

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E AMBIENTAL  
DOUTORADO EM ENGENHARIA CIVIL – SANEAMENTO AMBIENTAL

MÁRIO DE ALENCAR FREITAS NETO

TRATAMENTO BIOLÓGICO DO LÍQUIDO DA CASCA DO COCO VERDE

FORTALEZA  
2007

MÁRIO DE ALENCAR FREITAS NETO

TRATAMENTO BIOLÓGICO DO LÍQUIDO DA CASCA DO COCO VERDE

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Área de Concentração – Saneamento Ambiental, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Sandra Tédde Santaella  
- UFC

Co-orientador: Dr. Renato Carrhá Leitão -  
Embrapa

FORTALEZA  
2007

MÁRIO DE ALENCAR FREITAS NETO

TRATAMENTO BIOLÓGICO DO LÍQUIDO DA CASCA DO COCO VERDE

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Área de Concentração – Saneamento Ambiental, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor.

Aprovada em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Sandra Tédde Santaella (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará-UFC

---

Dr. Renato Carrhá Leitão (Co-orientador)  
Pesquisador da EMBRAPA

---

Prof. Dr. Raimundo Oliveira de Souza  
Universidade Federal do Ceará-UFC

---

Prof. Dr. José Carlos de Araújo  
Universidade Federal do Ceará-UFC

---

Dra. Morsyleide de Freitas Rosa  
Pesquisadora da EMBRAPA

Dedico este trabalho àqueles que

sempre me incentivaram:

- Meus pais e irmãs (Bola, Zéo, Aline e  
Fernanda);
- Família Marwell;
- E a minha amada esposa Aline.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida (vidas).

À Prof. Dra. Sandra Tédde Santaella que foi mais uma vez presente, prestativa, professora, orientadora, solidária, tia e amiga em todos os momentos, desde a proposta do projeto de doutorado à conclusão da Tese, a quem sempre irei agradecer e nunca esquecerei.

Ao Pesquisador da EMBRAPA Dr. Renato Carrhá Leitão (co-orientador) tanto pela dedicação, incentivo, paciência e vasto conhecimento adquirido, quanto pela sublime capacidade de encontrar soluções para os diversos percalços enfrentados durante o doutoramento.

À EMBRAPA AGROINDÚSTRIA TROPICAL pelo apoio durante a fase experimental da pesquisa, disponibilizando material, pessoal e as instalações, com destaque para o Laboratório de Gestão Ambiental.

À Pesquisadora da EMBRAPA Dra. Morsyleide de Freitas Rosa por aceitar participar da banca examinadora e, agradeço muito mais, pela enorme atenção e fundamental apoio dispensado desde a preparação do projeto de doutorado à pesquisa, sempre prestativa, incentivadora e solidária, demonstrando estar sempre à disposição e, ainda, pelos sábios conselhos nos momentos propícios.

À empresa ACS Fibras, em nome do Diretor Eng. Mecânico Adler Crispim de Oliveira, pelo fornecimento da estrutura do reator biológico com fungos.

Ao Prof. Dr. Raimundo Oliveira de Souza por aceitar participar da banca examinadora.

Ao Prof. Dr. José Carlos de Araújo por aceitar participar da banca examinadora.

Ao Prof. Dr. William Magalhães Barcellos pelo incentivo, apoio, palavras amigas e sábios conselhos deferidos durante o doutoramento.

À minha mãe Francisca Amélia (Zéo) e meu pai Mário Bolivar (Bola) pelo incentivo e apoio, tanto material quanto espiritual, antes e durante o doutoramento.

Ao Prof. M.Sc Pedro Marwell Filho(Sogrão) pelo incentivo e apoio antes e durante o doutoramento, bem como a minha sogrinha Sônia Machado Marwell.

Aos meus cunhados e parentes: José Guilherme (cumpade), Cláudio (cumpade), Alexandre (cumpade), Tatiana (cumade), Ricardo, Marília, Almir e Thais.

Aos meus sobrinhos: Miguel (afilhado), Samuel, Sofia (afilhada), Nina e Luma (afilhada), no futuro vocês verão.

Ao meu tio B. Sá pela atenção prestada nos momentos necessários.

Ao Cefet-CE em nome dos Profs. Dra Glória Marinho, M.Sc Bemvindo e Dra Mabel pela rápida acolhida e análises microbiológicas.

Ao Eng. Agrônomo PhD Francisco das Chagas de Oliveira Freire, pesquisador da Embrapa, pelas análises microbiológicas.

À FUNCAP – pela concessão da bolsa de doutorado e financiamento da pesquisa experimental através do Edital FUNCAP N° 03/2006.

Ao companheiro, e amigo, Alex Miranda pelos ensinamentos, palavras de conforto e colaboração durante a etapa experimental da pesquisa.

Ao brother, e amigo, Carlos Ronald pela grata ajuda, e experiências trocadas durante parte da etapa experimental da pesquisa.

Ao companheiro, de muitos finais de semana de laboratório, e amigo Othávio Luis (mói), pessoa batalhadora, com quem troquei muitas experiências.

Ao Eng. Química Antônio Filho, grande “brother”, que me ajudou bastante durante o experimento, demonstrando bastante competência.

Aos estagiários graduando de Tecnologia Ambiental Michael Viana e graduando de Eng. Química Regis Cristiano que me ajudaram bastante nos últimos 4 meses do experimento.

Aos demais companheiros do LGA: Augusto, Marília, Jônas, Liana, Michaela, pelo apoio prestado.

À Rosinha que sempre me ajudou nos momentos necessários.

Aos companheiros de doutoramento Emília, Cléa, Fernando José, Vicente, pelo apoio e experiências compartilhadas.

Aos professores do DEHA, em especial ao Prof. Dr André Bezerra dos Santos, pelos ensinamentos adquiridos e dúvidas solucionadas.

Aos funcionários do DEHA Eriuelton, Dália, Xavier, Bete, pelo apoio.

Aos funcionários da EMBRAPA desde os vigilantes, passando pelo “Seu Chico” (que coletou muita casca de coco), até os motoristas que sempre foram prestativos durante a coleta da casca de coco.

Aos amigos de Teresina Pão, Boquinha, Preá, Nego, Tapete, Banana, Teste da NASA, Balada, Raimundim, Quexim, Zurea, Tiririca, Babuino, kiodai, Kanu, Quick, dentre outros, que não me importunaram durante o doutoramento, entendendo que não poderiam me visitar frequentemente em Fortaleza.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para realização da pesquisa e elaboração deste trabalho.

“O único lugar onde o sucesso vem antes do  
trabalho é no dicionário.”

