols and COD removal. The mean of dead nauplii for INFFLUENT after 24 hours was equal to  $21.1 \pm 2.8$  nauplii, while after 48 hours was  $25.4 \pm 2.1$ . For EFFLUENT the mean of dead organisms after 24 hours was equal to  $1.3 \pm 0.8$ , while after 48 hours was  $4.9 \pm 1.9$ . The mean values obtained from total phenols analysis were  $1.16 \pm 0.27$  mg/L (INFFLUENT) and  $0.22 \pm 0.06$  mg/L (EFFLUENT) ( $p < 0.05$ ). The highest value for phenol removal of the effluent was 98.1%. The mean value of COD was  $1328.0 \pm 123.4$  mg de O<sub>2</sub>/L for INFFLUENT effluent and  $231.2 \pm 41.9$  mg de O<sub>2</sub>/L for EFFLUENT ( $p < 0.05$ ). The bioreactor reached levels of COD removal about 95.8%. A strong positive correlation was observed between toxicity and total phenols concentration and between toxicity and COD. A microbiological analysis of the final effluent were carried out, showing the presence of yeast instead of filamentous fungi. In conclusion the fixed bed fungal bioreactor can be considered an alternative for the biological treatment on this kind of wastewater.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Dados de caracterizações químicas do efluente da Indústria de Beneficiamento de Castanha de Caju realizadas em outros trabalhos.....	11
<b>Tabela 2.</b> Datas de coleta de efluentes seguidas dos números correspondentes às semanas de atividades.....	17
<b>Tabela 3.</b> Composição da solução de macro e micronutrientes utilizada para acelerar o crescimento fúngico.....	20
<b>Tabela 4.</b> Resumo das condições do teste de toxicidade aguda para <i>Artemia</i> sp.....	26
<b>Tabela 5.</b> Valores de $CL_{50}$ com os limites de confiança dos 6 experimentos com SDS e a média geral, seguida do erro padrão da média.....	29
<b>Tabela 6.</b> Valores de $CL_{50}$ dos seis experimentos com Cardol e a média geral, seguida do erro padrão da média e coeficiente de variação.....	30
<b>Tabela 7.</b> Valores de $CL_{50}$ dos seis experimentos com Cardanol e a média geral, seguida do erro padrão da média e coeficiente de variação.....	31
<b>Tabela 8.</b> Valores de $CL_{50}$ com os limites de confiança e número de organismos mortos em 4% do efluente BRUTO, seguidos da média e erro padrão da média e coeficiente de variação.....	32
<b>Tabela 9.</b> Valores de $CL_{50}$ com os limites de confiança e número de organismos mortos em 4% do efluente TRATADO, seguidos da média e erro padrão da média e coeficiente de variação.....	33
<b>Tabela 10.</b> Valores de $CL_{50}$ com os limites de confiança e número de organismos mortos em 4% do efluente da ENTRADA, seguidos da média e erro padrão da média e coeficiente de variação.....	37
<b>Tabela 11.</b> Valores de $CL_{50}$ com os limites de confiança e número de organismos mortos em 4% do efluente da SAÍDA, seguidos da média e erro padrão da média e coeficiente de variação.....	38
<b>Tabela 12.</b> Toxicidade de diferentes tipos de efluentes a <i>Artemia</i> identificados na literatura.	45

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fotografia de um ramo do cajueiro. Em (a): a flor, o pedúnculo (caju) e a castanha; em (b): detalhe da castanha seccionada mostrando casca e amêndoa. Fonte: [www.dendro.cnptia.embrapa.br](http://www.dendro.cnptia.embrapa.br) .....9
- Figura 2.** Fluxograma geral do processo de beneficiamento da castanha de caju. Fonte: Santaella *et al.*, 2002.....10
- Figura 3.** Estrutura química do Ácido Anacárdico (a), Cardol (b) e Cardanol (c).....12
- Figura 4.** Instalação experimental do reator antes da partida. Sala de Reatores do Laboratório de Qualidade de Água e Efluentes - EQUAL - LABOMAR.....18
- Figura 5.** Cultura de *Aspergillus niger* em meio Sabouraud após um dia (A) e após 3 dias (B) de cultivo.....19
- Figura 6.** Crescimento do fungo *A. niger* durante o fluxo da solução de nutrientes (A) e após iniciado o fluxo contínuo com o efluente .....21
- Figura 7.** Sistema de tratamento pelo reator aeróbio de leito fixo e fluxo contínuo ascendente inoculado com o fungo *Aspergillus niger*.....22
- Figura 8.** Náuplio de *Artemia* sp. Fonte: <http://www.sintef.no/Home/Marine>.....23
- Figura 9.** Funil com aeração para eclosão dos cistos de *Artemia* sp.....25
- Figura 10.** Representação esquemática do ensaio de toxicidade aguda com náuplios de *Artemia* sp.....25
- Figura 11.** Distribuição dos valores de Fenóis Totais das amostras do efluente BRUTO e TRATADO.....34
- Figura 12.** Distribuição dos valores de DQO das amostras do efluente BRUTO e TRATADO.....35
- Figura 13.** Distribuição dos valores de Fenóis Totais das amostras de ENTRADA e SAÍDA ao longo de 13 das 23 semanas de atividades.....39
- Figura 14.** Gráfico da dispersão dos valores da remoção (em %) de Fenóis Totais durante as 23 semanas.....40
- Figura 15.** Distribuição dos valores de DQO das amostras de ENTRADA e SAÍDA ao longo de 19 das 23 semanas de atividades.....41
- Figura 16.** Gráfico da dispersão dos valores da remoção (em %) de DQO durante as 23 semanas.....41

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

CAGECE.....	Companhia de Água e Esgoto do Ceará.
CL <sub>50</sub> .....	Concentração letal a 50% dos organismos testados.
CONAMA .....	Conselho Nacional do Meio Ambiente.
CV.....	Coeficiente de variação.
DP. ....	Desvio padrão médio.
EPM.....	Erro padrão da média.
EQUAL.....	Laboratório de Efluentes e Qualidade de Água.
ETAR.....	Estação de Tratamento de Águas Residuárias.
LABOMAR.....	Instituto de Ciências do Mar, UFC.
LCC .....	Líquido da casca da castanha de caju.
OD .....	Oxigênio dissolvido.
pH .....	Potencial hidrogeniônico.
SDS .....	Dodecil Sulfato de Sódio (Substância de referência).
SEMACE.....	Superintendência Estadual do Meio Ambiente do Ceará.
TDH .....	Tempo de Detenção Hidráulica.
TIE .....	Técnicas para Identificação de Agentes Tóxicos.
UFC .....	Universidade Federal do Ceará.
USEPA .....	Agência Americana de Proteção Ambiental.

## LISTA DE ANEXOS

- ANEXO 1** – Fotografias das etapas de tratamento na ETAR da indústria estudada.....68
- ANEXO 2** – Valores de **Concentração de Fenóis Totais** nas amostras de efluente BRUTO, ENTRADA, SAÍDA (seguidos da remoção em %); e TRATADO.....69
- ANEXO 3** – Valores de **DQO** em mg/L O<sub>2</sub> nas amostras de efluente BRUTO, ENTRADA, SAÍDA (seguidos da remoção de DQO em %); e TRATADO. ....70

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	viii
LISTA DE TABELAS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	x
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS .....	xi
LISTA DE ANEXOS .....	xii
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>16</b>
2.1. Objetivo geral .....	16
2.2. Objetivos específicos .....	16
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>17</b>
3.1. Coleta da água residuária.....	17
<b>3.2. Reator .....</b>	<b>18</b>
3.2.1 Características e Instalação Experimental.....	18
3.2.2 Cultura dos Fungos e Inoculação.....	19
3.2.3 Partida e Operação.....	20
<b>3.3. Grupos Experimentais .....</b>	<b>22</b>
<b>3.4. Variáveis Analisadas .....</b>	<b>22</b>
3.4.1 Toxicidade.....	22
3.4.1.1 Preparação das concentrações-teste.....	24
3.4.1.2 Obtenção dos náuplios e pela eclosão dos cistos.....	24
3.4.1.3 Exposição dos náuplios às amostras.....	25
3.4.1.4 Testes de Referência .....	26
3.4.1.5 Variáveis Físico-químicas.....	27
3.4.2 Fenóis Totais .....	27
3.4.3 Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	27

<b>3.5. Análise Estatística</b> .....	28
<b>4. RESULTADOS</b> .....	29
4.1. Validação do Bioensaio .....	29
4.1.1 Teste de Referência com Dodecil Sulfato de Sódio (SDS).....	29
4.1.2 Compostos fenólicos do LCC.....	30
4.2. Eficiência do Tratamento da Indústria.....	31
4.2.1 Toxicidade.....	31
4.2.2 Fenóis Totais .....	34
4.2.3 DQO .....	35
<b>4.3. Eficiência do Reator</b> .....	36
4.3.1 Toxicidade.....	36
4.3.2 Fenóis Totais .....	39
4.3.3 DQO .....	40
<b>4.4. Correlações</b> .....	42
<b>4.5. Microbiota final do reator</b> .....	42
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	43
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	55
<b>7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS POSTERIORES</b> .....	56
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	57
<b>ANEXOS</b> .....	67



## 1. INTRODUÇÃO

Os ambientes aquáticos possuem valor inestimável e são fundamentais para a manutenção da vida no planeta. A qualidade da água de rios, lagos e mares reflete, conseqüentemente, na qualidade de todas as comunidades que dependem direta ou indiretamente destes ambientes. Não obstante, são notórias as grandes modificações que estes ecossistemas vêm sofrendo e, na maioria das vezes, tais modificações são decorrentes das atividades humanas. Nas últimas décadas a humanidade deu grandes passos no desenvolvimento de tecnologias industriais, trazendo certas facilidades e benefícios econômicos, mas nem sempre ambientais.

Nas palavras de Braga (2005), “entende-se por poluição da água a alteração de suas características por quaisquer ações ou interferências, sejam elas naturais ou provocadas pelo homem”. Atualmente, é comum encontrar altos níveis de poluição em lagos, rios e costas adjacentes a áreas industriais e este fato, que traz graves conseqüências ecológicas, tem se tornado o grande desafio dos dias atuais, pois estes contaminantes podem manifestar efeitos deletérios na fauna e flora (KHALLIL & ABDEL-SATER, 1992).

Deve-se ressaltar, também, que os poluentes orgânicos e inorgânicos oriundos das atividades industriais alcançam o ambiente aquático ainda quando lançados no ar ou solo, isto é, o ambiente aquático atua como receptor final de todas estas substâncias, que acabam muitas vezes interagindo de forma adversa com o meio, de acordo com a peculiaridade das características de cada um.

Segundo Sponza (2003), tanto a descarga deliberada, como a emissão acidental de combinações de substâncias químicas no ambiente têm o potencial para romper a estrutura e funcionamento de ecossistemas naturais. Muitas vezes, os poluentes podem passar por transformações físicas, químicas e biológicas fazendo com que até mesmo os organismos de níveis tróficos mais altos possam ser atingidos por bioacumulação de alguns compostos. Sendo assim, esta grande quantidade e variedade de poluentes ocasionam, muitas vezes, impactos irreversíveis.

O termo esgoto é geralmente utilizado para designar despejos provenientes de diversos usos de água. O esgoto resultante de processos industriais é comumente chamado de efluente, resíduo líquido ou rejeito industrial (BRAGA, 2005). Toda a vazão dos despejos de

uma determinada indústria é diretamente proporcional à quantidade de água utilizada, e esta, por sua vez, é função do porte da indústria, processos, grau de reciclagem das matérias primas, existência de pré-tratamento etc. (VON SPERLING, 1996).

Além da vazão, as características físico-químicas e biológicas dos efluentes variam enormemente de acordo com o tipo de indústria e, também, de acordo com as diversas tecnologias empregadas pela mesma. Isso indica que, mesmo no caso de duas indústrias fabricarem o mesmo produto, elas poderão possuir vazões de despejo e características físicas, químicas e biológicas bastante diferentes entre si (VON SPERLING, 1996).

Ao contrário dos despejos domésticos (que possuem picos no início da manhã e no início da noite), os despejos industriais não seguem esse mesmo padrão de lançamento ao longo do dia. Ainda segundo von Sperling (1996), as características de tais despejos também variam substancialmente no decorrer do dia, assim como de indústria para indústria, como já foi citado. Esta ampla variabilidade das características qualitativas dos efluentes industriais dificulta muito qualquer tipo de generalização.

Em consequência desta grande variabilidade das características dos despejos de diferentes indústrias, os estudos específicos para caracterização dos efluentes de cada uma tornam-se cada vez mais relevantes e urgentes, pois, só assim será possível viabilizar formas para controlar ou mesmo deter o potencial poluidor das águas residuárias lançadas atualmente no ambiente.

Certos materiais orgânicos que em muitos casos não são biodegradáveis e não integram os ciclos biogeoquímicos foram definidos por von Sperling (1996) como micropoluentes orgânicos. Estes podem ter origem natural (tanino, lignina, celulose, fenóis) ou antropogênica (despejos industriais, defensivos agrícolas, detergentes, etc.). O autor ressalta que grande parte destes compostos (mesmo em reduzidas concentrações) está associada a problemas de toxicidade.

O fenol e compostos fenólicos similares estão entre as formas de poluição mais danosas presentes em efluentes industriais (RAJKUMAR & PALANIVELU, 2004). Trata-se de compostos orgânicos aromáticos que possuem um ou mais grupo hidroxila ligado a um (ou mais) anel benzênico e tais compostos vêm sendo bastante estudados devido ao grande potencial agregado à sua natureza química de agir de forma adversa no ambiente. De acordo

com Davi & Gnudi (1999), em ambientes aquáticos, eles podem surgir a partir da degradação de substâncias naturais (como a transformação da lignina), por meio do lançamento de efluentes advindos de atividades industriais e práticas agrícolas. Os fenóis são facilmente oxidáveis, possuem fraco caráter ácido, podendo sofrer ionização na água. Possuem odor forte bem característico, sendo tóxicos e cáusticos (FONSECA, 1992).

Atualmente, compostos desta natureza são produzidos em diversos processos industriais, dentre eles pode-se citar: produtos farmacêuticos, indústria alimentícia, pesticidas, preservantes de madeira, carvão, gaseificação, borrachas sintéticas, óleos, refino do petróleo, papel, indústria têxtil, madeireira e outros (AL-KASSIM *et al.*, 1994; AGGELIS *et al.*, 2003; DENIZLI *et al.*, 2004;; RAJKUMAR & PALANIVELU, 2004; SANTOS & LINARDI, 2004; AHMARUZZAMAN & SHARMA, 2005; VEERESH *et al.*, 2005; CHAN & LIM, 2007).

Muitos destes compostos são extremamente prejudiciais, pois são altamente tóxicos tanto para microorganismos como para vertebrados (MARTIRANI *et al.*, 1996) e vêm sendo encontrados em lugares considerados impactados. É importante ressaltar que o nível destes compostos fenólicos em ambientes aquáticos é, geralmente, mais alto que os limites estabelecidos pelas normas para lançamento de efluentes (AHMARUZZAMAN & SHARMA, 2005).

Os efeitos nocivos dos fenóis e seus crescentes teores em efluentes industriais vêm sendo bastante estudados. Segundo Veeresh *et al.* (2005), uma concentração de fenóis totais igual ou maior que 1 mg/L pode afetar a vida aquática, enquanto para Newman & Unger (2003), estes compostos são capazes de interferir no desenvolvimento de muitas espécies aquáticas até em concentrações tão baixas quanto 1µg/L. Os autores afirmam que os alquilfenóis possuem baixa solubilidade e podem contaminar os sedimentos do fundo de rios.

Au *et al.* (2003) estudaram os efeitos subletais do fenol na espermatogênese do ouriço-do-mar *Anthocardaris crassispina* e verificaram que concentrações iguais ou ainda menores que 0,1 mg/L causaram efeitos deletérios à reprodução do organismo. Os autores afirmam que a destruição das estruturas de membrana são danos característicos induzidos pela exposição ao fenol.

No intento de averiguar a toxicidade aguda de fenol em larvas de *Baetis rhodani*, Khatami *et al.* (1998) observaram que todas as concentrações de fenol usadas foram

tóxicas ao inseto, e a mais baixa concentração (2,1 mg/L) causou uma mortalidade de 50% dentro de 11 dias.

Autenrieth *et al.* (1991) apontam os fenóis como tóxicos, carcinogênicos, mutagênicos e teratogênicos, sendo considerados como poluentes prioritários dentro da lista da Agência de Proteção Ambiental Americana - USEPA. Eles podem causar toxicidade, persistência e bioacumulação, efeitos em animais e vegetais e podem ser perigosos para saúde humana (DAVÌ & GNUDI, 1999).

Segundo Braga (2005) “os fenóis e seus compostos existentes em resíduos industriais, além de serem tóxicos, causam problemas em sistemas de tratamento da água, pois combinam-se com cloro para produzir odor e sabor desagradáveis”. De acordo com Rao & Viraraghavan (2002), a contaminação da água de beber por fenóis pode trazer problemas significativos de sabor e odor em concentrações de 1µg/L, tornando-a inadequada. Os autores afirmam, ainda, que o consumo humano de água contaminada por fenóis pode causar dores severas e danos aos vasos capilares, podendo levar o indivíduo à morte.

Portanto, torna-se evidente que resíduos ricos nestes tipos de compostos representam um sério problema. Segundo Sponza (2003), as autoridades deveriam tomar medidas para que fosse reduzida a quantidade total de substâncias tóxicas perigosas urgentemente e drasticamente, antes que elas alcançassem o ambiente aquático. Denizli *et al.* (2004) também enfatizam que os efluentes ricos em fenóis não podem fluir para águas abertas sem antes ter passado por um tratamento rigoroso por causa da alta toxicidade associada. A remoção de fenóis pode ser realizada por meio de processos físicos, químicos e biológicos (VEERESH *et al.*, 2005). Como são relativamente estáveis e solúveis em água, realizar uma degradação que alcance um nível de segurança na gama de 0,1–1,0 mg/L, não é um tarefa fácil (AZEVEDO *et al.*, 2004).

Felizmente, de acordo com a regulamentação exercida pelos órgãos ambientais, Estações de Tratamento de Águas Residuárias, as chamadas ETAR's, vêm sendo requeridas ao longo dos últimos anos. Tais estações têm por objetivo reduzir a carga poluidora dos efluentes antes de os mesmos alcançarem o corpo d'água receptor (FARRÉ & BARCELÓ, 2003; BRAGA, 2005).

Frente à expansão constante do setor industrial e ao avanço irreversível do processo de urbanização, o tratamento dos esgotos é a principal (e muitas vezes a única) estratégia de controle antes do lançamento destes no ambiente.

Para Pessoa & Jordão (2005), uma estação de tratamento de efluentes deve conter equipamentos para tratamentos preliminar, primário, secundário e em alguns casos, se faz necessário tratamento em nível terciário. Por tratamento preliminar entende-se: remoção de sólidos grosseiros, de gordura e de areia; tratamento primário: sedimentação, flotação, sistemas anaeróbios, digestão de lodo e secagem de lodo (ou seja, remoção de sólidos mais finos); tratamento secundário: filtração biológica, lodos ativados e lagoas de estabilização (ou seja, remoção de matéria orgânica). Em alguns casos faz-se necessário um tratamento terciário que consiste na remoção de organismos patogênicos, de nutrientes, e tratamento avançado (ou seja, remoção de substâncias que não são removidas até o tratamento secundário).

Os processos e operações unitárias são agrupados para fornecer vários níveis de tratamento; os termos preliminar e/ou primário referem-se às operações unitárias físicas (que são peneiramento, mistura, floculação, sedimentação, filtração e transferência de gases); o termo secundário se refere aos processos unitários químicos ou biológicos (como precipitação, adsorção e desinfecção ou lagoas de estabilização, lodos ativados, processos anaeróbios para remoção de matéria orgânica) e o termo terciário se refere às combinações dos três anteriores para remover outras substâncias poluidoras (METCALF & EDDY, 1991).

Em quase todos os países do mundo o tratamento de efluentes antes do lançamento é obrigatório, mas o que acontece muitas vezes é que os tratamentos físico-químicos convencionais disponíveis não são eficientes para certos tipos de poluente, além de apresentarem custos elevados. Por outro lado, os processos biológicos podem apresentar uma excelente relação custo/benefício. A degradação biológica de resíduos aquáticos é, geralmente, a mais econômica e eficiente forma de eliminar poluentes (JOU & HUANG, 2003).

Os avanços no campo da biotecnologia e a demanda pela ciclagem de rejeitos agro-industriais para a prevenção da poluição aquática têm estimulado o interesse pelos microorganismos e seus aparatos enzimáticos de degradação (MISHRA *et al.*, 2004). Na busca por métodos alternativos e inovadores no ramo do tratamento de efluentes, muita

atenção tem sido dada ao uso de materiais biológicos como algas, fungos e bactérias em tecnologias de remoção e recuperação. Estas técnicas vêm ganhando cada vez mais destaque nos últimos anos.