Albert Einstein

## RESUMO

Buscando agregar valor à cadeia produtiva do coco e expandir o agronegócio envolvido, a Embrapa Agroindústria Tropical desenvolveu um sistema de beneficiamento da casca do coco verde para produção de pó e fibra que tem diversas aplicações ambientais e comerciais. Durante a etapa de prensagem do beneficiamento deste resíduo, é gerado um líquido denominado Líquido da Casca do Coco Verde (LCCV), que apresenta elevada concentração de matéria orgânica, cuja DQO varia de 60 a 80 gO<sub>2</sub>/L, incluindo taninos. Nesta Tese avaliou-se a performance de um reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (Upflow Anaerobic Sludge Blanket – UASB) e um Reator Biológico com Fungos (RBF) para tratamento do LCCV. O UASB escala de bancada (16,8L) foi operado durante 222 dias, com carga orgânica volumétrica (COV) crescente, iniciando com 2,2 KgDQO/m<sup>3</sup>.d, e finalizando com 10,0 KgDQO/m<sup>3</sup>.d. O RBF escala de bancada (100L) foi operado com COV de 5,0 KgDQO/m<sup>3</sup>.d durante 116 dias, e em seguida com COV de 2,5 KgDQO/m<sup>3</sup>.d durante 158 dias. A performance do UASB foi avaliada através de determinações de DQO e taninos totais do afluente e efluente; atividade metanogênica específica (AME) do lodo e toxicidade anaeróbia; composição e produção de biogás; pH, alcalinidade e ácidos graxos voláteis (AGV). A performance do RBF foi monitorada através de determinações de DQO, taninos totais e série de sólidos do afluente e efluente. Além disso, foram realizados alguns ensaios: Biodegradabilidade aeróbia do LCCV, estabilidade anaeróbia do lodo, e o efeito da espécie *Aspergillus niger* AN 400 na degradação do LCCV. Os resultados demonstraram que o UASB manteve-se estável durante a operação, com eficiência de remoção de DQO superior a 80% e de taninos em torno de 48%. A razão AGV/alcalinidade ficou sempre inferior a 0,30. O biogás apresentou composição de 75% de metano. Os ensaios de toxicidade demonstraram que o LCCV não foi tóxico à biomassa metanogênica presente no UASB. O RBF foi inicialmente inoculado com *Aspergillus niger* AN 400. No entanto, através de análises microbiológicas, foi comprovado que este fungo foi substituído por leveduras naturalmente presentes no LCCV. Quando este reator foi operado com COV de 5,0 KgDQO/m<sup>3</sup>.d, e sem descarte de biomassa, a eficiência de remoção de DQO ficou em torno de 58%. Esta eficiência aumentou para 91% quando a COV aplicada diminuiu para 2,5 KgDQO/m<sup>3</sup>.d, e foram realizados descartes semanais da biomassa localizada na parte superior do reator. Neste período, a remoção média de taninos foi de 15%. Apesar desta baixa remoção de taninos, reatores aeróbios podem ser usados como alternativas para remoção de matéria orgânica facilmente degradável, viabilizando a recuperação dos taninos para uso comercial. Os resultados obtidos em testes em placas de *Petri* demonstraram que a espécie fúngica *Aspergillus Niger* AN 400 foi capaz de se desenvolver em meio contendo LCCV. Contudo, resultados dos testes em batelada demonstraram que esta espécie não alterou as taxas de remoção de DQO e taninos, quando foi inoculado em meio contendo LCCV bruto. A configuração do reator com fungos utilizada nesta pesquisa apresentou problemas operacionais relacionados com o descarte do excesso de biomassa.

Palavras-chave: Líquido da Casca do Coco Verde (LCCV), UASB, RBF, AME, biodegradabilidade, toxicidade.



## ABSTRACTS

With the aim of aggregating value to the productive chain of coconut and to expand its agrobusiness, Embrapa Agroindústria Tropical (Brazilian Agricultural Research Corporation, Tropical Agroindustry National Centre) developed a system for processing the husk of immature coconut in order to produce fibre and coir dust, which have several environmental and commercial applications. During the pressing stage, a liquid is generated, denominated Coconut Husk Liquor (CHL), which contains high concentration of organic matter (varying from 60 to 80 gDQO/L), including tannins. In this work, the performance of an Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor (UASB) and a Fungi Biological Reactor (FBR) were evaluated for the treatment of CHL. The lab-scale UASB reactor, with a working volume of 16,8L, was operated during 222 days with an increasing organic loading rate (OLR), starting from 2.2 kgCOD/m<sup>3</sup>.d and reaching up to 10 kgCOD/m<sup>3</sup>.d. The lab-scale FBR, with a working volume of 100L, was operated with OLR of 5.0 kgCOD/m<sup>3</sup>.d, during 116 days, and then with OLR of 2,5 kgCOD/m<sup>3</sup>.d during 158 days. The performance of UASB reactor evaluated based on influent and effluent COD and total tannins; sludge specific methanogenic activity (SMA) and anaerobic toxicity; gas production and composition; pH, alkalinity and volatile fatty acids; and sludge retention time. The performance of FBR was monitored on the basis of on influent and effluent COD, total tannins and suspended solids. Other analysis were also accomplished: aerobic CHL biodegradability, sludge stability, and effect of *Aspergillus niger* on the degradation of CHL. Results showed that UASB reactor was maintained stable during the whole operation, with COD removal efficiency higher than 80%, total tannins removal efficiency of around 48%, and the ratio AGV/alkalinity lower than 0,30. Biogas presented 75% of methane on its composition. Toxicity tests demonstrated that CHL was not toxic to the methanogenic consortia. FBR was initially inoculated with *Aspergillus niger* AN-400. However, this fungus was substituted by the yeast that is natural on coconut husk, which was confirmed by tests carried out on Petri plate tests. When this reactor was operated with OLR of 5.0 kgCOD/m<sup>3</sup>.d and without sludge removal, the COD removal efficiency was around 58%. The performance improved up to 91% when OLR was decreased to 2.5 kgCOD/m<sup>3</sup>.d and sludge was weekly removed from the top of reactor. During this period, total tannin removal efficiency was approximately 15%. Despite the low tannin removal efficiency, this aerobic reactors can be used as an alternative for easy-degradable organic matter, facilitating the recovering of tannins for commercial uses. Results obtained from Petri plate tests show that *Aspergillus niger* AN-400 was able to grow in a medium with CHL. However, results from batch tests demonstrated that this species did not affect the DQO and tannins removal rates, when it is inoculated in a solution with raw CHL. The configuration of the reactor with fungi used in this research showed operational problems related with excess biomass removal.

Keywords: Coconut Husk Liquor (CHL), UASB, FBR, SMA, biodegradability, toxicity

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Estrutura química dos taninos condensados. ....	19
FIGURA 2 – Estrutura química dos galotaninos. ....	21
FIGURA 3 - Estrutura química dos elagitaninos. ....	21
FIGURA 4 – Máquina de trituração (à esquerda) e prensagem (à direita) da casca do coco verde onde era produzido o LCCV. ....	53
FIGURA 5 – Esquema simplificado de funcionamento do UASB. ....	55
FIGURA 6 – Reator UASB montado no laboratório de Gestão Ambiental e utilizado na pesquisa. ....	56
FIGURA 7 – Esquema utilizado para realização dos testes de AME e toxicidade metanogênica. ....	58
FIGURA 8 – reatores utilizados para realização dos testes de AME. ....	58
FIGURA 9 – Placas preparadas para o Teste de toxicidade do LCCV para o <i>Aspergillus niger</i> AN 400. ....	67
FIGURA 10 – Ensaio de biodegradabilidade aeróbia do LCCV. ....	68
FIGURA 11 – Esquema simplificado de funcionamento do sistema RBF-decantador. ....	69
FIGURA 12 – Sistema RBF-decantador utilizado na pesquisa. ....	70
FIGURA 13 - Placa de Petri com LCCV in natura (esquerda) e placa com LCCV esterilizado (direita). ....	77
FIGURA 14 – Valores médios, máximos e mínimos das AME observadas durante os testes de toxicidade metanogênica para os reatores 0%, 25%, 50%, 75% e 100% LCCV. ....	77
FIGURA 15 - Linearização da curva de produção acumulada de metano durante o teste de biodegradabilidade anaeróbia do lodo. ....	80
FIGURA 16 – Variação da COV (medida e de projeto), produção específica de biogás, concentrações teóricas de DQO no afluente, concentrações de DQO no afluente e efluente, eficiências de remoções de DQO, alcalinidade total e AGV no efluente observados durante a operação do UASB. ....	83
FIGURA 17 – Variação da alcalinidade total e AGV no efluente durante a operação do UASB. ....	86
FIGURA 18 – Variação de taninos totais no afluente, efluente e eficiência de remoção de taninos totais durante as etapas de operação do UASB. ....	90
FIGURA 19 – Variação dos valores obtidos nos testes de AME realizados durante as etapas de operação do UASB. ....	95
FIGURA 20 – Imagem das placas com 0%, 10%, 25%, 50%, 75% e 100% de LCCV, aos três dias de incubação. ....	97
FIGURA 21 – Variação da concentração de taninos totais e DQO <sub>solúvel</sub> ao longo dos ensaios de biodegradabilidade aeróbia. ....	99

FIGURA 22 – Variações das concentrações de oxigênio dissolvido (OD) no RBF e decantador, concentrações de sólidos voláteis (SV) no afluente e efluente do sistema RBF-decantador e eficiências de remoção de SV observadas durante a operação do RBF. ....	103
FIGURA 23 – Variações das concentrações de DQO no afluente e efluente do sistema RBF-decantador e eficiências de remoção de DQO observadas durante a operação do RBF. ....	106
FIGURA 24 – Variações das concentrações de taninos totais no afluente e efluente do sistema RBF-decantador e eficiências de remoção de taninos totais observadas durante a operação do RBF. ....	109

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Macronutrientes utilizados durante a pesquisa.....	57
TABELA 2 – Solução de elementos-traço utilizada durante a pesquisa.....	57
TABELA 3 – Etapas da operação do UASB: substratos, volume de LCCV, água e alcalinizantes utilizadas no afluente e concentrações de DQO, COV, vazão do afluente e TDH aplicados ao UASB durante a pesquisa. ....	62
TABELA 4 – Variáveis determinadas, freqüências e métodos empregados durante o monitoramento do afluente e efluente do UASB. ....	63
TABELA 5 – Variáveis da operação do RBF durante a pesquisa.....	72
TABELA 6 – Variáveis determinadas e freqüências realizadas durante o monitoramento do afluente e efluente do RBF. ....	73
TABELA 7 – Caracterização físico-química do LCCV. ....	75
TABELA 8 - Concentrações médias, mínimas, máximas, número de determinações (ND) e desvios-padrão (DP) de DQO determinadas no afluente e efluente do UASB durante as etapas de operação.....	81
TABELA 9 – Eficiências médias, máximas, mínimas, número de determinações (ND) e desvios-padrão (DP) observadas para remoção de DQO durante as etapas de operação do UASB.....	82
TABELA 10 - Concentrações médias de metano, dióxido de carbono, nitrogênio e gases traços do biogás produzido pelo reator UASB durante a operação. ....	85
TABELA 11 - Concentrações médias, mínimas, máximas, número de determinações (ND) e desvios-padrão (DP) de taninos totais determinadas no afluente e efluente do UASB durante as etapas da operação. ....	88
TABELA 12 – Eficiências médias, máximas, mínimas, número de determinações (ND) e desvio-padrão (DP) observadas para remoção de taninos totais durante as etapas de operação do UASB. ....	89
TABELA 13 - Número de determinações, concentrações médias, máximas, mínimas, desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança de DQO determinadas no afluente e efluente do RBF durante a Fase 1. ....	104
TABELA 14 - Número de determinações, concentrações médias, máximas, mínimas, desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança de DQO determinadas no afluente e efluente do RBF durante a Fase 2, Etapas A e B. ....	105
TABELA 15 - Número de determinações, valores médios, máximos, mínimos, desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança, das eficiências de remoção de DQO obtidas pelo RBF durante as Fases 1 e 2 (Etapas A e B) de operação. ...	105
TABELA 16 – Número de determinações, valores médios, máximos, mínimos, desvio padrão, coeficiente de variação e intervalos de confiança, das eficiências de remoção de taninos totais obtidas pelo RBF durante a Fase 2 (Etapas A e B) de operação. ....	108

## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

AGV	Ácidos Graxos Voláteis
AHQDS	Antrahidroquinona disulfonada
AME	Atividade Metanogênica Específica
AQDS	Antraquinona – 2,6 – disulfonada
ASDC	Agar Sabouraud Dextrose Cloranfenicol
COV	Carga Orgânica Volumétrica
CG	Cromatografia Gasosa
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DBO <sub>5</sub>	Demanda Bioquímica de Oxigênio aos 5 dias
DQO	Demanda Química de Oxigênio total
DQO <sub>solúvel</sub>	Demanda Química de Oxigênio solúvel
LABOSAN	Laboratório de Saneamento
LCCV	Líquido da Casca do Coco Verde
LGA	Laboratório de Gestão Ambiental
PE	Poliestileno
PVC	Cloreto de Polivinila
OD	Oxigênio Dissolvido
P.A	Puro para Análise
RAFA	Reator de Fluxo Ascendente com manta de lodo
RBF	Reator Biológico com Fungos
Rpm	Rotações por minuto
SBBR	Reatores Seqüenciais de leito fixo em Batelada
SF	Sólidos Fixos
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
ST	Sólidos Totais
SV	Sólidos Voláteis
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
TCH	Taxas de Carregamento Hidráulico
TRC	Tempo de Retenção Celular
UASB	Upflow Anaerobic Sludge Blanket
UFC	Universidade Federal do Ceará
$\phi$	Diâmetro