O tratamento biológico realizado nas águas residuárias dá-se por meio do consumo de matéria orgânica (e outros compostos específicos) por microrganismos transformando-a em material estável. A degradação biológica pode ocorrer por meio de duas vias básicas: aeróbia ou anaeróbia. O tratamento aeróbio pode ser realizado de duas formas principais: em meio disperso, onde os microrganismos ficam “livres” no meio líquido a ser tratado; e meio fixo, nos quais os microrganismos se aderem a um meio suporte, formando um biofilme. São exemplos de sistemas aeróbios de tratamento de meio fixo os reatores biológicos (leito fixo, expandido ou fluidificado), os biodiscos e disposição no solo (METCALF & EDDY, 1991).

De acordo com Jou & Huang (2003), os métodos utilizados na degradação biológica são escolhidos buscando-se a melhor forma de fornecer o contato próximo dos organismos com os contaminantes, água, nutrientes e ar.

Os reatores biológicos vêm sendo amplamente utilizados ao longo dos anos na biodegradação dos mais diversos tipos de água residuária e com uma vasta gama de microorganismos (HUWANG *et al.*, 2004). Ainda que de forma incipiente, os avanços e descobertas descritos na literatura vêm alcançando, em alguns países, aplicações em escala industrial.

Os biorreatores de leito fixo são boas opções de sistema aeróbio de tratamento secundário na degradação biológica de poluentes orgânicos presentes em efluentes industriais (JOU & HUANG, 2003). Há vários tipos de sistemas de reatores que podem ser utilizados para o tratamento de efluentes fenólicos usando microorganismos (NAIR *et al.*, 2007).

Os fungos são reconhecidos por suas habilidades em produzir proteínas extracelulares, ácidos orgânicos e outros metabólitos e pela capacidade de se adaptarem a condições severas no ambiente. Sob forma de leveduras, filamentos (bolors) ou cogumelos, os fungos têm sido material com os quais muitos fundamentos biológicos têm sido elucidados ao longo dos séculos (CARLILE & WATKINSON, 1996). Também vêm sendo largamente utilizados em biotecnologia industrial para vários processos, incluindo a produção de antibióticos, enzimas, produtos alimentícios, ácidos industriais e álcool

(PRINCE *et al.*, 2001). Devido à produção de certos metabólitos, os fungos têm atraído grande interesse dos pesquisadores envolvidos em questões ambientais. Atualmente, vários grupos de pesquisa se dedicam a estudos de redução de contaminantes em águas residuárias utilizando-se de fungos.

Assim como variados fungos filamentosos, as leveduras têm sido modelo de investigação em diversos trabalhos publicados sobre a atenuação da carga poluidora associada aos resíduos industriais. Certas leveduras são capazes de sobreviver em efluentes extremamente tóxicos e de degradar moléculas grandes e complexas. Alguns autores referem-se a elas como sendo os fungos mais explorados cientificamente devido também às facilidades na manipulação e obtenção (MARIANO-DA-SILVA & BASSO, 2004; ALBERTINI, *et al.*, 2007). De acordo com Pelczar (1980), o fato de a maioria das espécies de leveduras se apresentarem sob forma unicelular, apresentando uma maior relação área/volume, faz com que sejam mais rápidas quanto à reprodução e alterações químicas no meio.

Com relação à degradação microbiana de compostos aromáticos (como os fenóis), Santos & Linardi (2004) disseram que, embora este assunto tenha sido estudado extensivamente, a maior parte do conhecimento sobre vias metabólicas de degradação aromática vem de pesquisas com bactérias. Entretanto, alguns estudos têm mostrado que certos fungos podem exercer um papel importantíssimo na degradação de compostos aromáticos, entre eles, os fenóis.

Contida no grupo dos Ascomycetos, a ordem Eurotiales inclui dois importantes gêneros: *Penicillium* e *Aspergillus* (CARLILE & WATKINSON, 1996). Neste segundo grupo, destaca-se a espécie *Aspergillus niger*, bastante utilizado industrialmente devido à sua capacidade de converter glicose em ácido cítrico. Além do cítrico, esta espécie é fonte comercial de mais três ácidos orgânicos, gluconato, citrato e oxalato (MAGNUSON & LASURE, 2004).

A capacidade de degradação de *A. niger* vem sendo bastante estudada no tratamento de diversos tipos de efluentes. Prince (2001) e colegas investigaram, entre seis fungos diferentes, a habilidade na remoção de cobre e zinco de efluentes da suinocultura. Dentre as seis espécies, *Aspergillus niger* foi o fungo que mais efetivamente removeu cobre

(91%) e zinco (70%) do meio líquido. Kapoor *et al.* (1999) obtiveram sucesso na remoção, realizada por biomassa de *A. niger*, de chumbo, cádmio e cobre de efluentes ricos em metais.

O uso de *A. niger* foi reportado na remoção de cor dos efluentes da fermentação do melado de cana de açúcar (MIRANDA *et al.*, 1996), redução de DQO de efluentes da indústria de batata frita (MISHRA *et al.*, 2004), em reatores para bioremediação de três tipos de efluentes da aquicultura ricos em nitrogênio (HWANG *et al.*, 2004), e na remoção de cor dos resíduos de indústria têxtil (ASSADI & JAHANGIRI, 2001). Em todos estes trabalhos a espécie atuou com êxito nas remoções mostrando estar apta para os mais diversos tipos de tratamentos.

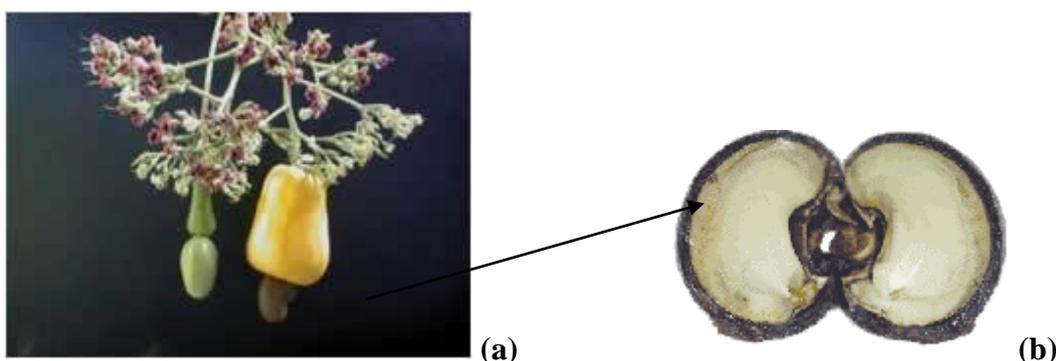
O emprego desta espécie nos estudos relacionados a efluentes fenólicos também está sendo bastante investigado. Um exemplo de efluente altamente rico em fenóis é o da extração de óleo de oliva, uma atividade industrial e social de alta relevância em países mediterrânicos (BAETA-HALL *et al.*, 2005). Aissam (2007) e colegas tiveram bons resultados na redução de fenóis totais e DQO do efluente da oliva por *A. niger* assim como Ongen *et al.* (2007), Garcia *et al.* (2000) e Vassilev *et al.* (1997).

Estudos como estes citados anteriormente, têm sido realizados, essencialmente, em laboratório e isto pode ser explicado pelo fato de a utilização de fungos em biotecnologia ambiental ainda estar sob investigação para que a implementação dos processos seja avaliada (COULIBALY *et al.*, 2003). O uso de fungos para tratamento em escala industrial requer linhagens que possam se adaptar às altas concentrações dos poluentes no efluente (SOUZA *et al.*, 2005). Além disso, Gallego *et al.* (2003) dizem que, apesar da disponibilidade de informações bioquímicas sobre o catabolismo de compostos fenólicos, ainda há uma falta de informações a respeito do “design” e operação de instalações de tratamento.

A produção de castanha de caju destaca-se no cenário da indústria local como uma das atividades econômicas de maior projeção no nordeste brasileiro e se concentra principalmente nos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí. Em particular, o Estado do Ceará é responsável por mais de 50% da produção de castanha de caju em todo o Brasil e é onde está concentrada a indústria de beneficiamento da castanha. Por isso, o Ceará detém cerca de 90% da capacidade de beneficiamento em toda a região nordestina, sendo, também, o principal exportador das amêndoas no país (SINDICAJU, 2008).

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), que pertence à família das Anarcadiáceas, é nativo do nordeste brasileiro sendo também vastamente cultivado hoje na Índia e no leste da África (TREVISAN *et al.*, 2006). O caju, conhecido como fruto do cajueiro, não é fruto e sim um pseudo-fruto ou pedúnculo, que é suculento, carnoso, com a cor variando entre o amarelo e o vermelho. Ligada ao pedúnculo está castanha de caju, um aquênio reniforme de cor castanho-acizentada, o verdadeiro fruto do cajueiro (SOARES, 1986; LORENZI & MATOS, 2002). Na figura 1 é mostrado um ramo do cajueiro, o pedúnculo, a castanha e uma castanha em corte.

A castanha de caju possui uma casca coriácea lisa com peso que varia de 3 a 20 gramas, geralmente. A amêndoa (um dos principais produtos de exportação do Nordeste brasileiro) é a parte comestível da castanha e consiste de dois cotilédones brancos, carnosos e oleosos (localizados internamente) que representam cerca de 28 a 30% do peso do fruto (SOARES, 1986; LORENZI & MATOS, 2002).

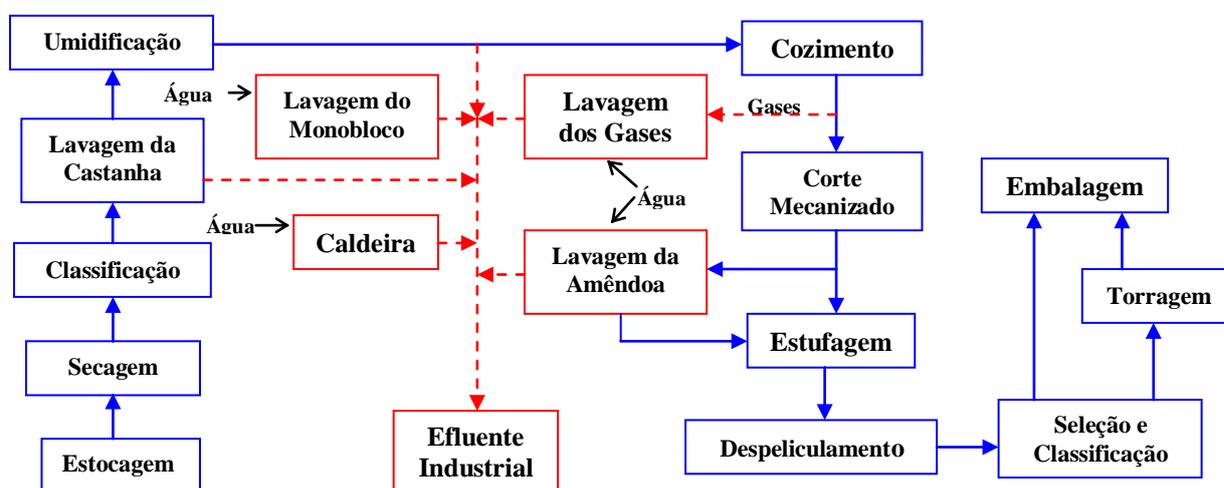


**Figura 1.** Fotografia de um ramo do cajueiro. Em (a): a flor, o pedúnculo (caju) e a castanha; em (b): detalhe da castanha seccionada mostrando casca e amêndoa. Fonte: [www.dendro.cnptia.embrapa.br](http://www.dendro.cnptia.embrapa.br).

Os atuais processos mecanizados para beneficiamento da castanha pouco mudaram desde a época em que Soares (1986) assim os listou: (Castanhas) recepção, pesagem, armazenagem, secagem, pré-limpeza, classificação, lavagem, umidificação, extração do LCC, centrifugação, resfriamento, descorticação; (Amêndoas) secagem da amêndoa, despeliculagem, seleção, classificação, acondicionamento e armazenagem.

Primeiramente, os lotes de castanha de caju que chegam à indústria, passam por uma pesagem na recepção e seguem para um breve armazenamento. Na primeira etapa

propriamente dita do beneficiamento, as castanhas são secas para que se atinja teor de umidade de 8%. Em seguida, as castanhas são classificadas de acordo com o tamanho e lavadas. Após a lavagem, as castanhas são imersas em água por um período de 2 a 3 minutos e ficam em repouso durante dois dias para atingirem o teor de umidade de 11 a 12% (Este procedimento facilita a remoção do LCC). A etapa seguinte, que é de cozimento, é realizada no próprio líquido da castanha de caju. Depois de cozidas, são centrifugadas para a remoção do LCC aderido e depois resfriadas. Após o resfriamento, as castanhas são quebradas, despeliculadas e seguem para um processo rigoroso de classificação e seleção. Finalmente, é realizada a torragem e a embalagem das castanhas, que estão prontas para serem comercializadas. Um fluxograma completo e atual do processo está indicado na figura 2.



**Figura 2.** Fluxograma geral do processo de beneficiamento da castanha de caju. Fonte: Santaella *et al.*, 2002.

Os efluentes líquidos oriundos da indústria estudada são gerados, principalmente, nas etapas de lavagem das castanhas, lavagem de equipamentos, lavagem de gases, assim como da água utilizada na etapa de umidificação da castanha, água de cocção, caldeiras e fornalhas e lavagem de monoblocos (SANTAELLA, 1999). Além dos efluentes advindos dos processos de beneficiamento, somam-se as águas servidas no refeitório e água dos banheiros com exceção dos despejos de vasos sanitários que são ligados diretamente à rede coletora de esgotos domésticos.

Na tabela 1 pode-se observar resultados de caracterizações químicas do efluente da indústria da castanha realizada por outros autores:

**Tabela 1.** Dados de caracterizações químicas do efluente da Indústria de Beneficiamento de Castanha de Caju realizadas em outros trabalhos.

Variáveis	Santaella et al. (1997)	Rabelo (1999)	Santaella et al. (2002)	Santaella et al. (2004)	Santos et al. (2006)	Santos (2008)
DQO (mg/L)	95	974	1921	923	1401	2035
pH	7,7	7,7	6,2	7,3	7,8	7,6
NH <sub>3</sub> (mg/L)	3,5	7,2	30,8	0,3	21,6	18,7
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	-	-	0,2	146,0	-	0,8
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	20,1	-	11,3	1,3	1,9	1,3
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	14,2	15,1	3,8	12,4	8,1	14,5
Fenóis(mg/L)	-	-	-	-	-	13,2
SST (mg/L)	1268,0	761,0	1399,00	-	487,3	473,0
SSV (mg/L)	433,0	-	1139,00	-	436,7	435,9

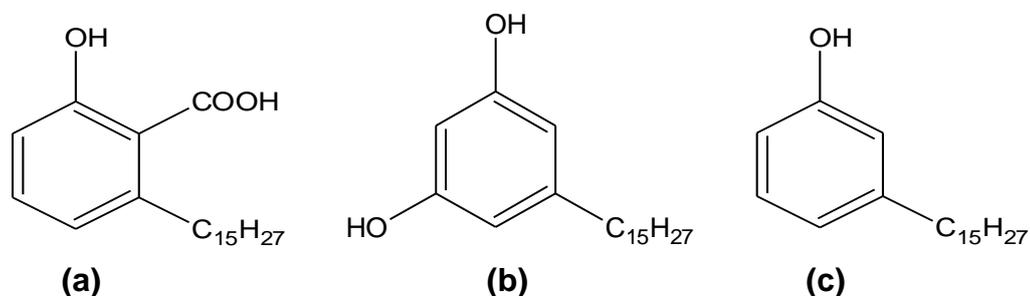
- (variável não determinada na pesquisa). Fonte: Santos, E.M. A, 2008

O processamento da castanha (beneficiamento) consiste na retirada da amêndoa de seu interior e, secundariamente, na extração (da casca) do principal subproduto que é o líquido da casca da castanha (LCC), um óleo-resina cáustico presente no mesocarpo esponjoso do fruto (SOARES, 1986; LORENZI & MATOS, 2002). O líquido da castanha é espesso, de cor escura e seu uso para tratamento de verrugas, calos, edemas, dentre outros, é popularmente difundido. Além destas aplicações, é também muito utilizado por alguns jovens para produzir um tipo primitivo de tatuagens, pois o LCC causa forte irritação na pele deixando cicatrizes quase indelévels (MATOS, 2000).

Segundo Soares (1986), o LCC pode ser submetido a tratamentos adicionais antes de ser comercializado para outras indústrias. Como exemplos de tratamento têm-se: reações de polimerização na produção de resinas fenólicas líquidas, ou reações de condensação com aldeídos. O LCC é utilizado na indústria de polímeros usados para a fabricação de móveis e lonas de freios de veículos automotivos. Kumar *et al.* (2002) ainda citam como exemplos de outras utilizações industriais do LCC o emprego como freio, forros, camadas de superfície, pinturas, e vernizes.

O LCC “in natura” é também chamado de “óleo de prensa”, pois é extraído pela prensagem da castanha a frio. Este óleo, composto de uma mistura de aproximadamente 10% de cardol e 90% de ácido anacárdico, difere do LCC comercializado normalmente por suas características físico-químicas. Com o aquecimento das castanhas no processo de cozimento,

o ácido anacárdico é descarboxilado para dar origem a um fenol conhecido como cardanol (SOARES, 1986; LORENZI & MATOS, 2002). Sendo assim, o LCC é uma fonte natural de fenol. As fórmulas estruturais dos compostos citados estão indicadas na figura 3.



**Figura 3.** Estrutura química do Ácido Anacárdico (a), Cardol (b) e Cardanol (c).

A grande quantidade de águas residuárias do processo de beneficiamento da castanha de caju apresenta traços do LCC que é retirado da castanha durante a fase de extração. Apesar de ser um subproduto recolhido para a comercialização, grande quantidade de LCC é perdida no efluente. Isso ocorre devido ao processo de extração ainda não ser totalmente eficiente.

Devido ao constante crescimento, este setor industrial tem contribuído significativamente para a poluição de corpos hídricos no Estado (SAMPAIO, 2001). Segundo Santaella (1999), neste tipo de indústria, os efluentes são geralmente lançados sem nenhum tratamento, e este, quando existe, não atende às condições impostas pela legislação.

Em um de seus estudos, Santaella *et al.* (2002) chamam atenção para a problemática ambiental em que está envolvido o efluente em questão: “trata-se de um efluente líquido poluidor de características praticamente desconhecidas, que tem causado sérios problemas de poluição nos recursos hídricos onde são lançados, conforme constatação da Superintendência Estadual do Meio Ambiente do Ceará (SEMACE)”.

Pelo fato de se tratar de um efluente rico em compostos fenólicos e, por conseqüência, potencialmente poluente, se faz urgente que mais estudos científicos sejam desenvolvidos para a sua caracterização, pois a carência de informações sobre tal assunto é notória na literatura. São poucos os trabalhos que trazem análises químicas, físicas e principalmente biológicas destas águas residuárias.

Atualmente há, em todo o mundo, uma grade preocupação a respeito dos reais impactos das atividades humanas em ecossistemas aquáticos. Esta preocupação gerou uma demanda por melhores tecnologias baseadas em detecções rápidas e seguras destes impactos. Para Ait-Aissa *et al.* (2003), tem ficado cada vez mais evidente que análises químicas isoladas não são suficientes para se alcançar boas avaliações de risco em amostras ambientais, pois estas não informam a fração de contaminantes disponível para organismos vivos nem os potenciais efeitos deles quando misturados. De acordo com o que foi exposto, para que seja obtido um retrato fiel do impacto, é preciso que haja caracterizações toxicológicas integradas às análises químicas (SVENSSON *et al.*, 2005).

Estudos ecotoxicológicos fundamentados em bioensaios realizados em laboratório vêm sendo bastante utilizados para análises de poluição e contaminação em corpos d'água como forma de melhor integrar, explicar resultados objetivamente e subsidiar a tomada de decisões rápidas e seguras.

Tais análises ecotoxicológicas vêm sendo empregadas no monitoramento de efluentes industriais com o intuito de minimizar o impacto ambiental, avaliar a eficiência de estações de tratamento e também como requisito para a obtenção e manutenção de licenças junto aos órgãos ambientais. Esta vertente da toxicologia investiga os efeitos de substâncias químicas manufaturadas e de outros materiais, antropogênicos ou naturais, em organismos aquáticos (SOUSA, 2002). Entende-se por toxicidade qualquer efeito adverso manifestado por organismos testes, o que pode incluir desde alterações genéticas, imobilidade, deformidades até letalidade.

O estudo dos efeitos negativos causados em organismos por substâncias liberadas no ambiente é operado pela Toxicologia Ambiental ou Ecotoxicologia. O termo Toxicologia Ambiental é comumente utilizado para estudos dos efeitos diretos de xenobióticos na saúde humana. Ecotoxicologia, por sua vez, é uma expressão que se aplica aos estudos dos efeitos desses compostos sobre ecossistemas e seus organismos não-humanos. Entretanto, esta distinção não é muito conveniente, pois o homem não está isolado do ambiente, e como está no topo de muitas cadeias alimentares, os xenobióticos acabam chegando a ele, de uma forma ou de outra (CHASIN & PEDROZO, 2003).

Como já citado, tradicionalmente, a qualidade de vários tipos de efluentes perigosos que são descarregados em ambiente aquático é controlada pelos órgãos ambientais

principalmente baseando-se apenas em química convencional. Recentemente, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) lançou a resolução n.º 357 de 17 de março de 2005 que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes revogando a resolução CONAMA n.º 020 de 18 de junho de 1986. Esta resolução é inovadora ao incluir a realização de ensaios ecotoxicológicos na análise de qualidade de águas e efluentes. Com relação aos efluentes, o parágrafo 1.º do artigo 34 diz que “o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de toxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente” (BRASIL, 2005).