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	9
LISTA DE TABELAS .....	11
LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS.....	12
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
2.1. OBJETIVO GERAL .....	17
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>18</b>
3.1. TANINOS.....	18
3.2. TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS.....	21
3.3. TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS.....	22
3.3.1. Microbiologia e bioquímica da digestão anaeróbia.....	23
3.3.2. Vias metabólicas anaeróbias de degradação dos taninos .....	24
3.3.3. Atividade metanogênica específica .....	25
3.3.4. Teste de toxicidade anaeróbia .....	26
3.3.5. Toxicidade anaeróbia devida a taninos.....	27
3.3.6. Sistemas de tratamento anaeróbio.....	29
3.3.7. Desempenho de sistemas de tratamento anaeróbio de efluentes com taninos .....	32
3.3.8. Influência dos fatores ambientais e operacionais.....	33
3.3.8.1. Influência do pH .....	33
3.3.8.2. Influência da temperatura.....	33
3.3.8.3. Necessidades nutricionais.....	34
3.4. TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS UTILIZANDO FUNGOS IMOBILIZADOS.....	35
3.4.1. Imobilização e formação de biofilme em reatores biológicos aeróbios .....	36
3.4.2. Vias metabólicas aeróbias de degradação dos taninos .....	38
3.4.3. Potencial de fungos para tratamento de águas residuárias.....	40
3.4.4. Digestão aeróbia fúngica.....	41
3.4.5. <i>Aspergillus niger</i> para tratamento de águas residuárias.....	42
3.4.6. Leveduras para tratamento de águas residuárias.....	43
3.4.7. Desempenho de sistemas de tratamento utilizando-se fungos .....	44
3.4.8. Sistemas biológicos com fungos tratando águas residuárias contendo taninos .....	46
3.5. CO-METABOLISMO.....	49
3.5.1. Glicose .....	49
3.5.2. Quinonas.....	50
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>53</b>
4.1. ORIGEM E PRODUÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA (LCCV) .....	53
4.2. REATOR ANAERÓBIO DE FLUXO ASCENDENTE E LEITO DE LODO .	54
4.2.1. Reator UASB - Equipamentos .....	54

4.2.2. Teste de atividade metanogênica específica (AME).....	56
4.2.3. Teste de toxicidade metanogênica .....	59
4.2.4. Estabilidade e biodegradabilidade anaeróbia do lodo.....	60
4.2.5. Operação do reator UASB .....	60
4.2.6. Monitoramento do reator UASB .....	63
4.2.6.1. Amostragem.....	63
4.2.6.2. Variáveis monitoradas e métodos empregados .....	63
4.3. REATOR BIOLÓGICO COM FUNGOS.....	65
4.3.1. Cultivo e preparação da espécie fúngica .....	65
4.3.2. Teste de toxicidade em placas.....	66
4.3.3. Ensaio de biodegradabilidade aeróbia fúngica do LCCV .....	67
4.3.4. Reator Biológico com Fungos - Equipamentos.....	68
4.3.5. Partida do RBF.....	70
4.3.6. Operação do RBF .....	71
4.3.7. Monitoramento do RBF.....	72
4.3.7.1. Amostragem.....	72
4.3.7.2. Variáveis monitoradas e métodos empregados .....	73
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	75
5.1. CARACTERIZAÇÃO DO LCCV .....	75
5.2. UASB.....	76
5.2.1. Análise microbiológica do LCCV autoclavado .....	76
5.2.2. Teste de toxicidade metanogênica do LCCV .....	77
5.2.3. Biodegradabilidade e estabilidade anaeróbia do lodo.....	80
5.2.4. Operação do reator UASB .....	81
5.2.4.1. COV, DQO e biogás.....	81
5.2.4.2. Alcalinidade total e Ácidos Graxos Voláteis .....	85
5.2.4.3. Taninos totais.....	88
5.2.4.4. AME .....	95
5.3. REATOR BIOLÓGICO COM FUNGOS (RBF).....	97
5.3.1. Teste de toxicidade do LCCV em placas.....	97
5.3.2. Ensaio de biodegradabilidade aeróbia fúngica do LCCV .....	98
5.3.3. Análises microbiológicas .....	100
5.3.4. Operação do RBF .....	100
5.3.5. Oxigênio dissolvido e sólidos voláteis.....	101
5.3.5.1. DQO .....	104
5.3.5.2. Taninos totais .....	108
5.4. RESULTADOS COMUNS AOS REATORES.....	114
6. CONCLUSÕES.....	115
7. RECOMENDAÇÕES.....	117
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	118

## 1. INTRODUÇÃO

O coco é conhecido como uma oleaginosa, sendo processado majoritariamente em seu estágio final de maturação para produção de óleo e outros produtos. No Brasil, o coco é consumido também imaturo (coco verde), para aproveitamento de sua água. Tanto o coco maduro como verde, após ser processado ou consumido, resulta em resíduo orgânico bastante volumoso, representado por suas cascas (ROSA et al., 2002). Ainda segundo estes autores, o agronegócio do coco verde apresenta crescimento estimado em 20% ao ano e estima-se que cerca de dois milhões de toneladas anuais de cascas são geradas em decorrência do consumo de água-de-coco verde no Brasil. A casca do coco é um resíduo que demora cerca de 10 a 15 anos para ser biodegradado e o seu acúmulo em locais impróprios devido a uma coleta e destinação irregulares, facilita a proliferação de doenças tropicais transmitidas por vetores, acarretando ainda na sobrecarga de aterros sanitários (PINTO et al., 2003a).

Buscando soluções para o aproveitamento da casca de coco verde, a Embrapa Agroindústria Tropical, localizada em Fortaleza-CE, desenvolveu uma tecnologia para processamento da casca, consistindo de uma seqüência de operações desde a trituração, que fragmenta a parte fibrosa do coco; passando pela prensagem, que extrai o excesso de líquido do produto triturado; até a classificação, que separa as frações em pó e fibras. O projeto foi nomeado PRODETAB - Prodetab 105-02 “Desenvolvimento de Tecnologia para Produção e Aplicação de Substrato Agrícola a partir de Resíduo de Coco Verde”.

A tecnologia tornou-se uma inovação tecnológica capaz de agregar valor à cadeia produtiva do coco verde, oferecer produtos (pó e a fibra da casca do coco) de fácil inserção no mercado e reduzir os impactos ambientais negativos provocados pela disposição inadequada do resíduo. Como resultado, em 2005, foi implantada uma unidade piloto, no Jangurussu/Fortaleza-CE, e posteriormente cinco unidades de aproveitamento da casca de coco verde no Brasil.

Contudo, durante o beneficiamento da casca do coco verde, é gerada uma água residuária denominada Líquido da Casca do Coco Verde (LCCV), oriunda da



etapa de prensagem, que apresenta elevado potencial de degradação do meio ambiente. No Brasil não existem sistemas específicos para tratamento do LCCV.

Análises físico-químicas do LCCV, realizadas em 2004 no Laboratório de Saneamento da Universidade Federal do Ceará, indicaram valores elevados de concentração de matéria orgânica (em termos de Demanda Química de Oxigênio – DQO), compostos nitrogenados, fenóis totais e salinidade. Considerando apenas aspectos quantitativos, somente a unidade piloto do Jangurussu tem capacidade de gerar até 20m<sup>3</sup> de LCCV por dia.

Sendo assim, a integração entre o beneficiamento da casca do coco e o tratamento do LCCV terá como resultado o desenvolvimento de uma tecnologia sustentável para reutilização da casca do coco, a qual poderá ser replicada e implementada em outras regiões do Brasil.

Nesta Tese será apresentada uma revisão da literatura abordando trabalhos sobre tratamento, anaeróbio e aeróbio, de efluentes que contenham elevada concentração de matéria orgânica, incluindo taninos, pesquisas sobre biodegradabilidade aeróbia e anaeróbia de efluentes contendo taninos. Serão descritas as metodologias empregadas para testes de toxicidade anaeróbia e fúngica, montagem e operação de reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo e reator biológico com fungos. Os resultados obtidos serão discutidos e comparados com trabalhos que enfocaram tratamento de efluentes com concentrações elevadas de DQO e taninos, usando os reatores supracitados. Ao final, as conclusões serão apontadas, bem como sugestões para trabalhos posteriores.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

O objetivo geral desta pesquisa foi avaliar a viabilidade de remoção de matéria orgânica presente no LCCV, aplicando duas alternativas distintas de tratamento biológico, sendo um reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (Upflow Anaerobic Sludge Blanket - UASB) e outro aeróbio com fungos (Reator Biológico com Fungos - RBF).