A busca na literatura por estudos de caracterização e redução da toxicidade em estações de tratamento de efluentes industriais no Brasil revela que ainda há muitas lacunas. Diversos contaminantes de toxicidade desconhecida são lançados diariamente no ambiente apesar de (às vezes) os dados físico-químicos serem bem conhecidos. Portanto, é importante que se comece a obter essas informações nas estações em operação, para que se possa avaliar eventuais impactos que um efluente complexo, de baixa biodegradabilidade, embora tratado, pode causar à biota.

Águas residuárias contendo fenóis e outros compostos tóxicos necessitam de tratamentos cuidadosos antes de serem emitidos nos corpos de água receptores (SANTOS & LINARDI, 2004). Entretanto, o tratamento costuma ser difícil por vias convencionais, pois estes compostos inibem as funções normais das populações microbianas afetando, conseqüentemente, o processo de tratamento biológico (RAJKUMAR & PALANIVELU, 2004). Levando-se em consideração a natureza fenólica dos efluentes lançados pela indústria de beneficiamento de castanha de caju e a necessidade em se diminuir a carga tóxica associada a eles, é preciso que sejam feitas avaliações na maneira como o tratamento a estes resíduos vem sendo aplicado.

Sendo assim, o presente trabalho pretende avaliar a viabilidade de um reator aeróbio inoculado com o fungo *Aspergillus niger* na redução da toxicidade do efluente da indústria de beneficiamento de castanha de caju. Trata-se de uma pesquisa formulada e realizada com o intuito de contribuir para o progresso tecnológico no ramo do tratamento biológico de efluentes industriais colaborando, desta forma, com preservação do ambiente

aquático. Diante da escassez de informações a respeito do potencial tóxico e de alternativas de tratamento para este tipo de efluente e, principalmente, por se tratar de um efluente advindo dos processos industriais de uma atividade tão difundida em nosso estado, uma investigação como esta se faz altamente relevante e necessária.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

Avaliar a viabilidade da utilização de reatores aeróbios de leito fixo e fluxo contínuo ascendente, inoculados com o fungo *Aspergillus niger*, para o tratamento dos efluentes da indústria de beneficiamento de castanha de caju, enfatizando a redução de toxicidade.

### 2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a eficiência de um reator aeróbio de leito fixo e fluxo contínuo ascendente com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12 horas, inoculados com o fungo *Aspergillus niger*, na redução de toxicidade do efluente da indústria de beneficiamento de castanha de caju frente ao organismo-teste *Artemia* sp.
- Avaliar a eficiência da estação de tratamento de efluentes da indústria estudada na redução dos níveis de toxicidade, fenóis e DQO.
- Determinar os níveis de demanda química de oxigênio (DQO) e a concentração de fenóis totais do efluente antes e após o tratamento do reator.
- Investigar a existência de correlação entre a toxicidade aguda para *Artemia* sp. e os valores de fenóis totais e DQO do efluente da indústria da indústria da castanha de caju.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Coleta da água residuária

A água residuária utilizada neste trabalho foi coletada em uma indústria de beneficiamento de castanha de caju localizada no município de Fortaleza, Estado do Ceará. A Estação de Tratamento de Água Residuária (ETAR) desta indústria oferece um tratamento que consiste, basicamente, em cinco etapas: separação de sólidos grosseiros; equalização com aeração; peneiramento; decantação e adição de peróxido de hidrogênio (solução aquosa, proporção 15 a 20%). (ANEXO 1).

As coletas foram realizadas semanalmente, sempre no mesmo dia (terça-feira) e horário (10:00h) entre os meses de setembro de 2007 e março de 2008 pela captação pontual em bombas plásticas de 30 litros, manualmente, direto da saída do tanque de equalização da ETAR. Na tabela 2 são mostradas as datas de coleta seguidas pelo número correspondente à semana de experimentos.

**Tabela 2.** Datas de coleta de efluentes seguidas dos números correspondentes às semanas de atividades.

DATA	SEMANA	DATA	SEMANA
25/09/07	*0	18/12/07	11
02/10/07	*0	26/12/07	12
09/10/07	1	02/01/08	13
16/10/07	2	08/01/08	14
23/10/07	3	15/01/08	15
30/10/07	4	22/01/08	16
06/11/07	5	29/01/08	17
12/11/07	6	12/02/08	19
20/11/07	7	19/02/08	20
27/11/07	8	26/02/08	21
04/12/07	9	04/03/08	22
11/12/07	10	11/03/08	23

\*Os dois 0 iniciais correspondem às duas primeiras semanas em que, apesar do funcionamento do reator, não foram realizadas análises. Desta forma, não foram consideradas semanas de atividades.

Após cada coleta, o efluente era transportado diretamente para o Laboratório de Efluentes e Qualidade de Água do LABOMAR onde era iniciada a etapa de adequação do efluente ao reator.

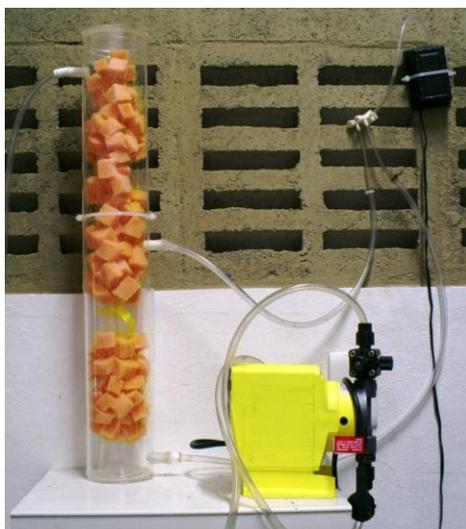
Além do efluente coletado imediatamente antes do tanque de aeração, foram recolhidas (em algumas das semanas) amostras da água residuária que flui do ducto final da estação após todas as etapas de tratamento. Com estas amostras foram realizados testes de toxicidade, determinação de DQO e de fenóis a fim de que fossem comparados este efluente final ao efluente bruto ainda não submetido ao processo de tratamento.

### 3.2 Reator

Nesta pesquisa foi utilizado um reator aeróbio de leito fixo e escoamento contínuo ascendente inoculado com o fungo *Aspergillus niger*.

#### 3.2.1 Características e Instalação Experimental

O reator foi montado a partir de um cilindro de acrílico com 57 cm de altura por 9 cm de diâmetro e um volume total de 3,6 L. Foram inseridos dois pontos de aeração (realizada por mini-compressores de ar), bem como dois ductos (entrada abaixo e saída acima) ligados a uma bomba peristáltica (Figura 4). Logo abaixo do reator, foi colocado um balde com capacidade para 60L que funcionou como reservatório para o efluente coletado



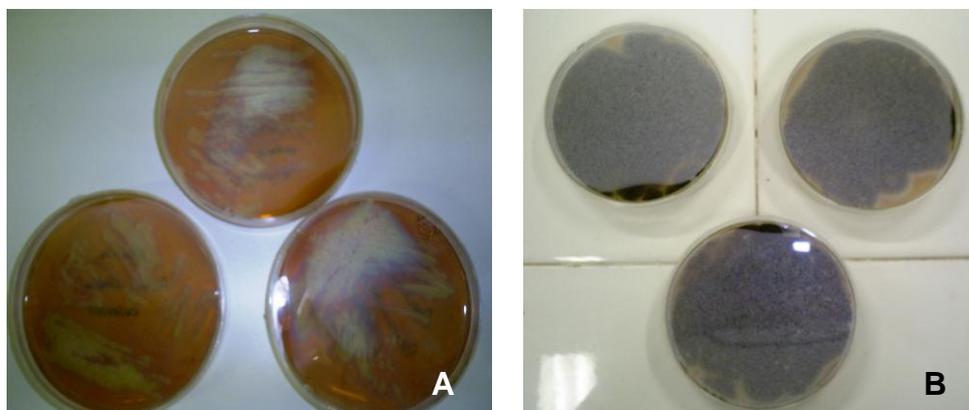
**Figura 4.** Instalação experimental do reator antes da partida. Sala de Reatores do Laboratório de Efluentes e Qualidade de Água - EQUAL – LABOMAR.

O espaço interno do reator foi preenchido com o meio suporte: cubos de 2 cm de aresta de espuma de poliuretano divididos em 3 redes de polietileno. Foram colocados 50

cubos em cada rede. O volume útil do reator (2,9L) foi medido logo após esse procedimento e foi adotado o tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12 horas, vazão de 0,24 L/h.

### 3.2.2 Cultura dos Fungos e Inoculação

Os esporos da espécie fúngica *Aspergillus niger* utilizados neste trabalho foram previamente isolados do próprio efluente da indústria de beneficiamento de castanha onde foram realizadas as coletas. A cultura a partir dos esporos isolados foi feita em placas de Petri em meio de cultura ágar Sabouraud (Figura 5).



**Figura 5.** Cultura de *Aspergillus niger* em meio Sabouraud após um dia (A) e após 3 dias (B) de cultivo.

Uma vez evidenciada a esporulação por meio da visualização de uma cor negra na cultura, os esporos foram removidos das placas com uma solução salina de Tween. Todo o procedimento foi conduzido em meio estéril.

Após ser transferida para um tubo de ensaio, a suspensão de esporos foi submetida a agitação em Vórtex e uma alíquota foi recolhida em frascos estéreis, diluída em 1:10 e submetida a nova agitação. A suspensão diluída de esporos foi transferida para uma Câmara de Neubauer onde a contagem pôde ser realizada no microscópio óptico. A contagem de esporos foi feita seguindo os procedimentos descritos por Antonini (2004).

A concentração de esporos na suspensão foi de  $3,0 \times 10^7$  células/mL. De posse da concentração da suspensão de esporos, do volume útil do reator (2,9L) e da concentração

de esporos pretendida para a partida do reator ( $2 \times 10^6$ ), foi possível calcular o volume necessário da suspensão a ser inoculado no reator (20mL).

Para a inoculação dos fungos no reator foram preparados 3 litros de caldo Sabouraud conforme as instruções do fabricante e adicionados a ele 0,05 g/L de Clorafenicol para evitar o crescimento de bactérias. Depois de autoclavado, o caldo foi colocado aos poucos no reator, alternando-se uma parte do caldo, uma rede de meio suporte e uma parte da suspensão de esporos, repetindo-se o procedimento até que o reator fosse totalmente preenchido.

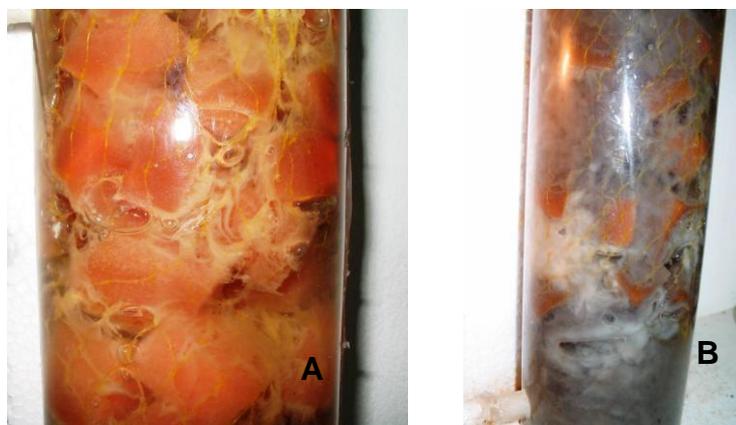
### 3.2.3 Partida e Operação

Com o intuito de promover a germinação dos esporos, o reator permaneceu sem aeração durante as primeiras 24 horas. Após ser ligada, a aeração foi mantida até o último dia de operação do reator sem interrupção. Três dias após a inoculação, o reator passou a ser alimentado com solução de glicose (0,5g/L) e clorafenicol (0,05 g/L) em regime de recirculação. No sexto dia deu-se início ao fluxo contínuo com a mesma solução permanecendo assim até o décimo dia, quando foi preparada uma água residuária sintética composta por macro e micronutrientes (Tabela 3). Esta solução nutritiva passou a ser utilizada na alimentação do reator a fim de que o processo de desenvolvimento dos fungos fosse acelerado.

**Tabela 3.** Composição da solução de macro e micronutrientes utilizada para acelerar o crescimento fúngico.

MACRONUTRIENTES	QUANTIDADE	MICRONUTRIENTES	QUANTIDADE
NH <sub>4</sub> Cl	0,280 g/L	FeCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	2,0 g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,250 g/L	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,05 g/L
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,100 g/L	CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,088 g/L
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	0,010 g/L	MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,5 g/L
Glicose	0,5 g/L	(NH <sub>4</sub> )MoO <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,05 g/L
Clorafenicol	0,05 g/L	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	2,0 g/L
Solução de micronutri.	0,100 g/L		

Ocorreu crescimento fúngico satisfatório nos primeiros 15 dias após a inoculação, mas apenas no vigésimo terceiro dia o reator passou a receber a água residuária da indústria de beneficiamento de castanha de caju, inicialmente numa proporção (V/V) de 40% com 60% da solução de nutrientes. Na figura 6 pode-se observar, no detalhe, parte do micélio fúngico aderido ao meio suporte. No dia seguinte (vigésimo quarto a partir da inoculação) o reator passou a ser operado apenas com o efluente da indústria.



**Figura 6.** Crescimento do fungo *A. niger* durante o fluxo com a solução de nutrientes (A) e após iniciado o fluxo contínuo com o efluente (B).

A cada nova coleta ou reposição no balde, o pH do efluente era ajustado para uma faixa entre 4 e 5 utilizando-se ácido fosfórico ( $H_3PO_4$  Orto - P.M 98,0). A adequação do pH do efluente antes de o mesmo ser bombeado para o reator foi feita devido ao fato de esta faixa ser considerada ideal para crescimento do fungo e inibição de bactérias.

O reator aeróbio de leito fixo e escoamento ascendente (Figura 7) foi operado com homogeneização diária do efluente e monitoramentos de vazão durante o período entre os dias 25 de setembro de 2007 e 25 de março de 2008, totalizando 215 dias. No dia em que foi desmontado, foi recolhida uma alíquota do efluente final e esta foi encaminhada análise em um laboratório especializado para a determinação da microbiota dominante.



**Figura 7.** Sistema de tratamento pelo reator aeróbio de leito fixo e fluxo contínuo ascendente inoculado com o fungo *Aspergillus niger*.

### 3.3 Grupos Experimentais

Para efeito de distinção, assim como para facilitar a leitura, foram escolhidas terminologias específicas para nomear os quatro diferentes tipos de efluente analisados neste trabalho, a saber:

- BRUTO: Efluente coletado na indústria ainda não tratado.
- TRATADO: Efluente que passou por todo o tratamento na indústria.
- ENTRADA: Efluente BRUTO acidificado antes de entrar no reator.
- SAÍDA: Efluente tratado pelos fungos, coletado na saída do reator.

### 3.4 Variáveis Analisadas

Para os quatro grupos experimentais descritos, foram determinadas as seguintes variáveis: toxicidade, fenóis totais e DQO. Paralelamente a cada teste de toxicidade, foram medidos pH, OD e salinidade.

#### 3.4.1 Toxicidade

O microcrustáceo *Artemia* sp. (figura 8) pertence ao filo Arthropoda, classe Crustácea, subclasse Branquiopoda, ordem Anostraca, família Artemidae e Gênero *Artemia* – Leach, 1819. Possui distribuição cosmopolita e habita, principalmente, lagos de água salgada e salina, suportando amplas variações de salinidade. A grande dispersão do gênero pelo mundo em enormes populações pode ser atribuída à reprodução partenogênica com produção de cistos, que ocorre na ausência do macho (VEIGA & VITAL, 2002).



**Figura 8.** Náuplio de *Artemia* sp. Fonte: <http://www.sintef.no/Home/Marine>

Por se tratar de um animal de fácil cultivo (facilidade na obtenção de seus cistos) e de ampla distribuição, *Artemia* sp. tem sido largamente utilizada em testes de toxicidade. O teste com *Artemia* sp. consiste na exposição dos náuplios . na fase II ou III durante 24 e/ou 48 horas a concentrações crescentes da amostra que se pretende testar (no caso deste trabalho, os efluentes) com análise do número de organismos mortos ao final do período de exposição. O resultado pode ser expresso como CL<sub>50</sub>, ou seja, a concentração letal a 50% dos organismos testados. Por ser prático, rápido, padronizado e de fácil implementação, o teste para análise ecotoxicológica tendo *Artemia* sp. como organismo-teste foi escolhido para este trabalho. Neste trabalho, o teste de toxicidade aguda com *Artemia* sp. seguiu o método descrito por Veiga & Vital (2002) com modificações.

Apesar dos testes de toxicidade com efluentes serem comumente realizados com organismos dulcícolas, o fato de o efluente em questão ser lançado ao mar, através de um emissário submarino, justifica o uso de um organismo marinho.

#### 3.4.1.1 Preparação das concentrações-teste

A faixa de concentrações a ser utilizada nos testes foi determinada após uma bateria de experimentos preliminares (dados não mostrados) além do conhecimento dos resultados de um estudo prévio (PIMENTEL, 2006). Partindo destes experimentos piloto e efetuados os ajustes necessários, as dez concentrações definitivas testadas com as amostras de efluente BRUTO, TRATADO e ENTRADA variaram entre as seguintes: 0,007; 0,015; 0,03; 0,06; 0,12; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; e 16%. Com as amostras de efluente da SAÍDA do reator as concentrações testadas foram: 2; 4; 8; 16; 32; 64 e 80%. Todos os experimentos foram executados partindo-se da amostra bruta de efluente com diluições seriadas em água do mar captada em zona oceânica e filtrada em membrana de 0,45 µm que funcionou, também, como controle negativo. De acordo com a USEPA (1991), para maior confiabilidade dos resultados, as concentrações foram testadas em triplicatas.

#### 3.4.1.2 Obtenção dos náuplios pela eclosão dos cistos

Nos testes realizados, foram utilizados náuplios de artemia na fase II, cultivadas no Laboratório de Ecotoxicologia Marinha – Labomar. Sabe-se que, na fase de náuplio II (48 horas de eclosão), as artemias são mais sensíveis às amostras testadas do que na fase de náuplio I (24 horas de eclosão). De acordo com Prósperi (1993), isso se deve ao fato de que no primeiro estágio de vida, o trato digestivo deste crustáceo não entra em contato com o meio externo. Sua alimentação nessas primeiras horas consiste do próprio vitelo armazenado. Na fase II, os náuplios iniciam a alimentação de material particulado, através da ingestão contínua da água.

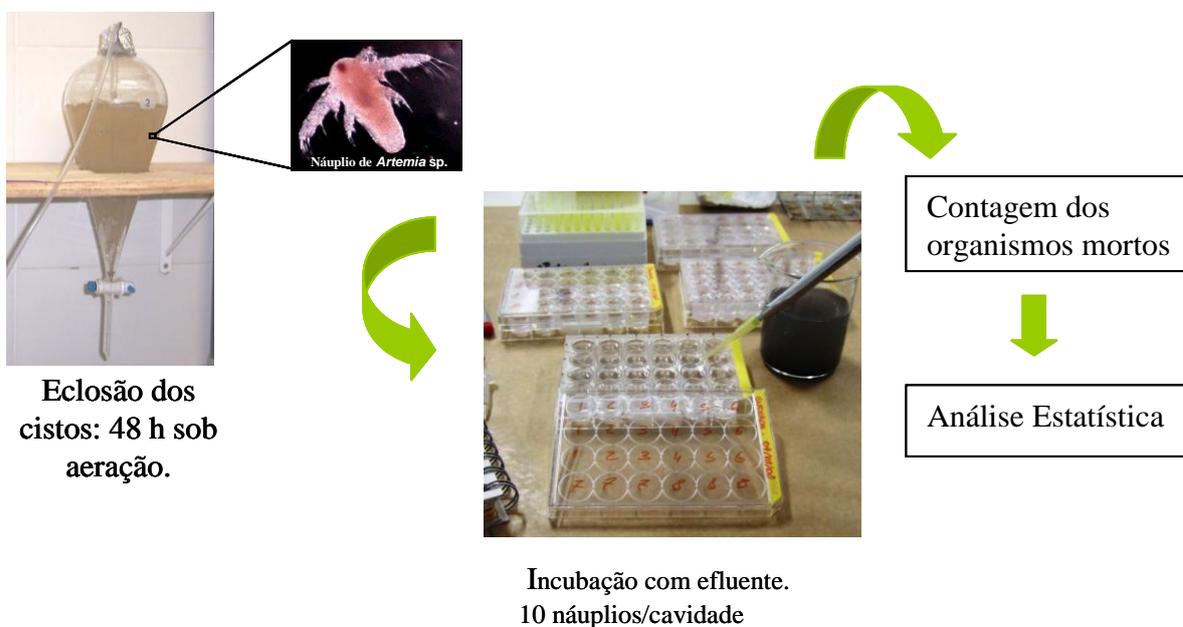
Para obtenção dos náuplios nesta fase, cistos de *Artêmia* sp. foram submetidos a diferentes procedimentos. Na fase de hidratação os cistos foram colocados em 150 mL de água destilada e aerados por 1 hora. Para a etapa de descapsulação, a água destilada foi retirada e 150 mL de hipoclorito de sódio foram introduzidos no recipiente. Após agitação vigorosa, os cistos foram lavados para a etapa seguinte. Na fase de eclosão, os cistos foram transferidos para um funil de separação (Figura 9) contendo água do mar filtrada, e mantidos sob aeração constante durante 48 horas, a  $25 \pm 2^\circ$  C, até atingirem a fase de náuplio II, adequada ao teste.