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ✓ Avaliar a toxicidade metanogênica do LCCV;
- ✓ Avaliar a toxicidade fúngica do LCCV;
- ✓ Avaliar a biodegradabilidade do LCCV através de fungos aeróbios;
- ✓ Avaliar a biodegradabilidade e estabilidade do lodo do UASB durante o tratamento do LCCV;
- ✓ Avaliar a remoção de matéria orgânica do LCCV, utilizando-se o UASB como o sistema de tratamento;
- ✓ Avaliar a remoção de taninos totais do LCCV, utilizando-se o UASB como o sistema de tratamento;
- ✓ Avaliar a remoção de matéria orgânica do LCCV, utilizando-se um reator biológico com fungos (RBF);
- ✓ Avaliar a remoção de taninos totais do LCCV, utilizando-se um reator biológico com fungos (RBF).

### **3. REVISÃO DE LITERATURA**

Será apresentada revisão de literatura abordando compostos característicos do LCCV, principalmente taninos, bem como sucintos fundamentos do tratamento anaeróbio e aeróbio. Além disso, serão abordados os efeitos tóxicos dos taninos à atividade microbiológica, sendo apresentadas pesquisas sobre tratamento de efluentes contendo taninos envolvendo temas como: testes de atividade metanogênica (AME), toxicidade anaeróbia, aplicação de reatores UASB, potencial dos fungos filamentosos, bem como leveduras e desempenho de reatores aeróbios com biomassa imobilizada.

Em função da inexistência de sistemas biológicos tratando LCCV, os estudos da viabilidade de aplicação dos reatores UASB e RBF, para tratamento deste efluente, foram baseados em experimentos com efluentes industriais que apresentavam características semelhantes (elevada concentração de DQO, fenóis e taninos), sendo os taninos em alta concentração de relevante atenção, visto que são potenciais inibidores principalmente do metabolismo anaeróbio. Foram abordadas águas residuárias de curtume, de lixiviado de casca de árvore, das indústrias de polpa de frutas, de papel e celulose.

#### **3.1. TANINOS**

Taninos são compostos fenólicos, solúveis em água, com elevados pesos moleculares que variam de 500 a 20000 Daltons. Segundo Mingshu et al. (2006) os taninos são divididos em quatro grupos: galotaninos, elagitaninos, taninos complexos e condensados. Os galotaninos e elagitaninos abrangem os taninos hidrolisáveis, e os taninos complexos são classificados como alguns polímeros que combinam características de taninos hidrolisáveis e condensados (ex. Ligninas). Os taninos condensados são compostos por unidades flavonóides, sendo polímeros de elevado peso molecular.

De acordo com Bhat, Singh & Sharma (1998), os taninos condensados (Figura 1) são mais resistentes ao ataque microbiano, sendo tóxicos para várias espécies de organismos. Os efeitos inibitórios, de taninos em microrganismos, têm

sido associados à formação de polímeros extracelulares, inibição da membrana da célula, atividade enzimática e ainda à privação de substratos e íons metálicos (NELSON et al., 1997).

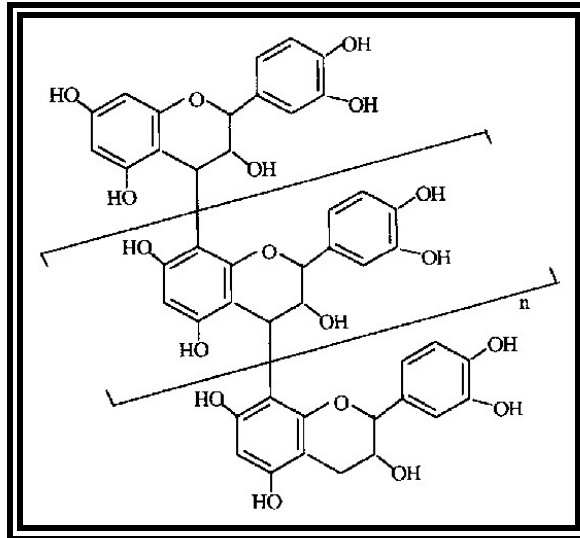


FIGURA 1 – Estrutura química dos taninos condensados (fonte – BHAT, SINGH & SHARMA, 1998).

Os taninos representam o quarto constituinte vegetal (mais abundante), depois da celulose, da hemicelulose e da lignina. Atuam como parte do mecanismo de defesa dos vegetais contra microrganismos, herbívoros e condições ambientais hostis. As plantas que contêm altos níveis de taninos apresentam vantagem evolucionária significativa sobre seus predadores e outras espécies vegetais, que competem pelo mesmo nicho. Concentrações elevadas de taninos estão associadas à maior resistência de vegetais ao ataque microbiano (SCALBERT, 1991).

As principais características dos taninos são: peso molecular (que pode variar entre 0,5 a 20 KDa); solubilidade em água; habilidade de ligar-se a proteínas e formar complexos (na maioria das vezes insolúveis); e a capacidade de combinação com celulose e pectina para formar complexos insolúveis (McLEOD 1974; MUELLER-HARVEY & REED, 1992). Os taninos foram divididos em dois grupos com base na estrutura molecular: os taninos hidrolisáveis e as proantocianidinas, originalmente chamadas de taninos condensados (DESHPANDE, CHERYAN & SALUNKHE, 1984; HASLAM & LILLEY, 1988; LEKHA & LONSANE, 1997; BHAT, SINGH & SHARMA, 1998; MINGSHU et al. 2006).

As proantocianidinas são mais vastamente distribuídas no reino vegetal em relação aos taninos hidrolisáveis. Ainda são chamadas de taninos condensados devido a sua estrutura química compacta. As proantocianidinas resultam do acoplamento de uma unidade flavonil eletrofílica, gerada a partir de um flavan-4-ol ou de um flavan-3,4-diol, uma unidade flavanil nucleofílica (BHAT, SINGH & SHARMA, 1998).

Desta forma, as proantocianidinas são oligômeros ou polímeros de unidades flavonóides, como a catequina, unidas por ligações carbono-carbono não suscetíveis à clivagem por hidrólise. Ao contrário dos taninos hidrolisáveis, proantocianidinas não contém resíduos de carboidratos (DESHPANDE, CHERYAN & SALUNKHE, 1984).

Os taninos hidrolisáveis são poliésteres de ácido gálico e diferentes carboidratos (McSWEENEY et al. 2001; BRUYNE et al. 1999). A molécula com um poliol, em geral glicose, compõe o núcleo central, cujos radicais hidroxil podem estar parcial ou totalmente esterificados com radicais galoil. Esses taninos são hidrolisados por ácidos, bases e enzimas (ex.: tanase) em suas unidades formadoras (CANNAS, 2002), sendo divididos em galotaninos (Figura 2) e elagitaninos (Figura 3).

Através de hidrólise e de oxidação esses taninos são reduzidos a unidades menores e catalisados por variadas enzimas. Assim, galotaninos são reduzidos a ácido gálico que é prontamente degradado por bactérias, fungos e leveduras, enquanto os elagitaninos são reduzidos a produtos intermediários antes de ser fragmentado à ácido elágico e, finalmente, ácido gálico. Isso acontece porque os elagitaninos possuem em sua estrutura, mais complexa que galotaninos, ligações carbono-carbono, mais difíceis de serem quebradas (MINGSHU et al. 2006).

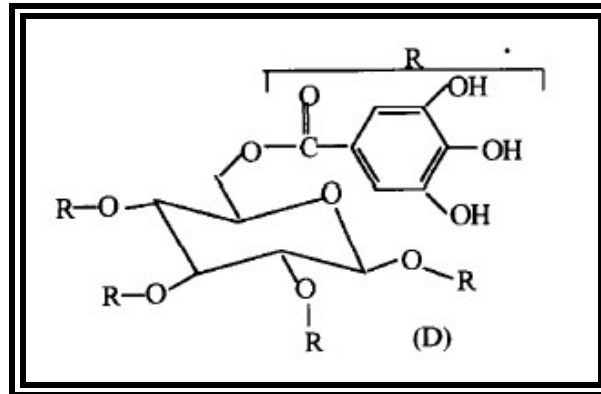


FIGURA 2 – Estrutura química dos galotaninos (fonte BHAT, SINGH & SHARMA, 1998).

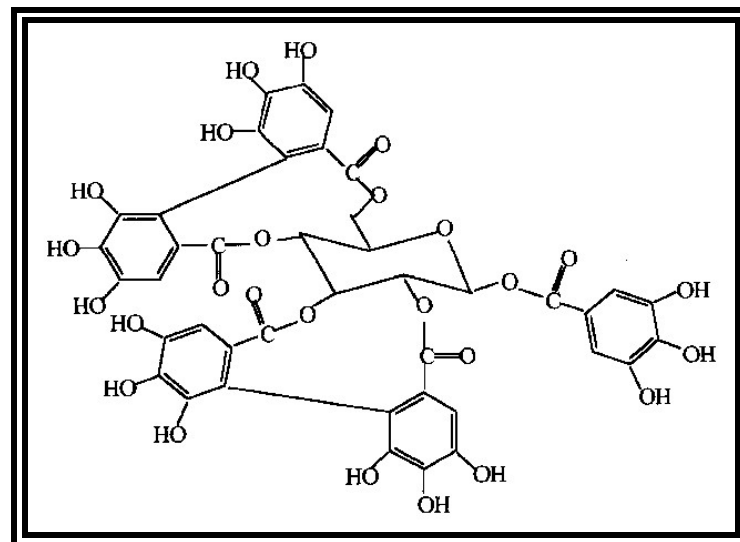


FIGURA 3 - Estrutura química dos elagitaninos (Fonte – BHAT, SINGH & SHARMA, 1998).

### 3.2. TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS

Vários processos de tratamento biológico são concebidos de forma a acelerar os mecanismos de degradação que ocorrem naturalmente nos corpos receptores de efluentes. Assim, a decomposição dos poluentes orgânicos degradáveis é alcançada em condições (anaeróbias ou aeróbias) controladas, em intervalos de tempo menores do que os sistemas naturais (VON SPERLING, 2005). Segundo este autor, os principais organismos envolvidos no tratamento biológico de efluentes são as bactérias, protozoários, fungos e outros.

De acordo com van Handeel & Lettinga (1994) o mecanismo mais importante para que ocorra a remoção de matéria orgânica em sistemas de

tratamento biológico é o metabolismo microbiano, sendo este caracterizado por duas fases: anabolismo, no qual o material é transformado e utilizado na síntese de material celular, e o catabolismo, no qual a matéria orgânica é utilizada como fonte de energia, ocorrendo a transformação desta em produtos estáveis.

Visto que as reações que acontecem no anabolismo requerem energia, esta fase somente ocorrerá se o catabolismo estiver acontecendo simultaneamente suprindo assim a necessidade energética dos microrganismos. Por outro lado, para que aconteça o catabolismo é necessário que haja a presença de microrganismos vivos, conseqüentemente se conclui que os processos, além de ocorrerem simultaneamente, são interdependentes (van HANDEEL & MARAIS, 2000).

### **3.3. TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS**

O sistema anaeróbio, proposto para tratamento do LCCV, era composto por um reator de fluxo ascendente com manta de lodo (RAFA), em inglês UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket), originalmente desenvolvido por Lettinga et al. (1980). UASB será a denominação utilizada ao longo do texto. Como o LCCV apresenta concentrações elevadas de matéria orgânica (aproximadamente 60-70g DQO/L), o processo de tratamento biológico anaeróbio foi uma alternativa de tratamento escolhida por apresentar vantagens potenciais (baixa produção de lodo, menor consumo de energia) em comparação ao tratamento aeróbio.

Além disso, os trabalhos desenvolvidos por diversos pesquisadores (MINGSHU et al., 2006; LÓPEZ-FIUZA et al., 2003; FRIGON, CIMPOIA & GUIOT, 2003; AQUINO et al., 2002; VIJAYARAGHAVAN & MURTHY, 1997; VIJAYARAGHAVAN & RAMANUJAM, 1999) demonstraram a capacidade de remoção de DQO em variados sistemas anaeróbios tratando efluentes com taninos. Ainda, considerando o LCCV um efluente desconhecido, é necessário o desenvolvimento e adequação de tecnologia eficiente de tratamento, seja por vias anaeróbias, aeróbias ou, ainda, a combinação de sistemas de tratamento (aeróbio/anaeróbio; físico-químicos/biológicos).

### 3.3.1. Microbiologia e bioquímica da digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo complexo envolvendo um consórcio de microrganismos que atuam de forma simbiótica onde o produto de um grupo é substrato de outro. As reações bioquímicas principais que ocorrem no processo caracterizam os grupos de microrganismos predominantes, podendo o mesmo ser dividido em três etapas: hidrólise e acidogênese, acetogênese, e metanogênese, conforme descreve McCarty & Smith (1986).

O processo de degradação da matéria orgânica inicia-se com a hidrólise do material presente no efluente gerando compostos mais simples, que possam ser assimilados pelos microrganismos. Normalmente os compostos orgânicos complexos (polímeros orgânicos) são transformados a monômeros, como açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos. Esta conversão é executada por enzimas extracelulares que são excretadas pelas bactérias fermentativas hidrofílicas. De acordo com Lema (1997), na degradação de muitos compostos poliméricos há possibilidade de a etapa hidrolítica ser mais lenta que as demais etapas, sendo esta a limitante do processo.

Na acetogênese, os produtos formados anteriormente são oxidados a acetato, hidrogênio e gás carbônico, com o objetivo de fornecer substrato apropriado aos microrganismos metanogênicos. De todos os produtos produzidos por estes microrganismos somente o acetato e o hidrogênio podem ser assimilados pelas bactérias metanogênicas (McCARTY & SMITH, 1986).