**Figura 9.** Funil com aeração para eclosão dos cistos de *Artemia* sp.

### 3.4.1.3 Exposição dos náuplios às amostras

O experimento foi realizado em placas estéreis de 24 cavidades. Em cada cavidade foram adicionados 10 náuplios em 0,5 mL de água do mar. A placa foi preparada com concentrações crescentes dos efluentes com três réplicas de cada concentração. O volume final do teste foi 2,5 mL em cada cavidade da placa. Na Figura 10 está ilustrada esquematicamente a realização do teste.



**Figura 10.** Representação esquemática do ensaio de toxicidade aguda com náuplios de *Artemia* sp.

Uma vez preparadas, as placas foram incubadas a 25° C durante 48h. Após os períodos de 24 e de 48h, foram realizadas contagens, em lupa, dos organismos mortos em cada réplica da placa. Os náuplios foram considerados mortos quando não mostraram nenhum movimento durante 10 segundos. Na tabela 4 pode-se observar um resumo das condições de teste.

**Tabela 4.** Resumo das condições do teste de toxicidade aguda para *Artemia* sp.

<b>Tipo de teste</b>	Estático sem renovação de água
<b>Recipiente teste</b>	Placa estéril de 24 cavidades
<b>Volume final</b>	2,5 mL
<b>Água de diluição</b>	Água do mar filtrada (0,45 µm)
<b>Idade dos organismos</b>	48 horas
<b>Número de animais/cavidade</b>	10
<b>Número de réplicas/concentração</b>	3
<b>Temperatura de incubação</b>	24 ± 1° C
<b>Fotoperíodo</b>	12 h luz : 12 h escuro
<b>Duração do teste</b>	48 horas
<b>Resposta</b>	Mortalidade
<b>Valor medido</b>	Concentração letal a 50% dos organismos expostos. (CL <sub>50</sub> )
<b>Aceitabilidade do teste</b>	Percentual de morte no controle abaixo de 10%;

#### 3.4.1.4 Testes de Referência

Para que a sensibilidade do lote de cistos utilizados no presente estudo pudesse ser verificada, foram realizados seis testes com a substância de referência dodecil sulfato de sódio (SDS), um surfactante de toxicidade conhecida. Foi preparada uma solução-estoque de 1 g/L com SDS (C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>SO<sub>4</sub>Na – Sigma) diluído em água destilada e as concentrações utilizadas no teste foram as mesmas recomendadas pelo protocolo seguido neste ensaio. Para a diluição-teste foi utilizada a mesma água do mar filtrada segundo procedimento descrito anteriormente.

Além dos testes com SDS, foram realizados experimentos com dois dos compostos fenólicos majoritariamente presentes no LCC: Cardol e Cardanol. Tais substâncias foram testadas para que fosse avaliada a sensibilidade do organismo escolhido a

tais compostos fenólicos e, por consequência, avaliar se o teste seria adequado ou não para este tipo de amostra.

Os constituintes do LCC foram isolados a partir do LCC técnico segundo os procedimentos propostos por Paramashivappa *et al.* (2001) e Kumar *et al.* (2002) com modificações. O LCC foi solubilizado em metanol e acrescentou-se  $\text{NH}_4\text{OH}$  proporcionalmente à quantidade de LCC conforme literatura. A mistura resultante foi agitada por 15 minutos. O cardanol foi extraído com hexano. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de HCl 5% e água destilada. A fase hexânica foi secada com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e o solvente evaporado em evaporador rotatório. O cardol, por sua vez, foi extraído da solução metanol/hidróxido de amônio com acetato de etila/hexano (4:1). A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de HCl 5% seguido por água destilada. Após secagem com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  o solvente foi removido em evaporador rotatório.

O cardol foi testado em concentrações que variaram de 0,001 a 3 mg/L, enquanto para o cardanol as concentrações variaram de 0,01 a 30mg/L

#### 3.4.1.5 Variáveis Físico-químicas

Paralelamente a cada ensaio de toxicidade foram determinadas, nas concentrações mais altas, as seguintes variáveis físico-químicas: oxigênio dissolvido (OD) medido em mg/L através de um oxímetro portátil; salinidade, medida com uso de um refratômetro de mão; e pH (potencial hidrogeniônico), que foi medido por meio de um potenciômetro.

A determinação destes parâmetros se faz importante para que as condições básicas dos organismos sejam controladas e para que não haja equívoco na interpretação dos resultados.

#### 3.4.2 Fenóis Totais

A determinação da concentração de fenóis totais foi realizada pelo método da extração em clorofórmio de acordo com o protocolo descrito por APHA (2005). Foram medidos fenóis totais das amostras do efluente BRUTO, ENTRADA do reator, SAÍDA e do

TRATADO. Todas as variáveis foram determinadas em duplicata, semanalmente e sempre no mesmo dia.

### 3.4.3 Demanda Química de Oxigênio (DQO)

As medições de DQO foram possíveis pelo método colorimétrico de refluxo fechado seguindo, também, o método proposto por APHA, 2005. Da mesma forma que a medição de fenóis totais, a análise de DQO foi realizada sempre em duplicata e no mesmo dia da semana.

## 3.5 Análise Estatística

Com a realização da contagem de organismos mortos após os intervalos de 24 e 48h, foi efetuado o cálculo da concentração que causou a morte de 50% dos organismos testados ( $CL_{50}$ ) por meio do método *Trimmed Spearman-Kärber* (HAMILTON *et al.*, 1977), assim como o seu intervalo de confiança (IC 95%). Pelo fato de não ter sido possível detectar a  $CL_{50}$  em muitos dos testes, devido à mesma ter estado além dos limites das concentrações testadas, optou-se por utilizar o número de organismos mortos em uma das concentrações (4%) comum a todos os testes em todas as amostras. Esse segundo valor foi utilizado nas comparações estatísticas.

As médias do mesmo tipo efluente obtidas após 24 e 48h de exposição foram comparadas pelo teste t de Student pareado com um nível de significância de 5%. Para a comparação das médias obtidas para tipos de efluentes diferentes após o mesmo período de exposição foi utilizado o teste t de Student não pareado com um nível de significância de 5%.

Para as análises de fenóis totais e DQO, as médias e porcentagem de remoção foram calculadas por meio do programa EXCEL versão 2003.

Tanto para o cálculo das médias de organismos mortos nos testes de toxicidade quanto para a comparação entre os tipos de efluentes e entre os dois tempos de exposição, foi utilizado o programa *GraphPad Prism* versão 4.02 (*GraphPad Software, Inc*).

A ocorrência de correlação entre toxicidade, DQO e fenóis foi avaliada pelo teste de Spearman, considerando um p menor que 0,05 utilizando o programa STATISTICA versão 6.0.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Validação do Bioensaio

#### 4.1.1 Teste de Referência com Dodecil Sulfato de Sódio (SDS)

A sensibilidade do organismo utilizado nos testes de toxicidade (*Artemia* sp.), foi avaliada pelo teste com dodecil sulfato de sódio (SDS), um surfactante bastante empregado na indústria e utilizado, em ecotoxicologia, como substância de referência.

A partir dos seis ensaios realizados com o SDS, as  $CL_{50}$  foram calculadas e os valores podem ser visualizados na tabela 5:

**Tabela 5.** Valores de  $CL_{50}$  com os limites de confiança dos 6 experimentos com SDS e a média geral, seguida do erro padrão da média.

<u>SDS</u> TESTE	<b>24 HORAS</b>	
	$CL_{50}$ (mg/L)	LIMITE DE CONFIANÇA
1	26,60	23,67 – 29,90
2	20,99	19,46 – 22,65
3	26,90	25,27 – 28,53
4	24,30	22,73 – 26,03
5	26,09	24,28 – 28,03
6	23,85	21,92 – 25,95
<b>Média + EPM →</b>	<b>24,78</b> (± 0,91)	

O protocolo seguido neste trabalho (VEIGA & VITAL, 2002) estabelece que a  $CL_{50}$  média em 24 horas deve estar contida numa faixa entre 13,1 e 30,9 mg/L. Pela comparação entre os valores da concentração letal do SDS obtidos e a faixa descrita no método, a sensibilidade dos organismos mostrou-se dentro dos padrões estabelecidos, validando, desta forma, o teste.

#### 4.1.2 Compostos fenólicos do LCC

Foram realizados seis experimentos com CARDOL e em todos eles a substância foi extremamente tóxica à *Artemia* sp. Os valores das  $CL_{50}$  variaram de 0,38 a 0,90 mg/L no período de 24h (média = 0,56 mg/L), enquanto no período de 48h a variação foi de 0,28 a 0,56 mg/L (média = 0,41 mg/L).

Os valores de  $CL_{50}$  calculados para 24 e 48 horas, bem como as médias e os limites de confiança podem ser visualizados na tabela 6:

**Tabela 6.** Valores de  $CL_{50}$  dos seis experimentos com Cardol e a média geral, seguida do erro padrão da média e coeficiente de variação.

<u>CARDOL</u>	24 HORAS		48 HORAS	
	TESTE	$CL_{50}$ (mg/L)	LIMITE DE CONFIANÇA	$CL_{50}$ (mg/L)
1	0,38	0,31 – 0,47	0,28	0,22 – 0,35
2	0,51	0,41 – 0,64	0,34	0,24 – 0,47
3	0,49	0,42 – 0,57	0,45	0,38 – 0,54
4	0,54	*	0,55	*
5	0,55	*	0,56	0,53 – 0,59
6	0,90	0,73 – 1,10	0,28	0,21 – 0,39
<b>Média</b>	<b>0,56</b>		<b>0,41</b>	
<b>EPM</b>	(± 0,07)		(± 0,05)	
<b>C.V</b>	31,44%		31,31%	

\* Limite de confiança não determinado.

Assim como com o CARDOL, seis experimentos foram feitos com o CARDANOL e apesar dos valores levemente superiores das  $CL_{50}$  em 24 horas, este composto fenólico também apresentou altas taxas de letalidade ao organismo-teste. As  $CL_{50}$  médias calculadas para o CARDANOL foram: 1,58 mg/L (24h) e 0,42 mg/L (48h).

Os valores de  $CL_{50}$  calculados para 24 e 48 horas, seguidas dos respectivos limites de confiança, podem ser vistos na tabela 7:

**Tabela 7.** Valores de CL<sub>50</sub> dos seis experimentos com Cardanol e a média geral, seguida do erro padrão da média e coeficiente de variação.

<u>Cardanol</u>	<b>24 HORAS</b>		<b>48 HORAS</b>	
	<b>TESTE</b>	<b>CL<sub>50</sub> (mg/L)</b>	<b>LIMITE DE CONFIANÇA</b>	<b>CL<sub>50</sub> (mg/L)</b>
<b>1</b>	1,38	0,91 – 2,09	0,14	0,09 – 0,20
<b>2</b>	0,89	0,61 – 1,31	0,16	0,11 – 0,22
<b>3</b>	1,07	0,84 – 1,37	0,29	0,23 – 0,36
<b>4</b>	0,90	0,60 – 1,36	0,12	0,09 – 0,15
<b>5</b>	2,64	1,87 – 3,73	1,13	0,82 – 1,55
<b>6</b>	2,65	1,94 – 3,63	0,68	0,58 – 0,81
<b>Média</b>	<b>1,58</b>		<b>0,42</b>	
<b>EPM</b>	(± 0,34)		(± 0,16)	
<b>C.V</b>	52,73%		96,69%	

## 4.2 Eficiência do Tratamento da Indústria

Para que fosse averiguada a eficiência do tratamento que é oferecido ao efluente pela própria indústria onde foram realizadas as coletas em sua ETAR, foram executados sete experimentos comparativos de toxicidade com o efluente TRATADO e BRUTO, pareados no mesmo dia e hora e, a partir de tais experimentos, pôde-se estabelecer uma relação entre os dois. As duas categorias de efluente foram também comparadas no que diz respeito à DQO e concentração de fenóis totais.

### 4.2.1 Toxicidade

Para maior confiabilidade na interpretação dos dados, foram monitorados parâmetros físico-químicos em cada teste na concentração mais alta testada de cada amostra. A maior concentração do efluente BRUTO (16%) apresentou uma salinidade média de 34,5 (EPM = 0,74), nível de oxigênio dissolvido de 6,1 mg/L (EPM = 0,37) e pH médio de 7,8 (EPM = 0,16).

Das sete amostras analisadas nos testes comparativos, todas se mostraram tóxicas à *Artemia* sp. Os valores das CL<sub>50</sub> variaram de 0,04 a 3,10 % no período de 24h, enquanto no período de 48h a variação foi de 0,07 a 1,40 %.

O número de organismos mortos na diluição a 4% também foi utilizado nas análises estatísticas, uma vez que em muitos testes não foi possível calcular o valor exato da CL<sub>50</sub>, pois esta foi inferior à menor concentração testada. No período de 24h, a média de organismos mortos em 4% foi de 28,1 ± 1,1 náuplios, enquanto em 48h a média foi de 29,6 ± 0,4 náuplios, sendo o número total de 30 expostos. O resultado dos experimentos de toxicidade com o efluente BRUTO pode ser observado na tabela 8, onde estão expostos os valores de CL<sub>50</sub> bem como o número de organismos mortos na concentração 4%.

Os valores das CL<sub>50</sub> obtidos após 24 e 48 horas, apesar de bastante próximos, foram significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ), enquanto que não ocorreram diferenças significativas entre o número de náuplios mortos na concentração de 4% do efluente BRUTO obtido após 24 e 48 horas de incubação ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 8.** Valores de CL<sub>50</sub> com os limites de confiança e número de organismos mortos em 4% do efluente BRUTO, seguidos da média e erro padrão da média e coeficiente de variação.

<b>BRUTO</b> <b>SEMANA</b>	<b>24 HORAS</b>			<b>48 HORAS</b>		
	<b>CL<sub>50</sub> (%)</b>	<b>LIMITE DE CONFIANÇA</b>	<b>Nº DE MORTOS (N=30)</b>	<b>CL<sub>50</sub> (%)</b>	<b>LIMITE DE CONFIANÇA</b>	<b>Nº DE MORTOS (N=30)</b>
<b>3</b>	0,46	0,34 – 0,62	30	0,07	0,04 – 0,10	30
<b>4</b>	* < 0,03	-	30	* < 0,03	-	30
<b>5</b>	0,04	0,02 – 0,06	30	* < 0,03	-	30
<b>6</b>	0,23	0,17 – 0,31	30	* < 0,03	-	30
<b>13</b>	1,47	1,16 – 1,85	27	0,36	0,28 – 0,46	30
<b>14</b>	0,88	0,71 – 1,10	28	0,16	0,13 – 0,20	30
<b>15</b>	3,10	2,75 – 3,49	22	1,40	1,08 – 1,80	27
<b>Média</b>	<b>1,03</b>		<b>28,1</b>	<b>0,50</b>		<b>29,6</b>
<b>EPM</b>	± 0,46		± 1,1	± 0,30		± 0,4
<b>CV</b>	110,24%		10,55%	123,37%		3,83%

\* Valores de CL<sub>50</sub> não calculados por serem maiores (>) ou menores (<) que a maior e menor concentrações testadas, respectivamente. A média calculada não considerou os experimentos onde não foi possível calcular a CL<sub>50</sub>.

Com relação às determinações físico-químicas, a maior concentração do efluente TRATADO (16%) apresentou uma salinidade média de 20 (EPM = 6,0), nível de oxigênio dissolvido de 6,2 mg/L (EPM = 0,8) e pH médio de 7,4 (EPM = 0,4).

Por meio da análise dos resultados obtidos dos sete testes, foi possível observar que, assim como no BRUTO, todas as amostras apresentaram toxicidade aos organismos em 24 e 48h. Os valores das  $CL_{50}$  variaram de 0,04 a 2,64 % e de 0,10 a 0,49 % em 24 e 48h, respectivamente.

No período de 24h, a média de organismos mortos em 4% foi de  $27,7 \pm 0,9$  náuplios, enquanto em 48h a média foi de  $29,2 \pm 0,1$  náuplios mortos, sendo  $N = 30$ .

Como resultados dos testes com o TRATADO, os valores de  $CL_{50}$  bem como o número de organismos mortos na concentração 4% podem ser observados na tabela 9.

Não ocorreram diferenças significativas entre os valores de  $CL_{50}$  ou do número de náuplios mortos na concentração de 4% do efluente TRATADO obtidos após 24 e 48 horas de incubação ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 9.** Valores de  $CL_{50}$  com os limites de confiança e número de organismos mortos em 4% do efluente TRATADO, seguidos da média e erro padrão da média e coeficiente de variação.

<u>TRATADO</u>	24 HORAS			48 HORAS		
	SEMANA	$CL_{50}$ (%)	LIMITE DE CONFIANÇA	Nº DE MORTOS (N=30)	$CL_{50}$ (%)	LIMITE DE CONFIANÇA
3	* < 0,03	-	24	* < 0,03	-	30
4	0,04	0,01 – 0,10	30	* < 0,03	-	30
5	0,04	0,01 – 0,10	30	* < 0,03	-	30
6	0,29	0,22 – 0,38	30	* < 0,03	-	30
13	1,91	1,58 – 2,30	26	0,49	0,38 – 0,63	30
14	0,64	0,52 – 0,79	28	0,10	0,08 – 0,13	30
15	2,64	2,21 – 3,16	26	0,14	0,88 – 1,46	29
<b>Média</b>	<b>0,93</b>		<b>27,7</b>	<b>0,24</b>		<b>29,9</b>
<b>EPM</b>	$\pm 0,44$		$\pm 0,9$	$\pm 0,12$		$\pm 0,1$
<b>CV</b>	117,84%		8,77%	88,17%		1,27%

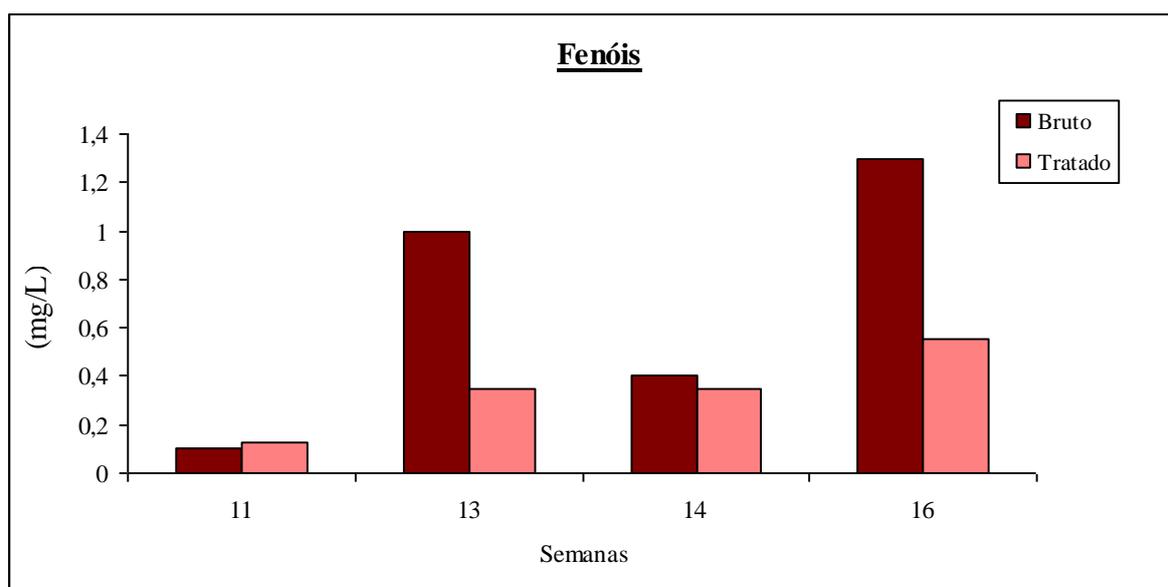
\* Valores de  $CL_{50}$  não calculados por serem maiores (>) ou menores (<) que a maior e menor concentrações testadas, respectivamente. A média calculada não considerou os experimentos onde não foi possível calcular a  $CL_{50}$ .

A comparação da toxicidade observada nos efluentes BRUTO e TRATADO da indústria foi realizada pelo teste t de Student não pareado para os dois tempos de incubação, 24 e 48 horas, considerando tanto os valores de  $CL_{50}$  quanto o número de náuplios mortos. Nestas análises não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ), demonstrando que os efluentes BRUTO e TRATADO têm toxicidade equivalente.

#### 4.2.2 Fenóis Totais

Os resultados das análises comparativas entre o efluente TRATADO e BRUTO no que diz respeito às medições de fenóis totais apontam, também, para uma equivalência entre os dois efluentes com ( $p > 0,05$ ). No gráfico de colunas da figura 11 está apresentada a distribuição dos teores fenólicos dos efluentes TRATADO e BRUTO apenas para aquelas semanas onde foi possível obter a concentração de fenóis dos dois efluentes em questão. Todos os valores obtidos podem ser visualizados na tabela do ANEXO 2.

Para o efluente BRUTO, os valores de fenóis totais variaram de 0,10 a 3,50 mg/L, com valor médio de  $1,53 \pm 0,49$  mg/L ( $n = 7$ ), enquanto que para o efluente TRATADO, esses valores variaram de 0,13 a 0,55 mg/L, com valor médio de  $0,34 \pm 0,08$  mg/L ( $n = 4$ ).

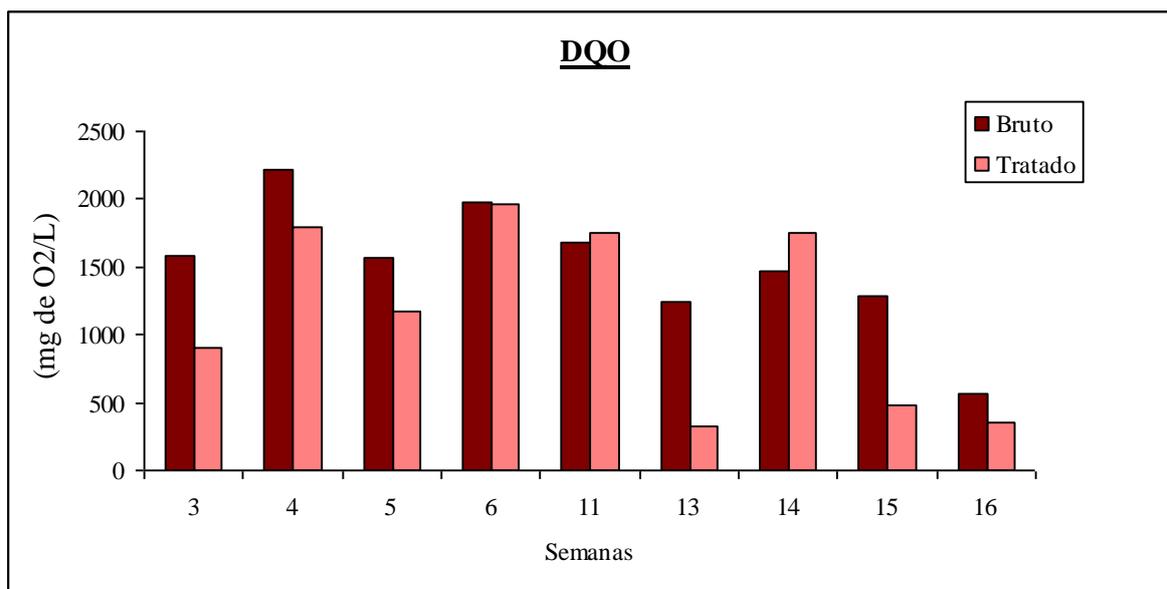


**Figura 11.** Distribuição dos valores de Fenóis Totais das amostras do efluente BRUTO e TRATADO.

#### 4.2.3. DQO

A mesma constatação foi feita após a comparação com relação aos valores de DQO, isto é, os valores obtidos das análises com os dois efluentes se comportam de maneira similar não tendo sido observada nenhuma diferença significativa entre os dois. ( $p > 0,05$ ). Na figura 12 está representada a distribuição dos valores de DQO dos efluentes BRUTO e TRATADO nas semanas onde foi possível obter os valores para ambos os efluentes. Todos os valores obtidos podem ser visualizados no ANEXO 3.

Para o efluente BRUTO, os valores de DQO variaram de 346 a 2231,2 mg de  $O_2/L$ , com valor médio de  $1529,0 \pm 149,1$  mg de  $O_2/L$  ( $n = 14$ ), enquanto que para o efluente TRATADO, esses valores variaram de 331,8 a 1968,3 mg de  $O_2/L$ , com valor médio de  $1169 \pm 225,2$  mg de  $O_2/L$  ( $n = 9$ ).



**Figura 12.** Distribuição dos valores da DQO nas amostras do efluente BRUTO e TRATADO.

Tanto os valores de Fenóis totais quanto de DQO apresentam grande variação ao longo do estudo, e tal variação ocorre devido aos diferentes procedimentos que podem ocorrer na indústria nos dias de coleta. Dependendo do volume de trabalho, processos, lavagem de estruturas ou máquinas e de muitos outros fatores, o efluente pode variar bastante com relação à matéria orgânica.

### 4.3 Eficiência do Reator

Como ponto principal deste trabalho, temos a verificação da eficiência do tratamento biológico aqui proposto por meio da comparação entre os resultados das análises feitas com o efluente antes (ENTRADA) e após (SAÍDA) passar pela degradação fúngica no reator.

Para efeito de comparação, foram utilizados apenas os dados referentes ao efluente de ENTRADA e SAÍDA, uma vez que a comparação entre os dados obtidos (toxicidade, DQO e fenóis) com o efluente BRUTO e o de ENTRADA no reator não mostraram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ).

Vale ressaltar que o pH representa o diferencial entre os dois efluentes e, pelo que foi evidenciado através da comparação estatística, esta diferença não influenciou nos resultados.

#### 4.3.1 Toxicidade

O efluente da ENTRADA do reator foi coletado diretamente do balde de onde era bombeado ascendentemente.

As variáveis físico-químicas monitoradas em cada teste, na concentração mais alta (16%), revelaram: salinidade média de 34,9 (EPM = 0,46), nível de oxigênio dissolvido de 6,2 mg/L (EPM = 0,32) e pH médio de 6,9 (EPM = 0,16).

Todas as dezessete amostras analisadas nos testes comparativos foram tóxicas à *Artemia* sp. assim como no BRUTO e TRATADO. Os valores das  $CL_{50}$  para o efluente da ENTRADA variaram de 0,07 a 14,8 % no período de 24h, enquanto no período de 48h a variação foi de 0,02 a 11,9 %.

No período de 24h, a média de organismos mortos em 4% foi de  $21,7 \pm 2,8$  náuplios, enquanto em 48h a média foi de  $25,4 \pm 2,1$ , sendo o número total de 30 náuplios expostos. A comparação entre os valores de  $CL_{50}$  e do número de náuplios mortos em 4% após 24 e 48 horas de incubação revelou diferenças significativas entre os dois parâmetros ( $p < 0,05$ ), indicando um ligeiro aumento de toxicidade com aumento do tempo incubação.

Os resultados dos experimentos de toxicidade com o efluente ENTRADA podem ser observados na tabela 10, na qual estão expostos os valores de  $CL_{50}$  bem como o número de organismos mortos na concentração 4%.

**Tabela 10.** Valores de CL<sub>50</sub> com os limites de confiança e número de organismos mortos em 4% do efluente da ENTRADA, seguidos da média e erro padrão da média e coeficiente de variação.

<u>ENTRADA</u>	24 HORAS			48 HORAS		
	CL <sub>50</sub> (%)	LIMITE DE CONFIANÇA	Nº DE MORTOS (N=30)	CL <sub>50</sub> (%)	LIMITE DE CONFIANÇA	Nº DE MORTOS (N=30)
2	0,19	0,09 – 0,41	28	* < 0,06	-	30
3	0,64	0,48 – 0,85	28	* < 0,06	-	30
4	* < 0,03	-	30	* < 0,03	-	30
5	0,18	0,13 – 0,25	30	* < 0,03	-	30
6	0,13	0,09 – 0,17	30	* < 0,03	-	30
7	0,16	0,13 – 0,20	30	* < 0,007	-	30
9	3,17	2,77 – 3,64	21	1,16	0,94 – 1,43	29
10	0,07	0,06 – 0,09	30	0,02	0,02 – 0,02	30
13	1,41	1,18 – 1,69	28	0,57	0,45 – 0,51	30
14	1,15	0,94 – 1,39	30	0,18	0,14 – 0,23	30
15	2,88	2,58 – 3,21	24	1,07	0,84 – 1,35	30
16	* > 4	-	0	1,83	1,03 – 3,25	19
19	0,85	0,52 – 1,36	26	0,04	0,02 – 0,06	30
20	14,81	10,17 – 21,58	6	4,72	3,73 – 5,98	12
21	* > 16	-	0	11,99	7,80 – 18,42	5
22	12,03	10,51 – 13,76	4	4,43	3,40 – 5,49	7
23	8,28	6,25 – 10,98	13	1,14	0,88 – 1,49	30
<b>Média</b>	<b>3,28</b>		<b>21,1</b>	<b>2,47</b>		<b>25,4</b>
<b>EPM</b>	± 1,29		± 2,8	± 1,07		± 2,1
<b>CV</b>	147,51%		54,75%	143,90%		34,67%

\* Valores de CL<sub>50</sub> não calculados por serem maiores (>) ou menores (<) que a maior e menor concentrações testadas, respectivamente. A média calculada não considerou os experimentos onde não foi possível calcular a CL<sub>50</sub>.

O efluente designado SAÍDA foi coletado diretamente num béquer do ducto superior do reator de onde fluía após 12 horas de tratamento. Foram medidas as variáveis físico-químicas na diluição mais alta (80%) e estes apresentaram os seguintes valores: salinidade média de 9,4 (EPM = 0,33), nível de oxigênio dissolvido igual a 6,1 mg/L (EPM = 0,82) e pH médio de 6,8 (EPM = 0,18).

Os resultados dos experimentos de toxicidade com amostras da SAÍDA foram bastante diferentes dos encontrados nas análises da ENTRADA e dos demais, com valores médios de CL<sub>50</sub> de 38,14 ± 11,2 % e 42,26 ± 8,3% para 24 e 48 horas de incubação

respectivamente. A CL<sub>50</sub> mínima calculada foi 4,45 % e a máxima de 77,49 % em 24 horas. Para o período de 48 horas a CL<sub>50</sub> variou de 6,82 a 79,55 %.

Dos 30 náuplios expostos à diluição de 4% na SAÍDA o número médio de mortos foi de  $1,3 \pm 0,8$  em 24h e  $4,9 \pm 1,9$  em 48h (tabela 11). A comparação entre os valores de CL<sub>50</sub> e número de náuplios mortos em 4% após 24 e 48 horas de incubação com o efluente da SAÍDA revelou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 11.** Valores de CL<sub>50</sub> com os limites de confiança e número de organismos mortos em 4% do efluente da SAÍDA, seguidos da média e erro padrão da média e coeficiente de variação.

<u>SAÍDA</u> SEMANA	24 HORAS			48 HORAS		
	CL <sub>50</sub> (%)	LIMITE DE CONFIANÇA	Nº DE MORTOS (N=30)	CL <sub>50</sub> (%)	LIMITE DE CONFIANÇA	Nº DE MORTOS (N=30)
2	4,45	3,48 – 5,70	13	* < 0,06	-	29
3	41,91	36,49 – 48,14	0	40,79	35,38 – 47,01	0
4	* > 80	-	1	* > 80	-	10
5	* > 80	-	0	* > 80	-	4
6	* > 80	-	0	* > 80	-	2
7	17,82	15,27 – 20,79	0	6,82	6,01 – 7,44	5
9	* > 80	-	0	* > 80	-	1
10	10,26	6,42 – 16,37	5	4,11	3,48 – 4,86	16
13	* > 80	-	0	62,12	56,42 – 68,39	0
14	* > 80	-	1	79,55	71,04 – 89,09	4
15	* > 80	-	0	* > 80	-	0
16	75,66	70,01 – 81,76	0	46,66	44,75 – 48,65	0
19	* > 80	-	0	11,55	8,81 – 15,14	9
20	* > 80	-	0	78,25	73,22 – 83,64	0
21	* > 80	-	1	60,54	55,86 – 65,62	2
22	39,40	35,38 – 43,57	1	22,36	21,64 – 23,11	1
23	77,49	71,92 – 83,49	0	52,09	47,76 – 56,82	0
<b>Média</b>	<b>38,14</b>		<b>1,3</b>	<b>42,26</b>		<b>4,9</b>
<b>EPM</b>	$\pm 11,2$		$\pm 0,8$	$\pm 8,3$		$\pm 1,9$
<b>CV</b>	77,9%		251,53%	65,16%		156,97%

\* Valores de CL<sub>50</sub> não calculados por serem maiores (>) ou menores (<) que a maior e menor concentrações testadas, respectivamente. A média calculada não considerou os experimentos onde não foi possível calcular a CL<sub>50</sub>.

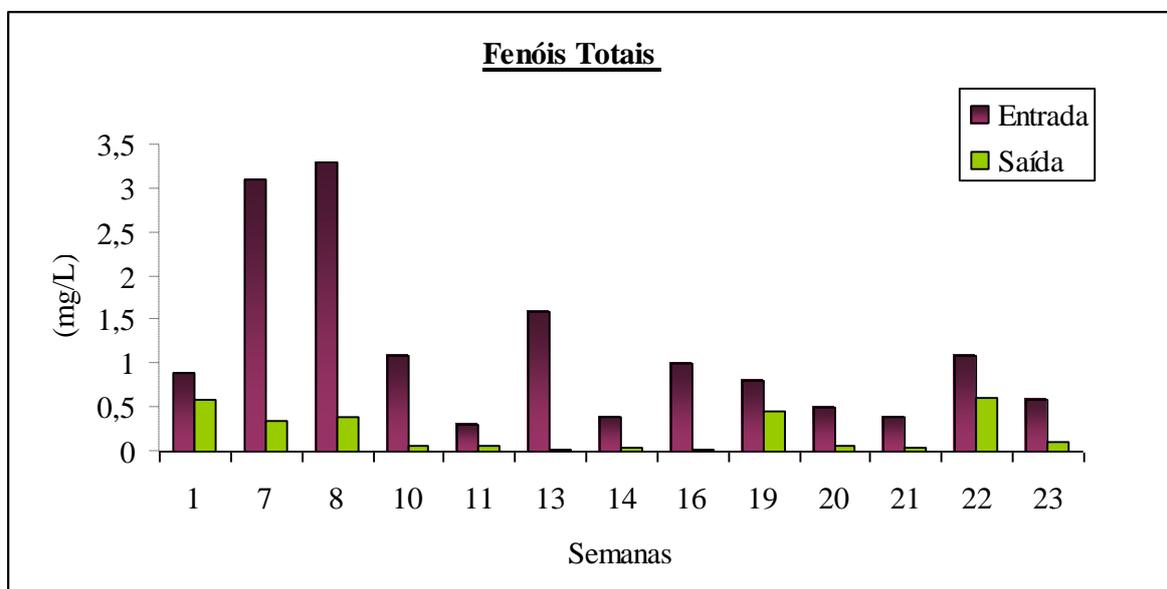
Quando comparados os valores obtidos (CL<sub>50</sub> e nº. de náuplios mortos) dos efluentes de ENTRADA e SAÍDA do reator, foram observadas diferenças significativas para ambos os tempos de incubação ( $p < 0,05$ ), ressaltando a redução de toxicidade pelo

tratamento biológico. Sendo assim, os valores de  $CL_{50}$  foram significativamente maiores para o efluente de SAÍDA, enquanto que o n°. de náuplios mortos em 4% foi significativamente menor.

#### 4.3.2 Fenóis Totais

A determinação de fenóis totais foi realizada semanalmente por meio do método da extração em formol e a leitura feita em espectrofotômetro. Por motivos operacionais, não foi possível fazer a determinação em todas as semanas de atividades. A tabela com os resultados das medições nas quatro categorias de efluente pode ser observada no ANEXO 2.

Os valores de fenóis totais na ENTRADA apresentaram grande variação ao longo dos seis meses de coleta. No gráfico da figura 13 – no qual é apresentado o valor da concentração de fenóis na ENTRADA e SAÍDA – pode-se observar claramente esta variação. Pela análise do gráfico, tornam-se evidentes, também, os baixos níveis de fenóis da SAÍDA com relação à ENTRADA. Para a ENTRADA, o maior valor obtido foi de 3,3 mg/L, enquanto para a SAÍDA foi de apenas 0,62 mg/L. Os valores médios obtidos foram de  $1,16 \pm 0,27$  mg/L para efluente de ENTRADA e  $0,22 \pm 0,06$  mg/L para efluente de SAÍDA ( $p < 0,05$ ).

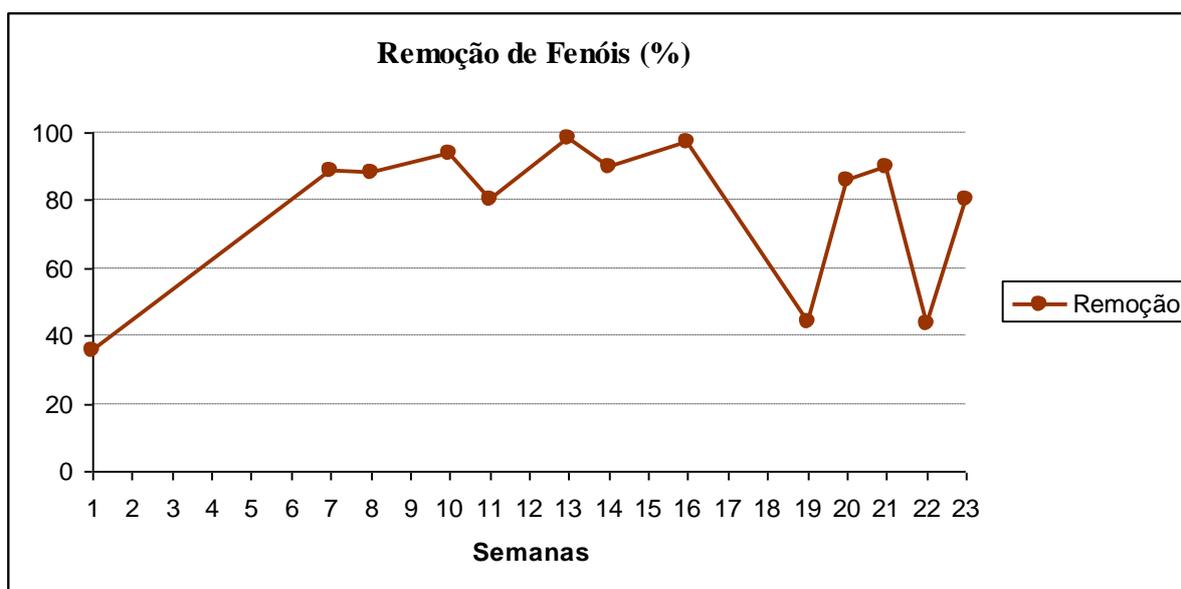


**Figura 13.** Distribuição dos valores de fenóis totais das amostras de ENTRADA e SAÍDA ao longo de 13 das 23 semanas de atividades.

Para bem ilustrar a eficiência dos fungos do reator na degradação dos compostos fenólicos presentes no efluente, um percentual de remoção foi obtido por meio da equação:

$$\text{Remoção (\%)} = (1 - S/E) \times 100$$

Sendo (E), a ENTRADA e (S) a SAÍDA. Os valores percentuais de remoção podem ser visualizados tanto no ANEXO 2 como no gráfico da figura 14.



**Figura 14.** Gráfico da dispersão dos valores da remoção (em %) de Fenóis Totais durante as 23 semanas.

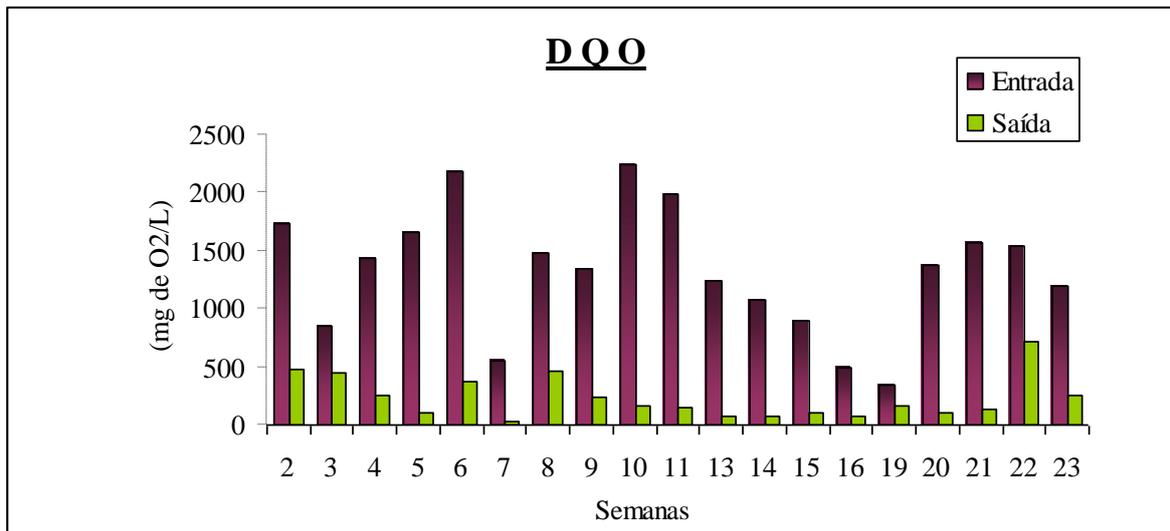
Pela análise do gráfico da figura 14, pode-se observar bons percentuais de remoção de Fenóis Totais após a degradação fúngica no reator, sendo a remoção média de 78% com máxima de 98,1 %.

#### 4.3.3. DQO

No ANEXO 3 pode ser observada a tabela com os valores obtidos das análises com os efluentes: BRUTO, ENTRADA, SAÍDA e TRATADO.