De acordo com as pesquisas realizadas por Breure & van Andel (1984), a distribuição dos ácidos orgânicos voláteis dependerá principalmente da natureza do substrato e das condições às quais os microrganismos estão sendo expostos. Com isto a etapa de acetogênese pode ser mais ou menos intensa no processo de degradação do substrato.

O processo de degradação do substrato é finalizado na metanogênese, que consiste na transformação dos produtos formados (com um ou dois átomos) anteriormente, em metano e dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ). A formação do metano é executada por dois mecanismos distintos, conforme descreve Speece (1995). O primeiro consiste da formação do metano a partir do  $\text{CO}_2$  e gás hidrogênio ( $\text{H}_2$ ), pelo grupo de arqueas hidrogenotróficas. O segundo consiste da produção do metano a partir do acetato, realizada pelo grupo de arqueas acetoclásticas.



Em termos de vias metabólicas anaeróbias, considerando os produtos de fácil fermentação (resíduos ricos em ácidos graxos e monômeros de açúcar), a etapa limitante no processo fermentativo é geralmente a metanogênica. Por outro lado, durante a digestão anaeróbia de resíduos mais complexos (da agricultura, celuloses e alguns lipídios e proteínas), a etapa limitante do processo é, geralmente, a hidrólise visto que, constituintes poliméricos se dividem em fragmentos menores ou, em monômeros (SOTO et al., 1993).

O uso do parâmetro sólidos totais voláteis (STV) para estimar a biomassa ativa em reatores anaeróbios sofre sérias limitações, pois não diferencia a massa de microrganismos responsáveis pelos estágios iniciais da biodegradação (hidrólise, acidificação) e os finais, principalmente, a acetogênese e metanogênese. Experimentos preliminares de AME, com amostras anaeróbias, verificaram que acetato, propionato e hidrogênio foram estequiometricamente convertidos a metano sem formação de produtos intermediários. Assim conclui-se que a produção de metano é uma medida adequada para expressar a capacidade de conversão de substratos metanogênicos e, que a determinação de quantidades crescentes de metano é mais fácil e acurada que a medida da concentração decrescente de substrato (BARKER & STUCKEY, 1999).

### **3.3.2. Vias metabólicas anaeróbias de degradação dos taninos**

Os taninos hidrolisáveis podem ser biodegradados, em sistemas anaeróbios, através da transformação de ácido gálico em pirogalol que pode ser convertido a ácido pirúvico ou em floroglucinol, o qual é transformado em acetato e butirato, que finalmente é convertido a metano em condições anaeróbias (AQUINO et al., 2002).

Já os taninos condensáveis (catequinas), em ambientes anaeróbios, após sofrerem cisão em seus anéis superiores, são convertidos a acetato que em seguida é assimilado pelas bactérias metanogênicas, e o utilizam como substrato. Outra via é a metabolização das quercetinas (unidade básica de taninos condensados) que são inicialmente quebradas à floroglucinol e derivados de fenil acetato. Floroglucinol é rapidamente fermentado, em vários sistemas anaeróbios, sendo convertido a acetato e butirato (MINGSHU et al. 2006).

### 3.3.3. Atividade metanogênica específica

Segundo Guerrero; Alkalay & Kera (1996) o teste de Atividade Metanogênica Específica (AME) é usado para analisar o comportamento da biomassa e avaliar a capacidade das arqueas metanogênicas em converter substrato orgânico em metano e gás carbônico. Sendo assim, a partir de quantidades conhecidas de biomassa (gSTV) e de substrato (gDQO), sob condições pré-estabelecidas, verifica-se a produção de metano ao longo do período de teste. A AME é então calculada pelas taxas de produtividade máxima de metano.

No teste de AME é adicionado lodo em quantidade suficiente para evitar que a degradação do efluente seja limitada pela falta de biomassa. Recomenda-se usar uma concentração de lodo de 5g SSV/L porém, se a atividade metanogênica do lodo for maior do que 0,2g DQO-CH<sub>4</sub>/gSSV.d, é possível utilizar concentrações menores. A formação de ácidos graxos voláteis (AGV) durante o teste pode causar acumulação de ácidos não neutralizados dentro do reator. Para evitar decréscimo do pH, deve-se assegurar que o efluente contenha uma alcalinidade mínima de 0,5g NaHCO<sub>3</sub>/g DQO. Caso contrário, deve-se colocar um agente tampão (VIDAL & DIEZ, 2005).

O teste de atividade metanogênica serve, dentre outras, para estabelecer o grau de biodegradabilidade de um efluente com base na atividade já determinada de um lodo. Este consiste em incubar uma certa quantidade de biomassa, em meio contendo o efluente a ser testado, nutrientes e solução tampão, medindo-se a quantidade de gás produzido por unidade de tempo e massa bacteriana (POERSCH & KOETZ, 1998).

Para que se obtenha a atividade metanogênica máxima, deve-se garantir que o ambiente permaneça anaeróbio e que contenha condições ótimas de temperatura, pH, potencial redox e nutrientes, assim como a seleção de população de microrganismos adequada e alimento suficiente (substrato), além de equipamento capaz de monitorar as mudanças da atividade metabólica, por meio da produção de gás ou do consumo do substrato com precisão satisfatória (MORENO, CRUZ & BUITRÓN, 1999).

Outro aspecto que deve ser abordado é o uso de elevadas populações de microrganismos fato que, provavelmente, provocará o consumo do alimento disponível em curto espaço de tempo, reduzindo o crescimento de novas bactérias

durante o teste. Além disto, o uso de quantidade excessiva de biomassa pode causar decréscimo na atividade máxima, devido a limitações na transferência de massa do substrato metanogênico aos microrganismos. Da mesma forma, concentrações insuficientes de alimento, isto é, abaixo do nível de saturação requerido pelos microrganismos, podem reduzir a atividade metanogênica máxima. Também deve ser explanado que concentrações excessivas de ácido acético podem inibir a atividade das bactérias metanogênicas (BIRCH et al., 1989).

Os resultados do teste de AME podem variar de acordo com a metodologia empregada. Diferentes fontes de inóculos podem levar a resultados diferentes, devido à adaptação e à composição da população microbiana. A aclimatação do lodo para um substrato específico pode estabilizar a comunidade microbiana, mantendo constante a composição e a atividade dos microrganismos, independentemente da fonte do inóculo. No entanto, para efluentes industriais, a aclimatação do lodo nem sempre será ideal, visto que as bactérias podem não encontrar um substrato específico para a degradação (BARKER & STUCKEY, 1999).

#### **3.3.4. Teste de toxicidade anaeróbia**

O teste de toxicidade anaeróbia é semelhante ao teste de AME, modificando-se apenas o substrato utilizado. Para o teste de toxicidade, utilizam-se diversas concentrações do tóxico em substituição aos ácidos graxos voláteis (AGV) utilizados no teste de AME.