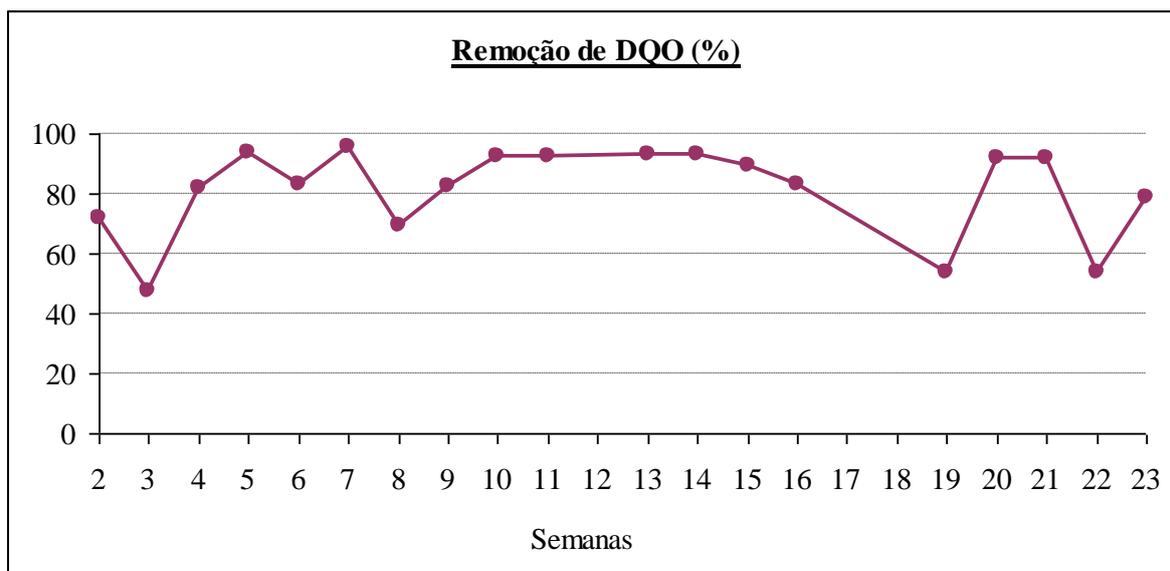
A variação dos valores encontrados pode ser visualizada no gráfico da figura 15 – no qual é apresentado o valor da DQO na ENTRADA e SAÍDA. Pela análise do gráfico, também tornam-se evidentes os baixos níveis de DQO da SAÍDA com relação à ENTRADA

ao longo de todas as semanas. O nível maior de DQO encontrado para a ENTRADA foi de 2179,9 mg de O<sub>2</sub>/L, enquanto para a SAÍDA foi de 711,6 mg de O<sub>2</sub>/L. Os valores médios obtidos foram  $1328,0 \pm 123,4$  mg de O<sub>2</sub>/L para efluente de ENTRADA e  $231,2 \pm 41,9$  mg de O<sub>2</sub>/L para efluente de SAÍDA ( $p < 0,05$ ).



**Figura 15.** Distribuição dos valores de DQO das amostras de ENTRADA e SAÍDA ao longo de 19 das 23 semanas de atividades.

A eficiência da remoção de DQO pelo reator pode ser vista no gráfico de dispersão dos percentuais da figura 16; enquanto os valores numéricos encontram-se no ANEXO 3.



**Figura 16.** Gráfico da dispersão dos valores da remoção (em %) de DQO durante as 23 semanas.

No gráfico da figura 16 podem ser observadas taxas altíssimas de remoção de DQO por parte do reator, sendo a remoção média de 81% alcançando um valor máximo de 95,8 %.

#### **4.4 Correlações**

Como já citado, a resposta biológica escolhida como grandeza de toxicidade a ser comparada aos outros parâmetros foi a morte de náuplios de artêmia na concentração 4%. Esta concentração foi preferida entre as demais por se fazer presente em todos os testes e ser comum a todas as amostras de efluente testadas.

A correlação entre os três parâmetros foi avaliada pelo teste de Spearman utilizando conjuntamente os dados dos efluentes BRUTO, TRATADO, ENTRADA e SAÍDA apenas para aquelas semanas onde foi possível obter para um mesmo efluente os valores de toxicidade, fenóis e DQO. Os resultados da análise mostram correlação positiva significativa ( $p < 0,05$ ) tanto entre a toxicidade e a concentração de fenóis (coeficiente de correlação = 0,519913), quanto entre a toxicidade e a DQO (coeficiente de correlação = 0,607111).

#### **4.5 Microbiota final do reator**

A análise do biofilme presente no meio suporte revelou uma predominância de leveduras e ausência de fungos filamentosos. Devido à quantidade insuficiente de amostra que foi encaminhada à análise não foi possível identificar as leveduras nem mesmo ao nível genérico. A coleta de uma quantidade maior de amostra não foi possível pelo fato de o reator já ter sido desmontado na época em que a análise foi realizada gerando tais resultados.

## 5. DISCUSSÃO

No presente trabalho foi realizada, inicialmente, a caracterização ecotoxicológica de amostras do efluente da indústria de beneficiamento de castanha de caju coletadas antes e após o tratamento realizado pela indústria utilizando o teste de toxicidade aguda com náuplios de *Artemia* sp. Além disso, foram mensurados os teores de fenóis totais e DQO dos efluentes.

O efluente da indústria de beneficiamento de castanha de caju revelou um caráter extremamente tóxico. De acordo com Hernando *et al.* (2005), a avaliação de toxicidade da água residuária que entra e sai das estações de tratamento de efluentes fornece uma aproximação real do risco ambiental e permite que a eficiência da estação em remover compostos tóxicos seja avaliada. No presente trabalho, foram comparados os resultados obtidos com os efluentes TRATADO e o BRUTO para que fosse averiguada a eficiência do tratamento oferecido pela estação da própria indústria. Os resultados mostraram de forma inequívoca ( $p > 0,05$ ) uma equivalência entre os dois efluentes no que tange aos três parâmetros avaliados: toxicidade, fenóis totais e DQO.

Pimentel (2006) realizou ensaios de toxicidade com o efluente de outra indústria de beneficiamento de castanha de caju utilizando, também, o microcrustáceo *Artemia* sp. como organismo teste visando caracterizar e conhecer a capacidade da estação de tratamento da indústria em remover a toxicidade do efluente final. Foram analisadas 20 amostras de efluente bruto e de efluente tratado provenientes desta unidade e foram encontrados valores de  $CL_{50}$  variando entre 0,06 e 9,01 % no período de 24 horas, enquanto no período de 48 horas, a variação foi de 0,06 a 2,20 %, para o efluente bruto e  $CL_{50}$  variando de 0,44 a 11,31 % após 24 horas de exposição, enquanto que no período de 48 horas, a variação foi de 0,11 a 2,74 % para o efluente tratado. Os resultados obtidos neste estudo confirmam o comportamento altamente tóxico das águas residuárias geradas por este tipo de indústria, assim como comprovam também a ineficiência do tratamento na remoção de toxicidade destes efluentes.

Os baixíssimos valores das concentrações letais ao organismo-teste dos efluentes BRUTO e TRATADO obtidos no presente trabalho tornam-se ainda mais preocupantes ao levar-se em consideração a baixa sensibilidade que *Artemia* sp. apresenta

frente a outros efluentes e compostos. Nunes *et al.* (2006) em revisão a respeito do uso do gênero *Artemia* em testes de ecotoxicidade afirmam que, apesar do uso massivo deste microcrustáceo em testes toxicológicos, a maioria dos estudos em que são feitas comparações entre outros organismos e *Artemia* sp. aponta para esta como sendo a menos sensível.

Em uma avaliação ecotoxicológica dos efluentes de uma indústria química ricos em compostos fenólicos, Guerra (2001) organizou uma classificação de sensibilidade com os quatro organismos utilizados em seus experimentos: *Daphnia magna*, *Brachionus plicatilis*, *Vibio fisheri* e, em último lugar, *Artemia* sp. *Artemia* também foi como o organismo menos sensível para Nascimento *et al.* (2000) em testes com água intersticial nos sedimentos de áreas impactadas por atividades petrolíferas, sendo menos sensível que a ostra do mangue *Crassostrea rhizophorae* e o ouriço-do-mar *Echinometra lucunter* em termos de sensibilidade.

Por outro lado, os náuplios de artêmia mostram-se sensíveis a alguns outros compostos como a micotoxina furmosina B (HLYWKA *et al.*, 1997) e niclosamida (OLIVEIRA-FILHO & PAUMGARTTEN, 2000). Além disso, Guerra (2001) propõe o uso de bioensaios com artêmias para avaliação de toxicidade de amostras ricas em compostos fenólicos. O efluente investigado neste trabalho apresenta contaminação pelos componentes do LCC (SANTAELLA *et al.* 2002) que em sua maioria são compostos fenólicos como cardol, cardanol e ácido anacárdico. De fato, os experimentos realizados com os compostos fenólicos cardol e cardanol, isolados do próprio LCC, revelaram CL<sub>50</sub> entre 0,41 e 1,58 mg/L, ressaltando a sensibilidade do teste utilizado para os contaminantes do efluente analisado.

A sensibilidade do gênero *Artemia* é bastante variável quando submetida a diferentes tipos de águas residuárias. Na tabela 12 estão apresentados dados de toxicidade obtidos de testes com náuplios de *Artemia* submetidos a diferentes tipos de efluentes.

A comparação entre o BRUTO e o TRATADO no que diz respeito ao teor fenólico e DQO indicou que, assim como na toxicidade, não houve diferença significativa entre os dois efluentes. Assim, pode-se dizer que ambos se comportam de forma relativamente equivalente no tocante a estes dois parâmetros. Entretanto, deve-se ressaltar que devido a dificuldades operacionais a quantidade de determinações de fenóis totais do efluente TRATADO é insuficiente para que se façam inferências categóricas. Devido a este

fato, a questão da remoção dos fenóis pelo tratamento da indústria deve ser tratada com certa parcimônia.

**Tabela 12.** Toxicidade de diferentes tipos de efluentes a *Artemia* identificados na literatura.

<b>Espécie</b>	<b>Tempo de exposição e resposta</b>	<b>Efluente</b>	<b>Valor de toxicidade (CL<sub>50</sub>)</b>	<b>Referência</b>
<i>Artemia salina</i>	24 h – letalidade	Indústria química	2.73 - 35.5%	Guerra (2001)
<i>Artemia</i> sp.	24 h – letalidade	Óleo de oliva	4.5 %	Aggelis <i>et al.</i> (2003)
<i>Artemia salina</i>	24 h – letalidade	Refino de petróleo	1.2 %	Campos <i>et al.</i> (2002)
<i>Artemia salina</i>	48 h – letalidade	Lixiviado	11.9 - 25.6 %	Silva <i>et al.</i> (2004)
<i>Artemia salina</i>	24 h – letalidade	Lixiviado	70 – 80%	Svesson <i>et al.</i> (2005)
<i>Artemia salina</i>	24 h – letalidade	Destilaria	1.5%	Santana (2008)
<i>Artemia salina</i>	24 h – letalidade	Indústria têxtil	55%	Souza <i>et al.</i> (2007)
<i>Artemia</i> sp.	24 h – letalidade	Castanha de Caju	1.38 - 2.16 %	Pimentel (2006)

Para Sponza (2003), os impactos trazidos pelos efluentes industriais vêm sendo bastante notados durante os últimos vinte anos e os problemas de qualidade de águas continuam surgindo por meio de poluentes orgânicos e inorgânicos que são originados, por sua vez, da falta de processamento e do modo de operação das estações de tratamento de águas residuárias (ETAR).

A ETAR da indústria estudada oferece um tratamento que consiste, basicamente, em cinco etapas: separação de sólidos grosseiros; equalização com aeração; peneiramento; decantação e adição de peróxido de hidrogênio (solução aquosa concentração 15 a 20%). (ANEXO 1). Este tipo de tratamento não remove compostos orgânicos e outros inorgânicos potencialmente tóxicos por não possuir uma etapa biológica adequada.

Do ducto final de onde o efluente TRATADO foi coletado, o mesmo segue até a Estação de Pré-Condicionamento da Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE), onde é tratado preliminarmente para a retirada de sólidos grosseiros e lançado diretamente ao mar através do emissário submarino.

Todos os códigos sanitários proíbem estritamente a descarga de materiais tóxicos em esgotos (WILLIAMSON & JOHNSON, 1981). Infelizmente, apesar de todas as opções existentes atualmente para um tratamento adequado de águas residuárias industriais, o

que se nota no Brasil é uma realidade bastante diferente, pois nem todas as indústrias realizam um tratamento seguro e compromissado com a legislação ambiental.

Os baixíssimos valores de  $CL_{50}$  produzidos tanto pelo efluente que entra na estação quanto pelo que flui dela, funcionam como um alerta em relação aos impactos que poderão ser causados quando este efluente encontrar seu destino final e sugerem que a indústria pode estar desperdiçando tempo e energia em grandes instalações de tratamento que não são eficientes na remoção de toxicidade aguda. Tendo em vista a necessidade de se diminuir esta carga tóxica associada, faz-se necessária uma reformulação na maneira como o tratamento a estes resíduos vem sendo aplicado. Seguramente, esta estação de tratamento precisa ser revista e ampliada, pois um tratamento eficaz para atenuação do potencial poluidor dos efluentes não pode ser baseado apenas em etapas preliminares e primárias.

Tendo em vista tamanha ineficiência desta estação de tratamento em remover a toxicidade de suas águas residuárias, este trabalho propõe um tratamento secundário como forma de atenuar o impacto da poluição que estas águas são capazes de proporcionar à biota aquática. Para isso, foi montado um reator aeróbio inoculado com esporos da espécie fúngica *Aspergillus niger*. Optou-se por utilizar os fungos do próprio efluente da indústria estudada e, para isso, a espécie foi previamente isolada e identificada para o cultivo dos esporos. Alguns trabalhos presentes na literatura apontam este tipo de procedimento como uma grande vantagem, pois há, assim, a certeza de que a espécie está bem adaptada à carga tóxica do efluente. Isso é importante porque os microrganismos precisam sobreviver ao efluente para poder degradá-lo e em muitos casos a toxicidade dos componentes do efluente pode ser alta ao ponto de causar um efeito inibitório na atividade biológica dos microrganismos tratadores (GODJEVARGOVA *et al.*, 2003; SPONZA, 2003; VEERESH *et al.*, 2005; AISSAM *et al.*, 2007). Além disso, o fato de o microrganismo tratador poder ser isolado do próprio efluente pode servir como um forte argumento quando se pretende incentivar a instalação deste tipo de tratamento em larga escala nas próprias indústrias, por se tratar de matéria prima abundante e barata.

Além da escolha da espécie *Aspergillus niger* (baseada no excelente desempenho do fungo descrito na literatura) e pela opção de isolá-la do próprio efluente estudado, outro tópico importante a ser apontado diz respeito à escolha da espuma de poliuretano como meio suporte (leito fixo) do reator biológico. A opção por este material

nesta pesquisa também foi baseada em trabalhos onde a escolha por poliuretano como meio suporte resultou em sucesso na aderência dos fungos e, por consequência, sucesso do tratamento (ALLEMAN, 1995; D'ANNIBALE, 1998; PALLERLA, 1998). Leenen (1996) e colaboradores afirmam que a imobilização da biomassa em materiais sintéticos é mais apropriada pelo fato de os mesmos não se dissolverem, não serem biodegradáveis e possuírem propriedades mecânicas importantes tais como resistência ao cisalhamento, porosidade e grande área específica.

O reator foi operado durante seis meses e a toxicidade do efluente da ENTRADA e SAÍDA monitorada semanalmente, bem como os fenóis totais e DQO. Após este período o reator foi desmontado e uma amostra do efluente final encaminhada para análise do biofilme final. Como já exposto nos resultados, a análise do efluente final revelou uma predominância de leveduras o que implicou, conseqüentemente, ausência de fungos filamentosos.

Uma hipótese bastante plausível para o ocorrido é de que o grande influxo destas leveduras no reator via efluente pode ter ocasionado uma competição entre elas e o fungo filamentoso (*Aspergillus niger*) que antes era a espécie dominante. Inequivocamente, o fungo filamentoso *A. niger* ocupou todo o espaço do reator após a inoculação, mas mesmo assim, não foi capaz de sobreviver à pressão destas leveduras até o fim do período de estudo.

Em estudos recentes alguns autores reportam o uso de leveduras antagonistas como estratégia alternativa (em detrimento dos fungicidas) no controle dos fungos filamentosos em frutos. Zhao *et al.* (2008) verificaram a habilidade da levedura *Pichia guilliermondii* em controlar o crescimento do fungo filamentoso *Rhizopus nigricans* em tomates durante o armazenamento. Os resultados do trabalho mostraram que uma das ações da levedura pode ser a competição por nutrientes. Os autores concluíram que *Pichia guilliermondii* foi eficiente no controle da doença do tomate causada por *Rhizopus nigricans* e, ainda, que ela se adaptou muito bem ao ambiente na competição por nutrientes. Em estudo similar realizado por Castoria (2001) e colaboradores, a levedura *Aureobasidium pullulans* apresentou uma atividade antagonista significativa no combate a quatro espécies de fungos filamentosos, incluindo *Aspergillus niger*, em uvas e mais duas espécies em maçãs.

Bleve *et al.* (2006) listaram algumas qualidades apresentadas pelas leveduras que as tornam aptas para o biocontrole em frutos e alimentos: possuem uma exigência nutricional simples; capacidade de fermentar e crescer em meios pobres; habilidade de

sobreviver num amplo espectro de condições ambientais. Os autores pretendiam identificar leveduras que apresentam atividade antagonista contra *Aspergillus carbonarius* e *Aspergillus niger* que ocorrem em uvas. Vinte e oito leveduras isoladas foram selecionadas e avaliadas em um teste de competição nutricional *in vitro* pelas capacidades antagonistas contra os dois fungos filamentosos. Os resultados sugerem que as leveduras antagonistas possuem alto potencial de controle contra *Aspergillus carbonarius* e *Aspergillus niger* e podem ser encontradas na própria microflora associada às uvas.

Amaral *et al.* (2008) realizaram uma caracterização microbiológica e físico-química dos efluentes oriundos da extração do óleo de oliva e os resultados indicam que as leveduras encontradas no efluente são mais adaptadas às condições ambientais severas impostas por ele com relação aos fungos filamentosos e são boas candidatas ao tratamento.

Como já citado na introdução, a capacidade de degradação de misturas complexas por parte das leveduras tem sido amplamente investigada ao longo dos anos. São vários os trabalhos em que se conclui e atesta o bom desempenho e vantagens de seu emprego nos mais diversos tratamentos biológicos. Grupos de pesquisa que utilizaram leveduras obtiveram bons resultados na retirada de metais pesados da água (ALBERTINI *et al.*, 2007); adsorção de metais em efluentes (FERREIRA *et al.*, 2005; CANUTO *et al.*, 2007); remoção de corantes (CAMARGO & CORSO, 2002); remoção de fenóis (ARNOLD *et al.*, 2000; SANTOS *et al.*, 2008); remoção de ácidos lipídicos de efluentes da indústria alimentícia (ELMALEH *et al.*, 1996); degradação de hidrocarbonetos (ZINJARDE & PANT, 2002) e em muitas outras aplicações.

O efluente da indústria de beneficiamento de castanha de caju apresenta uma coloração bastante escura devido, principalmente, à presença de LCC. A deposição de LCC nas paredes do reator fez com que se formasse uma camada viscosa e enegrecida que comprometeu a visibilidade através do acrílico já no terceiro mês de pesquisa. Devido à esta impossibilidade na observação do interior do reator, não foi possível fazer qualquer determinação acerca do momento exato em que os fungos filamentosos desapareceram e foram substituídos pelas leveduras.

Além da ausência de evidência visual da substituição fúngica no reator, os dados de toxicidade, fenóis totais e DQO também dificultam a identificação deste momento, pois apresentam uma distribuição bastante uniforme ao longo de todo o estudo. Sendo assim, partindo-se dos resultados, onde se pode observar com clareza que houve redução da

toxicidade, fenóis totais e DQO durante todo o período de operação do reator, é possível afirmar que tanto o fungo filamentoso *Aspergillus niger* quanto as leveduras não identificadas foram eficientes no tratamento do efluente da indústria de beneficiamento de castanha de caju.

O efluente da ENTRADA apresentou valores de  $CL_{50}$  e nº de náuplios mortos em 4% bastante baixos em todas as semanas tanto em 24 quanto 48h de exposição. A partir da observação da tabela 10, pode-se notar que houve uma diminuição da toxicidade da ENTRADA nas quatro últimas semanas de atividades (20 a 23). É bastante provável que tenha ocorrido diluição do efluente na própria estação de tratamento, pois estas quatro semanas de coleta coincidiram com o início do período de chuvas no estado. Os compartimentos da estação, onde o efluente permanece durante a maior parte do tempo, são sistemas abertos sujeitos a intempéries (ANEXO 1).

O bom desempenho do reator na redução de toxicidade pode ser facilmente evidenciado ao se comparar os valores obtidos dos ensaios com o efluente da ENTRADA e SAÍDA durante os seis meses de operação, tanto de  $CL_{50}$  como nº de náuplios mortos em 4%.

No trabalho realizado por Campos *et al.*(2002), os efluentes de uma refinaria de petróleo foram testados quanto à toxicidade frente a *Artemia salina* antes e após serem submetidos a tratamento primário associado a um secundário. Os autores obtiveram uma  $CL_{50}$  média de 1,2 % para o efluente bruto e nenhuma mortalidade significativa observada para o efluente tratado. Neste estudo, também não foi possível estimar a  $CL_{50}$  em várias semanas de experimento com o efluente de SAÍDA devido a ela ser maior do que 80%, confirmando o sucesso do tratamento assim como no trabalho citado.

Arthaud (2005) avaliou a viabilidade da utilização de reatores aeróbios de escoamento contínuo e ascendente, inoculados com o fungo *Aspergillus niger* (AN400), para redução de toxicidade de efluentes de uma refinaria de petróleo tendo, também, *Artemia* sp. como organismo-teste. Durante a pesquisa, o efluente da entrada do reator apresentou toxicidade bastante variável com  $CL_{50}$  48h média igual a  $31,29 \pm 30,20\%$ . Em uma de suas conclusões, a autora afirma que o reator biológico inoculado com fungos foi eficiente na redução de toxicidade quando operado com tempo de detenção hidráulica de 12h, uma vez que em mais de 50% dos testes foi removida 100% da toxicidade aguda.

Aggelis *et al.* (2003) conduziram uma avaliação da toxicidade dos efluentes do processamento da oliva antes e após tratamento com o fungo *Pleurotus ostreatus* em *Artemia* sp. e obtiveram diminuição da toxicidade após o tratamento com aumento da CL<sub>50</sub> em 24 horas que passou de 4,5% no efluente não tratado para 12,5%. A problemática atrelada à poluição gerada pelos resíduos líquidos provenientes do processamento da oliva é bastante abordada em pesquisas por todo o mundo, ao contrário do que ocorre com efluente da indústria de beneficiamento da castanha de caju. Por possuir forte caráter fenólico advindo também de fonte natural, o processamento da oliva é o exemplo mais próximo da castanha de caju até o presente momento e o mais adequado quando se pretende estabelecer comparações.

A remoção de fenóis totais do efluente da indústria de beneficiamento de castanha de caju desempenhada pelos os fungos do reator biológico foi bastante satisfatória. As concentrações de fenóis totais do efluente de ENTRADA variaram bastante ao longo das coletas. Sampaio *et al.* (2004) ressaltam que as cargas orgânicas do efluente da indústria da castanha pode variar bastante de acordo com a atividade desempenhada: o beneficiamento propriamente dito, ou os processos de lavagem. Além destes, as chuvas também podem modificar a concentração de compostos da mistura. É importante que se diga que apesar desta variação, não houve uma semana sequer em que os fungos do reator não tenham sido capazes de reduzi-las a níveis seguros com porcentagens de remoção chegando a quase 100%.

É vasta a gama de trabalhos publicados acerca da capacidade do fungo *Aspergillus niger* em remover fenóis totais de efluentes industriais. Como exemplo, tem-se o estudo desenvolvido por García *et al.* (2000) no qual efluente do processamento da oliva foi submetido a tratamento com *A. niger* tendo sido alcançada uma taxa de remoção de 76% de fenóis totais. Eficiências similares na degradação dos compostos fenólicos do efluente da indústria de azeite de oliva por *Aspergillus niger* foram: 70% de remoção obtida por Ongen *et al.* (2007) e 73% por Aissam *et al.* (2007). O fungo também foi capaz de remover fenóis no trabalho de Vassilev *et al.* (1997) e Arthaud (2005).

A aplicação de leveduras na redução do potencial de poluição promovido por fenóis também tem se revelado bastante frutífera. Sousa *et al.* (2006) trataram a água residuária de uma refinaria de petróleo utilizando, para isso, duas leveduras do gênero *Candida* inoculadas em reatores aeróbios. Em um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12

horas, os autores conseguiram valores médios de remoção de 95, 88 e 88% nos três reatores operados. Oliveira *et al.* (2006) também obtiveram sucesso na degradação de fenóis em batelada por leveduras presentes na própria água residuária da refinaria de petróleo estudada. No caso do trabalho de Chen *et al.* (2002), a levedura *Candida tropicalis* foi responsável por um tratamento com eficiência de remoção de fenóis superior a 95%. Degradação fenólica por leveduras também foi obtida por leveduras nos estudos de Ettayebi *et al.* (2003) e Fialová *et al.* (2004).

Um fungo filamentosos do gênero *Aspergillus* juntamente com a levedura *Candida tropicalis* foram avaliados por Fadil *et al.* (2003) quanto à capacidade em degradar polifenóis. Os autores obtiveram resultados máximos de remoção de 44,3% realizada pelo fungo filamentosos enquanto a levedura foi capaz de remover 51,7% dos polifenóis do meio.

Segundo Guerra (2001), para que a carga prejudicial de compostos fenólicos lançados ao ambiente seja reduzida, os esforços devem ser focalizados na redução da toxicidade, fazendo com que esta descarga seja menos prejudicial. A legislação vigente para lançamento de efluentes industriais em ambientes aquáticos (Resolução CONAMA 397 de 2008) estabelece uma concentração máxima permitida de 0,5 mg/L de fenóis totais (BRASIL, 2008).

No que diz respeito à demanda química de oxigênio (DQO), os resultados concernentes ao efluente de ENTRADA não apresentaram variação tão acentuada quanto os de fenóis. O tratamento empregado ao efluente do beneficiamento da castanha foi bastante satisfatório também no tocante à redução de DQO. No total foram realizadas 19 determinações e em todas elas houve redução aguda dos valores da SAÍDA em comparação à ENTRADA. Desta forma, o reator biológico utilizado nesta pesquisa foi, de fato, capaz de baixar bruscamente os níveis de matéria orgânica do efluente atingindo um valor máximo de 95,8 % de remoção de DQO.

Excelente remoção de DQO também foi verificada por García *et al.* (2000) utilizando, para isso, o fungo *Aspergillus niger* no tratamento da água residuária do processamento da oliva. Os autores conseguiram um decréscimo de DQO de 73% aproximadamente. Aissam (2007) e colaboradores obtiveram, utilizando o mesmo fungo no tratamento do mesmo efluente, remoção de 78% de DQO. O fungo *Aspergillus niger* foi capaz, também, de reduzir consideravelmente os valores de DQO nos experimentos de

Arthaud (2005) com efluente de refinaria de petróleo bem como nos de Colubaly *et al.*(2002).

Em um dos raríssimos trabalhos de caracterização do efluente da indústria de beneficiamento de castanha de caju disponíveis, Silva *et al.* (2006) encontraram valores de DQO no efluente bruto de 1921 mg O<sub>2</sub>/L em uma indústria e 1535 mg O<sub>2</sub>/L em outra, ambas localizadas no município de Fortaleza. Estes resultados corroboram com os valores encontrados no presente trabalho cuja média de DQO obtida foi de 1328 ± 123,4 mg de O<sub>2</sub>/L. Os autores submetem o efluente a tratamento fúngico em quatro experimentos diferentes tendo obtido as seguintes médias de remoção e DQO: 77, 73, 71 e 65%. Desta forma, os autores concluíram que o uso de fungos decompositores é bastante adequado para tratamento de efluentes da indústria de beneficiamento da castanha de caju.

Foi encontrada correlação positiva significativa tanto entre a toxicidade e a concentração de fenóis, quanto entre a toxicidade e a DQO. É importante e bastante recomendado que os testes ecotoxicológicos sejam integrados às análises químicas. Para que a qualidade de qualquer tipo de água (residuária ou não) seja definida, análises baseadas em critérios físico-químicos e biológicos são indispensáveis e complementares (VILLEGAS-NAVARRO, 1999). O aumento da toxicidade aliada ao aumento do teor fenólico é um comportamento de certa forma já esperado, pois sabe-se da grande toxicidade associada aos fenóis já descrita na introdução do trabalho. A correlação positiva entre toxicidade e DQO sugere que o(s) causador(es) da toxicidade sofrida pelo organismo-teste seja (m) de natureza orgânica.

Uma questão importante a ser discutida é que mesmo com a determinação de certos parâmetros como pH, sólidos, graxas, análise de cor, além de DQO e fenóis (como no caso do presente trabalho), toda a natureza físico-química de misturas complexas dificilmente será conhecida em sua totalidade. Isso porque os efeitos tóxicos causados por um determinado efluente pode ocorrer por meio de uma ação sinérgica entre seus componentes sem que seja possível a detecção deste efeito por nenhum dos parâmetros determinados individualmente. Entretanto, estas análises podem responder a algumas questões e seguem sendo indispensáveis. Sponza (2003) destaca que todo efluente que apresenta toxicidade aguda deveria ser caracterizado tão completamente quanto possível por análises físicas e químicas.

A fim de se identificar as classes de compostos químicos responsáveis pela toxicidade em misturas complexas, as chamadas Técnicas para Identificação de Agentes Tóxicos (TIE) podem ser ferramentas importantes para a tomada de decisões, como, por exemplo, o método de tratamento a ser empregado. Os procedimentos de manipulação física e química baseiam-se no conceito de que alguns fatores, como alterações de pH e volatilização, podem modificar a toxicidade final de uma amostras (BADARÓ-PEDROSO & RACHID, 2002). Tendo em vista a complexidade apresentada pelo efluente investigado neste trabalho, a aplicação destas técnicas de identificação pode ser fortemente recomendada.

O beneficiamento da castanha de caju consiste hoje numa das mais intensas atividades produtivas em toda a Região Nordeste com a marcante presença de indústrias de grande porte. Estas indústrias são geradoras de grandes quantidades de resíduos líquidos que, até bem pouco tempo, jamais haviam sido pesquisados. Os estudos de caracterização deste efluente são ainda bastante incipientes e, por isso, qualquer nova abordagem e descoberta são extremamente relevantes. Sabe-se, até o momento que tal efluente é potencialmente poluidor, apresentando em sua composição uma série de compostos fenólicos reconhecidamente tóxicos. Uma caracterização ecotoxicológica preliminar (PIMENTEL, 2006) evidenciou a forte toxicidade destes efluentes mesmo depois de fluírem pela estação de tratamento da indústria. Tais resultados serviram como um alerta para a necessidade de se aprimorem técnicas no sentido de tratá-lo adequadamente, reduzindo esta toxicidade, a fim de minimizar os impactos de seu lançamento nos cursos d'água.

O tratamento secundário proposto no presente trabalho atuou efetivamente na diminuição dos níveis de toxicidade, fenóis totais e DQO. Tanto os fungos filamentosos inicialmente inoculados quanto as leveduras dominantes ao final do experimento foram capazes de degradar o efluente satisfatoriamente e fazerem com que não apresentasse toxicidade aguda significativa ao organismo-teste. O fato de as leveduras conseguirem sobreviver num ambiente tão hostil quanto o efluente em questão, degradando-o e dominando todo o espaço em detrimento dos fungos filamentosos, destaca a grande capacidade adaptativa destes organismos. Desta forma, uma identificação destas leveduras presentes no efluente do beneficiamento da castanha aliada a novas estratégias de tratamentos deste efluente tão pouco conhecido anuncia-se como um vasto campo de estudos bastante promissor e cheio de novas questões a serem elucidadas. Ou seja, a tomada do reator realizada pelas leveduras que “atrapalharam” o andamento do trabalho acabou resultando na

ampliação das possibilidades de tratamento deste efluente abrindo novos caminhos para os estudos sobre a atenuação do impacto causado por estas águas residuárias.

Sendo este campo de estudos tão promissor e com tantas perguntas a serem respondidas, é importante que haja esforços multidisciplinares para que as pesquisas sejam feitas com o objetivo real de se transferir as técnicas de condições laboratoriais para escala real.

## 6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste estudo, pôde-se concluir que o tratamento oferecido à água residuária do processo de beneficiamento industrial da castanha de caju é ineficiente na redução de fenóis totais, DQO e toxicidade aguda frente ao organismos-teste *Artemia* sp. O reator fúngico de leito fixo e escoamento ascendente operado com um tempo de detenção hidráulica de 12 horas apresentou alta eficiência na redução de toxicidade, fenóis totais e DQO do efluente estudado. Foi possível concluir, ainda, que houve correlação positiva entre toxicidade e fenóis e entre toxicidade e DQO.

## **7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS POSTERIORES**

- \* Avaliação microbiológica do efluente da indústria de beneficiamento de castanha de caju com identificação das leveduras.
  
- \* Aplicação das leveduras em reatores biológicos para tratamento do efluente do beneficiamento da castanha com acompanhamento periódico do biofilme.
  
- \* Caracterização ecotoxicológica com organismos de diferentes níveis tróficos assim como a utilização das técnicas de identificação dos componentes tóxicos (TIE).
  
- \* Caracterização dos efluentes em diferentes indústrias de portes distintos.

## 08. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGGELIS, G.; ICONOMOU, D.; CHRISTOU, M.; BOKAS, D.; KOTZAILIAS, S.; CHRISTOU, Z.; TSAGOU, V.; PAPANIKOLAOU, S. Phenolic removal in a model olive oil mill wastewater using *Pleurotus ostreatus* in a bioreactor cultures and biological evaluation of the process. **Water Research**. n. 37, p. 3897 – 3904. 2003.
- AHMARUZZAMAN, M. & SHARMA, D.K. Adsorption of phenols from wastewater. **Journal of Colloid and Interface Science**. n. 287, p. 14 – 24. 2005.
- AI-KASSIM, L.; TAYLOR, K.E.; BEWTRAT, J.K.; BISWAST, N. Optimization of phenol removal by a fungal peroxidase from *Coprinus macrorhizus* using batch, continuous, and discontinuous semibatch reactors. **Enzyme and Microbial Technology**. n. 16. 1994.
- AISSAM, H.; PENNINCKX, M.J.; BENLEMLIH, M. Reduction of phenolics content and COD in olive oil mill wastewaters by indigenous yeasts and fungi. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. n. 23, p. 1203 – 1208. 2007.
- AIT-AISSA, S.; PANDARD, P.; MAGAUD, H.; ARRIGO, A.P.; THYBAUD, E.; PORCHER, J.M. Evaluation of an in vitro hsp70 induction test for toxicity assessment of complex mixtures: comparison with chemical analyses and ecotoxicity tests. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. n. 54, p. 92 – 104. 2003.
- ALBERTINI, S.; CARMO, L.F.; PRADO FILHO, L.G. Determinação de isothermas de adsorção de *Saccharomyces cerevisiae* empregando acetato e sulfato de cádmio. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. n. 27, p. 248 – 253. 2007.
- ALLEMAN, B.C.; LOGAN, B.E.; GILBERTSON, R.L. Degradation of pentachlorophenol by fixed films of white rot fungi in rotating tube bioreactors. **Water Research**. n. 29, p. 61 – 67. 1995.
- AMARAL, C.; LUCAS, M.; COUTINHO, J.; CRESPI, A.L.; ANJOS, M.R.; PAIS, C. Microbiological and physicochemical characterization of olive mill wastewaters from a continuous olive mill in Northeastern Portugal. **Bioresource Technology**. n. 99, p. 7215 – 7223. 2008.
- ANTONINI, S.R.C. Métodos de análises e monitoramento microbiológico em laboratório de destilaria. Apostila para curso de treinamento. Departamento de Tecnologia Agroindustrial e Sócio-Economia Rural - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de São Carlos, 2004.
- APHA; AWWA; WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21º Edição. Washington: Centennial Edition, 2005.

- ARNOLD, J.L.; KNAPP, J.S.; JOHNSON, C.L. The use of yeasts to reduce the polluting potential of silage effluent. **Water Research**. v. 34, n. 15, p. 3699 – 3708. 2000.
- ARTHAUD, I.D.B. Redução de toxicidade do efluente de uma refinaria de petróleo, empregando reatores biológicos aeróbios, de leito fixo e fluxo contínuo ascendente, inoculados com *Aspergillus niger*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração – Saneamento Ambiental). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2005.
- ASSADI, M.M. & JAHANGIRI, M.R. Textile wastewater treatment by *Aspergillus niger*. **Desalination**. n. 141, p. 1 – 6. 2001.
- AU, D.W.T.; YURCHENKO, O.V.; REUNOV, A.A. Sublethal effects of phenol on spermatogenesis in sea urchins (*Anthocardaris crassipina*). **Environmental Research**. n. 93, p. 92 – 98. 2003.
- AUTENRIETH, R.L.; BONNER, J.S.; AKGERMAN, A.; OKAYGUN, M.; McCREARY, E.M. Biodegradation of phenolic wastes. **Journal of Hazardous Materials**. n. 28, p. 29 – 53. 1991.
- AZEVEDO, E.B.; AQUINO, F.R.N.; DEZOTTIC, M. TiO<sub>2</sub>-photocatalyzed degradation of phenol in saline media: lumped kinetics, intermediates, and acute toxicity. **Applied Catalysis B: Environmental**. n. 54, p. 165 – 173. 2004.
- BADARÓ-PEDROSO, C. & RACHID, B.R.F. TIE – Técnicas para identificação de agentes tóxicos em amostras líquidas. In: NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M, NIPPER, M. **Métodos em Ecotoxicologia Marinha. Aplicações no Brasil**. São Paulo: Editora Artes Gráficas e Indústria Ltda, 2002.
- BAETA-HALL, L.; SÁÁGUA, M.C.; BARTOLOMEU, M.L.; ANSELMO, A.M.; ROSA, M.F. Bio-degradation of olive oil husks in composting aerated piles. **Bioresource Technology**. n. 96, p. 69 – 78. 2005.
- BESZEDITS, S. & SILBERT, M.D. **Treatment of Phenolic Wastewaters**. Toronto: B & L information services, 1990.
- BLEVE, G.; GRIECO, F.; COZZI, G.; LOGRIECO, A.; VISCONTI, A. Isolation of epiphytic yeasts with potential for biocontrol of *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* on grape. **International Journal of Food Microbiology**. n. 108, p. 204 – 209. 2006.
- BRAGA, B. **Introdução à Engenharia Ambiental**. 2<sup>a</sup> Edição. Prentice Hall Brasil, 2005.
- BRASIL. Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos d'água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 53, seção 1, 58-63. 2005.

- BRASIL. Resolução CONAMA 397, de 03 de abril de 2008. Altera o inciso II do § 4º e a Tabela X do § 5º, ambos do art. 34 da Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA nº 357, de 2005, que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. 2008.
- CAMARGO, A.T. & CORSO, K.R. Remoção do Corante Amarantho (C.I. 16.185) por biomassa de leveduras do gênero *Candida* através de biosorção. **Biological and Health Sciences**. v. 8, n. 1, p. 75 – 85. 2002.
- CAMPOS, J.C.; BORGES, R.M.H.; OLIVEIRA FILHO, A.M.; NÓBREGA, R.; SANT'ANNA Jr., G.L. Oilfield wastewater treatment by combined microfiltration and biological processes. **Water Research**. n. 36, p. 95 – 104. 2002.
- CANUTO, M.F.C.S.; FERREIRA, J.M.; da SILVA, F.L.H.; ALSINA, O.L.S.; OLIVEIRA, L.S.C.; CAVALCANTE, E.B.; GOMES, W.C.; MEDEIROS, M.R. Remoção do íon metálico cádmio ( $Cd^{2+}$ ) utilizando resíduo da indústria alcooleira **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**. v. 2, n. 2, p. 29 – 33. 2007.
- CARLILE, M.J. & WATKINSON, S.C. **The Fungi**. San Diego: Academic Press Limited, 1996.
- CASTORIA, R.; De CURTIS, F.; LIMA, G.; CAPUTO, L.; PACIFICO, S.; De CICCIO, V. *Aureobasidium pullulans* (LS-30) an antagonist of postharvest pathogens of fruits: study on its modes of action. **Postharvest Biology and Technology**. n. 22, p. 7 – 17. 2001.
- CHAN, C.H. & LIM, P.E. Evaluation of sequencing batch reactor performance with aerated and unaerated fill periods in treating phenol-containing wastewater. **Bioresource Technology**. n. 98, p. 1333 – 1338. 2007.
- CHASIN, A.A. da M. & PEDROZO, M.F.M. O Estudo da Toxicologia. In: CHASIN, A.A. da M. & AZEVEDO, F.A. de. **As bases toxicológicas da Ecotoxicologia**. São Carlos: Rima – São Paulo: Intertox, 2003.
- CHEN, K.; LIN, Y.; CHEN, W.; LIU, Y. Degradation of phenol by PAA-immobilized *Candida tropicalis*. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 31, p. 490 – 497. 2002.
- COULIBALY, L.; NAVEAU, H.; AGATHOS, S.N. A tanks-in-series bioreactor to simulate macromolecule-laden wastewater pretreatment under sewer conditions by *Aspergillus niger*. **Water Research**. n. 36, p. 3941 – 3948. 2002.
- COULIBALY, L.; GOURENE, G.; AGHATOS, N.S. Utilization of fungi for biotreatment of raw wastewaters. **African Journal of Biotechnology**. n. 2, p. 620 – 630. 2003.

- D'ANNIBALE, A.; CRESTINI, C.; VINCIGUERRA, V.; SERMANNI, G.G. The biodegradation of recalcitrant effluents from an olive mill by a white-rot fungus. **Journal of Biotechnology**. n. 61, p. 209 – 218. 1998.
- DAVÍ, M.L. & GNUDI, F. Phenolic compounds in surface water. **Water Research**. n. 14, p. 3213 – 3219. 1999.
- DENIZLI, A.; CIHANGIR, N.; RAD, A.Y.; TANER, M.; ALSANCAK, G. Removal of chlorophenols from synthetic solutions using *Phanerochaete chrysosporium*. **Process Biochemistry**. n. 39, p. 2025 – 2030. 2004.
- ELMALEH, S.; DEFRANCE, M.B; GHOMMIDH, C.; NAVARRO, J.M. Acidogenic effluents treatment in a yeast reactor. **Water Research**. v. 30, n. 10, p. 2526 – 2529. 1996.
- ETTAYEBI, K.; ERRACHIDI, F.; JAMAI, L.; TAHRI-JOUTI, M. A.; SENDIDE, K.; ETTAYEBI, M. Biodegradation of polyphenols with immobilized *Candida tropicalis* under metabolic induction. **FEMS Microbiology Letters**. v. 223, p. 215 – 219. 2003.
- FADIL, K.; CHAHLAOU, A.; OUAHBI, A.; ZAIDA, A.; BORJA, R. Aerobic biodegradation and detoxification of wastewaters from the olive oil industry. **International Biodeterioration & Biodegradation**. n. 51, p. 37 – 41. 2003.
- FARRÉ, M. & BARCELÓ, D. Toxicity testing of wastewater and sewage sludge by biosensors, bioassays and chemical analysis. **Trends in Analytical Chemistry**. n. 22. 2003.
- FERREIRA, J.M; MELO, J.C.S.; CONRADO, L.S; VILAR, E.O; CAVALCANTI, E.B; ALSINA; O.L.S; SILVA, F.L.H. Estudo da remoção do cádmio em efluentes de indústrias petroquímicas utilizando a *Saccharomyces cerevisiae*. 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás. Salvador, 2005.
- FIALOVÁ, A.; BOSCHKE, E.; BLEY, T. Rapid monitoring of the biodegradation of phenol-like compounds by the yeast *Candida maltosa* using BOD measurements. **International Biodeterioration & Biodegradation**. v. 54, p. 69 – 76. 2004.
- FONSECA, M.R.M. **Química Orgânica**. São Paulo: FTD, 1992.
- GALLEGO, A.; FORTUNATO M.S.; FOGLIA, J.; ROSSI, S.; GEMINI, V.; GOMEZ, L.; GOMEZ, C.E.; HIGA, L.E.; KOROL, S.E. Biodegradation and detoxification of phenolic compounds by pure and mixed indigenous cultures in aerobic reactors. **International Biodeterioration & Biodegradation**. n. 52, p. 261 – 267. 2003.
- GARCÍA, I.G.; PEÑA, P.R.J.; VENCESLADA, J.L.B.; MARTÍN, A.M.; SANTOS, M.A.M.; GOMEZ, E.R. Removal of phenol compounds from olive mill wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*. **Process Biochemistry**. n. 35, p. 751 – 758. 2000.

- GODJEVARGOVA, T.; IVANOVA, D.; ALEXIEVA, Z.; DIMOVA, N. Biodegradation of toxic organic components from industrial phenol production waste waters by free and immobilized *Trichosporon cutaneum* R57. **Process Biochemistry**. n. 38, p. 915 – 920. 2003.
- GUERRA, R. Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. **Chemosphere**. n. 44, p. 1737 – 1747. 2001.
- HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environment Science Technology**. n. 11, p. 714 – 719. 1977.
- HERNANDO, M.D.; FERNÁNDEZ-ALBA, A.R.; TAULER, R.; BARCELÓ, D. Toxicity assays applied to wastewater treatment. **Talanta**. n. 65, p. 358 – 366. 2005.
- HLYWKA, J.J., BECK, M.M., BULLERMAN, L.B. The use of the chicken embryo screening test and brine shrimp (*Artemia salina*) bioassays to assess the toxicity of Fumonisin B1 Mycotoxin. **Food and Chemical Toxicology**. n. 35, p. 991 – 999. 1997.
- HWANG, S.C.; LIN, C.S.; CHEN, I.M.; CHEN, J.M.; LIU, L.Y.; DODDS, L.K. Removal of multiple nitrogenous wastes by *Aspergillus niger* in a continuous fixed-slab reactor. **Bioresource Technology**. n. 93, p. 131 – 138. 2004.
- JIN, H.; YANG, X.; YIN, D.; YU, H. A Case Study on Identifying the Toxicant in Effluent Discharged from a Chemical Plant. **Marine Pollution Bulletin**. v. 39, n. 1 – 12, p. 122 – 125. 1999.
- JOU, C.J.G. & HUANG, G.C. A pilot study for oil refinery wastewater treatment using a fixedfilm Bioreactor. **Advances in Environmental Research**. n. 7, p. 463 – 469. 2003.
- KAPOOR, A.; VIRARAGHAVAN, T.; CULLIMOREB, D.R. Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**. n. 70, p. 95 – 104. 1999.
- KHALLIL, A.M. & ABDEL-SATER, A.M. Fungi from Water, Soil and Air Polluted by the Industrial Effluents of Manquabad Superphosphate Factory (Assiut, Egypt). **International Biodeterioration & Biodegradation**. n. 30, p. 363 – 386. 1992.
- KHATAMI, S.H.; PASCOE, D.; LEARNER, M.A. The acute toxicity of phenol and unionized ammonia, separately and together, to the ephemeropteran *Baetis rhodani* (Pictet). **Environmental Pollution**. n. 99, p. 379 – 387. 1998.
- KUMAR, P. P.; PARAMASHIVAPPA, R.; VITHAYATHIL, P.J.; RAO, P.V.S.; RAO, A.S. Process for Isolation of Cardanol from Technical Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nut Shell Liquid. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. n. 50, p. 4705 – 4708. 2002.

- LEENEN, E.J.T.M.; DOS SANTOS, V.A.P.; GROLLE, K.C.F.; TRAMPER, J.; WIJFFELS, R.H. Characteristics of and selection criteria for support materials for cell immobilization in wastewater treatment. **Water Research**. n. 30, p. 2985 – 2996. 1996.
- LORENZI, H. & MATOS, F.J.A. **Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. São Paulo: Nova Odessa – Instituto Plantarum, 2002.
- MAGNUSON, J.K. & LASURE, L.L. **Advances in Fungal Biotechnology for Industry, Agriculture, and Medicine**. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2004.
- MARIANO-DA-SILVA, S. & BASSO, L.C. Efeitos do Cádmio sobre o crescimento das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* PE-2 e *Saccharomyces cerevisiae* IZ-1904 e a capacidade da vinhaça em atenuar a toxicidade. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24, n. 1, p. 16 – 22. 2004.
- MARTIRANI, L.; GIARDINA, P.; MARZULLO, L.; SANNIA, G. Reduction of phenol content and toxicity in olive oil mill waste waters with the ligninolytic fungus *Pleurotus Ostreatus*. **Water Research**. n. 8, p. 1914 – 1918. 1996.
- MATOS, F.J.A. **Plantas Mediciniais – guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil**. Fortaleza: Imprensa Universitária/Edições UFC, 2000.
- METCALF & EDDY. **Wastewater Engineering, treatment, disposal and reuse**. 3<sup>a</sup> Edição. Mc. Graw Hill, 1991.
- MIRANDA, M.P.; BENITO, G.G.; SAN CRISTOBAL, N.; HERAS-NIETO, C. Color elimination from molasses wastewater by *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**. n. 57, p. 229 – 235. 1996.
- MISHRA, B.K.; ARORA, A.; LATA. Optimization of a biological process for treating potato chips industry wastewater using a mixed culture of *Aspergillus foetidus* and *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**. n. 94, p. 9 – 12. 2004.
- NAIR, I.C.; JAYACHANDRAN, K.; SHASHIDHAR, S. Treatment of paper factory effluent using a phenol degrading *Alcaligenes* sp. under free and immobilized conditions **Bioresource Technology**. n. 98, p. 714 – 716. 2007.
- NASCIMENTO, A.; SMITH, D.H.; PEREIRE, S.A.; SAMPAIO DE ARAÚJO, M.M.; SILVA, M.A.; MARIANI, A.M. Integration of varying responses of different organisms to water and sediment quality at sites impacted and not impacted by the petroleum industry. **Aquatic Ecosystem Health and Management**. n. 3, p. 449 – 458. 2000.
- NEWMAN, M.C. & UNGER, M.A. **Fundamentals of Ecotoxicology**. 2<sup>a</sup> Edição. New York: Lewis Publishers, 2003.

- NUNES, B.S.; CARVALHO, F.D.; GUILHERMINO, L.M.; STAPPEN, G.V. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. **Environmental Pollution**. n. 144, p. 453 – 462. 2006.
- OLIVEIRA, E.C.; FÉLIX, J.P.L.; LEITÃO, R.C.; MELO, V.M.M.; SANTAELLA, S.T. Degradação de fenóis por leveduras presentes em águas residuárias de refinarias de petróleo. 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Campo Grande, 2006.
- OLIVEIRA-FILHO, E.C. & PAUMGARTTEN, F.J.R. Toxicity of *Euphorbia milii* latex and Niclosamide to snails and nontarget aquatic species. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. n. 46, p. 342 – 350. 2000.
- ONGEN, G.; GUNGOR, G.; KANBEROGLU, B. Decolourisation and dephenolisation potential of selected *Aspergillus* section Nigri strains – *Aspergillus tubingensis* in olive mill wastewater. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. n. 23, p. 519 – 524. 2007.
- PALLERLA, S. & CHAMBERS, R.P. Reactor development for biodegradation of pentachlorophenol. **Catalysis Today**. n. 40, p. 103 – 111. 1998.
- PARAMASHIVAPPA, R.; KUMAR, P.P.; VITHAYATHIL, P.J.; RAO, A.S. Novel Method for Isolation of Major Phenolic Constituents from Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nut Shell Liquid. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. n. 49, p. 2548 – 2551. 2001.
- PELCZAR, M.J.; REID, R.; CHAN, E.C.S. **Microbiologia**. Volume 1. São Paulo: Ed. Mcgraw-Hill do Brasil, 1980.
- PESSOA, C.A. & JORDÃO, E.P. **Tratamento de Esgotos Domésticos** . 4ª. Edição. Rio de Janeiro: ABES, 2005.
- PIMENTEL, M.F. Caracterização ecotoxicológica dos efluentes da indústria de beneficiamento da castanha de caju. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Ceará, 2006.
- PRINCE, M.S.; CLASSEN, J.J.; PAYNE, G.A. *Aspergillus niger* absorbs copper and zinc from swine wastewater. **Bioresource Technology**. n. 77, p. 41 – 49. 2001.
- PRÓSPERI, V.A. Aplicação de testes de toxicidade com organismos marinhos para análise de efluentes industriais lançados em áreas estuarinas. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia. Universidade de São Paulo. São Paulo, 1993.
- RAJKUMAR, D. & PALANIVELU, K. Electrochemical treatment of industrial wastewater. **Journal of Hazardous Materials**. n. B113, p. 123 – 129. 2004.

- RAO, J.R. & VIRARAGHAVAN, T. Biosorption of phenol from an aqueous solution by *Aspergillus niger* biomass. **Bioresource Technology**. n. 85, p. 165 – 171. 2002.
- SAMPAIO, G.M.M.S. Biotratamento de água residuária industrial através de um reator UASB seguido por filtro biológico de fungos. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração – Saneamento Ambiental). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2001.
- SAMPAIO, G.M.M.S.; SANTOS, E.M.A.; LEITÃO, R.C.; FACÓ, A.M.; MENEZES, E.A.; SANTAELLA, S.T. Pós-tratamento de efluente de um reator UASB através de um reator biológico com fungos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. n. 1, p. 73 – 81. 2004.
- SANTAELLA, S.T. Estudos de tecnologias apropriadas para tratamento de efluentes da indústria de castanha de caju. Relatório Institucional de Pesquisa. Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental – UFC. Fortaleza, 1999.
- SANTAELLA, S.T.; LEITÃO, R.C.; MENEZES, E.A.; SILVA, F.J.A.; ARAGÃO, K.S.; GIFFONI, D.A. Emprego de fungos para tratamento de efluentes da indústria de castanha de caju. VI Simpósio Ítalo-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Vitória, 2002.
- SATANA, V.S. & MACHADO, N.R.C.F. Photocatalytic degradation of the vinasse under solar radiation. **Catalysis Today**. n.133 –135, p. 606 – 610. 2008.
- SANTOS, E.M.A. Remoção de demanda química de oxigênio e fenóis totais de água residuária do beneficiamento de castanha de caju em reatores biológicos com fungos. Tese (Doutorado em Engenharia Civil, área de concentração – Saneamento Ambiental). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2008.
- SANTOS, V.L. & LINARDI, V.R. Biodegradation of phenol by a filamentous fungi isolated from industrial effluents — identification and degradation potential. **Process Biochemistry**. n. 39, p. 1001 – 1006. 2004.
- SANTOS, V.L.; MONTEIRO, A.S.; BRAGA, D.T.; SANTORO, M.M. Phenol degradation by *Aureobasidium pullulans* FE13 isolated from industrial effluents. **Journal of Hazardous Materials**. *In Press*, disponível online em 3 de maio de 2008.
- SILVA, A.C.; DEZOTTI, M.; SANT’ANNA Jr., G.L. Treatment and detoxification of a sanitary landfill leachate. **Chemosphere**. n. 55, p. 207 – 214. 2004.
- SILVA, F.J.A.; SALES, M.E.C.; ESCOUTO, F.M.B.; ANDRADE, M.I.R.; SANTAELLA, S.T. Degradação de efluente de indústria de castanha de caju por fungos decompositores em reator de fluxo contínuo – DQO e sistema carbônico. 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Campo Grande, 2006.

- SINDICAJU. Sindicato das Indústrias de Beneficiamento de Castanha de Caju e Amêndoas Vegetais do Estado do Ceará. Home page. Disponível em <http://www.sindicaju.org.br/site/index.html>. Acesso em: 10 de agosto de 2008.
- SOARES, J.B. **O caju: Aspectos Tecnológicos**. Fortaleza: Banco do Nordeste, 1986.
- SOUSA, M.P.; MATOS, F.J.A. **Constituintes Químicos de Plantas Medicinais Brasileiras**. Fortaleza: Imprensa Universitária – UFC, 1991.
- SOUSA, E.C.P.M. Toxicologia Marinha: Histórico. In: NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. **Métodos em Ecotoxicologia Marinha. Aplicações no Brasil**. São Paulo: Editora Artes Gráficas e Indústria Ltda, 2002
- SOUSA, O.L.; OLIVEIRA, E.C.; FÉLIX, J.P.L.; SALEK, J.M.; LEITÃO, R.C.; MELO, V.M.M.; SANTAELLA, S.T. Tratamento biológico de águas residuárias de indústria petroquímica através de reatores aeróbios inoculados com *Candida sp*. In: KATO, M.T. **Gestão e tratamento de resíduos líquidos gerados na cadeia produtiva do petróleo: 1ª Coletânea de trabalhos técnicos**. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2006.
- SOUZA, J.V.B.; SILVA, E.S.; SILVA, F.T.; PAIVA, T.C.B. Fungal treatment of a delignification effluent from a nitrocellulose industry. **Bioresource Technology**. n. 96, p. 1936 – 1942. 2005.
- SOUZA, S.M.A.G.U.; FORGIARINI, E.; SOUZA, A.A.U. Toxicity of textile dyes and their degradation by the enzyme horseradish peroxidase (HRP). **Journal of Hazardous Materials**. n. 147, p. 1073 – 1078. 2007.
- SPONZA, D.T. Application of toxicity tests into discharges of the pulp-paper industry in Turkey. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. n. 54, p. 74 – 86. 2003.
- SVENSSON, B.M.; MATHIASSEN, L.; MARTENSSON, L.; BERGSTROM, S. *Artemia salina* as test organism for assessment of acute toxicity of leachatewater from landfills. **Environmental Monitoring and Assessment**. n. 102, p. 309 – 321. 2005.
- TREVISAN, M.T.S.; PFUNDSTEIN, B.; HAUBNER, R.; WURTELE, G.; SPIEGEDHALDER, B.; BARTSCH, H.; OWEN, R.W. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology**. n. 44, p. 188 – 197. 2006.
- US-EPA. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organism. (Eds.): Klemm, D.; Morrison, G.E.; Noberg-King, T.J.; Peltier, W.H. & Heber, M.A. U.S. Environmental Protection Agency. Report EPA/600/4-91/003. Ohio: Cincinnati, 1991.

- US-EPA. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms. Environmental Protection Agency. Report EPA-821-R-02-012. Washington, Fifth Edition. 2002.
- VASSILEV, N.; FENICE, M.; FEDERICI, F.; AZCON, R. Olive mill waste water treatment by immobilized cells of *Aspergillus niger* and its enrichment with soluble phosphate. **Process Biochemistry**. n. 7, p. 617 – 620. 1997.
- VEERESH, G.S.; KUMAR, P.; MEHROTA, I. Treatment of phenol and cresols in upflowanaerobic sludge blanket (UASB) process: a review. **Water Research**. n. 39, p. 154 – 170. 2005.
- VEIGA, L.F. & VITAL, N. Teste de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Artemia* sp. In: NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M, NIPPER, M. **Métodos em Ecotoxicologia Marinha. Aplicações no Brasil**. São Paulo: Editora Artes Gráficas e Indústria Ltda, 2002.
- VILLEGAS-NAVARRO, A.; GONZHLEZ, M.C.R.; LOPEZ, E.R.; AGUILAR, R.D.; MARGAL, W.S. Evaluation of *Daphnia magna* as an indicator of toxicity and treatment efficacy of textile wastewaters. **Environment International**. v. 25, n. 5, p. 619 – 624. 1999.
- VON SPERLING, M.V. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 2<sup>a</sup> Edição. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais, 1996.
- WILLIAMSON, K.J. & JOHNSON, D.G. A bacterial bioassay for assessment of wastewater toxicity. **Water Research**. n. 15, p. 383 – 390. 1981.
- ZHAO, Y.; TU, K.; SHAO, X.; JING, W.; SU, Z. Effects of the yeast *Pichia guilliermondii* against *Rhizopus nigricans* on tomato fruit Postharvest. **Biology and Technology**. n. 49, p. 113 – 120. 2008.
- ZINJARDE, S.S. & PANT, A.A. Hydrocarbon degraders from tropical marine environments. **Marine Pollution Bulletin**. n. 44, p. 118 – 121. 2002.

# **ANEXOS**

---

**ANEXO 1 – Fotografias das etapas de tratamento na ETAR da indústria estudada.**



**1. Separação de sólidos grosseiros**



**2. Caixa de areia e medição de vazão**



**3. Equalização com aeração**



**4. Peneiramento**



**5. Decantação e adição de peróxido de hidrogênio**

**ANEXO 2.** Valores de **Concentração de Fenóis Totais** nas amostras de efluente BRUTO, ENTRADA, SAÍDA (seguidos da remoção em %); e TRATADO.

<b>SEMANA</b>	<b>BRUTO</b>	<b>TRATADO</b>	<b>ENTRADA</b>	<b>SAÍDA</b>	<b>REMOÇÃO (%)</b>
<b>1</b>	-	-	0,9	0,58	35,6
<b>7</b>	3,5	-	3,1	0,35	88,7
<b>8</b>	3,1	-	3,3	0,4	87,9
<b>10</b>	1,3	-	1,1	0,07	93,6
<b>11</b>	0,1	0,13	0,3	0,06	80,0
<b>13</b>	1	0,35	1,6	0,03	98,1
<b>14</b>	0,4	0,35	0,4	0,04	90,0
<b>16</b>	1,3	0,55	1,0	0,03	97,0
<b>19</b>	-	-	0,8	0,45	43,8
<b>20</b>	-	-	0,5	0,07	86,0
<b>21</b>	-	-	0,4	0,04	90,0
<b>22</b>	-	-	1,1	0,62	43,6
<b>23</b>	-	-	0,6	0,12	80,0

**ANEXO 3.** Valores de **DQO** em mg/L O<sub>2</sub> nas amostras de efluente BRUTO, ENTRADA, SAÍDA (seguidos da remoção de DQO em %); e TRATADO.

<b>SEMANA</b>	<b>BRUTO</b>	<b>TRATADO</b>	<b>ENTRADA</b>	<b>SAÍDA</b>	<b>REMOÇÃO (%)</b>
2	1657	-	1741,4	485,7	72,1
3	1582,8	910,8	849,5	444,7	47,7
4	2222,3	1799,1	1432,3	261,3	81,8
5	1573,3	1177,9	1658	106,1	93,6
6	1982,4	1968,3	2179,9	370,6	83,0
7	346	-	557,6	23,3	95,8
8	2123,5	-	1488,7	457,7	69,3
9	1439,8	-	1344,8	232,5	82,7
10	2231,2	-	2247	166,1	92,6
11	1677,2	1756,3	1993,8	143,9	92,8
13	1249,8	331,8	1249,8	82,2	93,4
14	1471,4	1756,3	1075,7	72,7	93,2
15	1281,5	474,2	901,6	98	89,1
16	569,2	347,6	490,1	82,2	83,2
19	-	-	342,1	158,4	53,7
20	-	-	1372,7	109,5	92,0
21	-	-	1572,1	130,6	91,7
22	-	-	1546,6	711,6	54,0
23	-	-	1196,6	254,9	78,7