Vidal & Diez (2005) estudaram a toxicidade metanogênica de efluentes de indústrias alimentícias. Uma solução neutra estoque de AGV foi utilizada, com concentração final de 2,0 ; 0,5 ; 0,5 g/L de ácido acético, propiônico e butílico, respectivamente, resultando em 3,8 gDQO<sub>total</sub> – AGV/L. O ensaio foi realizado em triplicata, dividido em três cargas consecutivas. As concentrações médias do efluente foram: para 1ª Carga: 18,8 e 1,3 g/L de DQO e taninos, respectivamente; 2ª Carga: 0,98 e 0,2 g/L de DQO e taninos, respectivamente; 3ª Carga: 1,2 e 0,01 g/L de DQO e taninos, respectivamente. Os resultados, do trabalho de Vidal & Diez (2005), demonstraram que nas três fases do experimento ocorreu inibição na atividade metanogênica das bactérias, sendo que a concentração inibitória foi de 4,3 gDQO-efluente/L para Fase I e de 0,8 gDQO-efluente/L para as Fases II e III. Os autores afirmaram que os taninos e ligninas foram os inibidores da AME.

Frigon, Cimpoia & Guiot (2003) aplicaram um reator UASB seguido de lodos ativados para tratamento do lixiviado de cascas de árvores. Foram realizados testes de AME da biomassa presente no UASB antes da operação com o lixiviado, e após três meses de operação. Os substratos utilizados foram glicose, acetato e fenol. Os valores da AME após três meses utilizando acetato e fenol como substrato foram 13 e 38% inferiores aos obtidos no início do experimento enquanto que utilizando glicose os valores dobraram em relação aos iniciais. Os autores não explicaram como a AME utilizando glicose aumentou com o tempo.

Nelson et al. (1997) investigaram os efeitos de taninos no crescimento bacteriano. As bactérias *Streptococcus bovis* e *F. succinogenes* foram as mais afetadas pelos taninos, enquanto que as *Prevotella ruminicola* e *R. albus* demonstraram maior nível de tolerância. Ocorreu remoção de glicose e produção de lactose após 2h, da adição de tanino, para o controle (sem tanino) e 4h para o tubo com 100µg tanino/mL. Para concentrações elevadas de tanino (acima de 200µg tanino/mL) o metabolismo de remoção da glicose foi afetado. Outro resultado interessante é que a quantidade de acetato, produzido pelas bactérias, não foi afetada quando taninos purificados foram adicionados no meio.

### 3.3.5. Toxicidade anaeróbia devida a taninos

A adequada degradação dos poluentes orgânicos por qualquer processo biológico depende da manutenção de um ambiente favorável para os microrganismos incluindo o controle, ou a eliminação de constituintes tóxicos.

Segundo Cherchinaro (1997) a toxicidade tem sido considerada um dos principais empecilhos para a aplicação de processos anaeróbios, pois as arqueas metanogênicas são sensíveis e vulneráveis.

Contudo, Speece (1995) afirmou que microrganismos podem ser capazes de metabolizar compostos recalcitrantes como clorofórmio e tricloro-etano, desde que seja usada uma metodologia apropriada, na qual o aumento da concentração do composto tóxico seja realizado vagarosamente e com a prevenção de perda de biomassa do sistema.

Ainda, de acordo com Metcalf & Eddy (2003), muitos compostos orgânicos tóxicos e recalcitrantes são degradados em sistemas anaeróbios, servindo como

substrato para fermentação e produção de metano. Exemplos típicos são os compostos alifáticos e aromáticos não halogenados como fenóis e tolueno.

Segundo Field et al. (1988), a capacidade de formar compostos insolúveis é a principal característica dos taninos, o que resulta em efeitos tóxicos aos microrganismos anaeróbios metanogênicos. A degradação anaeróbia de galotaninos, por meio de lodos anaeróbios, foi inicialmente citada por Field & Lettinga (1987). Os autores observaram que, embora os galotaninos sejam rapidamente biodegradáveis (em concentrações menores que 700mg/L), estes são potencialmente tóxicos para as bactérias metanogênicas. Diversos pesquisadores (LÓPEZ-FIUZA et al., 2003; AQUINO et al., 2002; MINGSHU et al. 2006; VIJAYARAGHAVAN & RAMANUJAM, 1999; VIJAYARAGHAVAN & MURTHY, 1997) demonstraram a possibilidade de degradação anaeróbia de taninos.

A alta toxicidade das águas residuárias de curtume foi avaliada por Reemtsma et al. (1997) através do teste de inibição luminescência de bactérias (*Microtox*), verificando que cerca de 5 mL/L de efluente resulta numa inibição de 50%. Os autores sugerem que um dos grandes motivos para esta alta inibição é a diversidade de produtos químicos orgânicos utilizados no processo de produção de couros tais como: taninos, compostos alifáticos, ácidos carboxílicos aromáticos, álcoois, fenóis, ciclohexanos, etoxilatos.

Klinkow et al. (1998) avaliaram a toxicidade dos compostos orgânicos, incluindo taninos condensáveis, presentes no efluente de curtume, antes e após o tratamento anaeróbio. Os autores verificaram que em determinadas faixas de peso molecular a toxicidade destes compostos pode dobrar após o tratamento anaeróbio. Segundo os autores este fato pode ser atribuído à presença de compostos não biodegradáveis ou pela formação de compostos gerados da degradação parcial destes durante o processo anaeróbio.

A presença de compostos aromáticos em efluentes de sistemas anaeróbios tratando substratos simples também foi verificada por Aquino et al. (2002). Usando extração líquido-líquido seguida de GC-MS, os autores determinaram a presença de compostos fenólicos, ftalatos e outros aromáticos. Tais compostos foram produzidos pelo sistema de tratamento, uma vez que não foram identificados no afluente, e até o momento não são claros os fatores que levaram à sua produção. Entretanto, é conhecido que microrganismos podem sintetizar uma variedade enorme de compostos a partir de monômeros básicos e acredita-se que

os compostos aromáticos identificados tenham sido produzidos a partir de aminoácidos que contêm o anel benzeno.

A adição de produtos oleosos durante o processo de curtimento e acabamento do couro pode muitas vezes provocar a inibição da digestão anaeróbia, já que estes produtos contêm compostos com cadeia molecular longa, como por exemplo os taninos. Segundo Rinzema et al. (1993), microrganismos acetogênicos e metanogênicos não suportam concentrações de ácido cáprico superiores a 6,7 a 9 mol/m<sup>3</sup>.

López-Fiuza et al. (2003) operaram reatores UASB em escala de bancada para verificar a viabilidade de degradação anaeróbia de extratos naturais de taninos e verificaram que concentrações de taninos condensáveis no afluente próximas de 800mg/L inibiram a atividade metanogênica dos reatores.

Portanto, uma solução para o tratamento estável e eficiente de efluentes contendo elevada toxicidade seria tanto operar o sistema com elevado tempo de retenção celular (TRC), quanto promover uma adaptação adequada que resultaria em um sistema capaz de suportar concentrações de certos tóxicos até dez vezes maiores que aquelas suportadas por lodos não adaptados (SPEECE, 1996).

### **3.3.6. Sistemas de tratamento anaeróbio**

A utilização de processos de tratamento anaeróbio para o tratamento de efluentes era considerada até recentemente antieconômica e problemática, devido à reduzida velocidade de crescimento da biomassa anaeróbia, principalmente das bactérias metanogênicas, fazendo com que o controle do processo fosse delicado, uma vez que a recuperação do sistema é bastante lenta (ROCHA, 2003).

A caracterização dos organismos metanogênicos é de fundamental importância para o tratamento anaeróbio, não somente por realizarem a etapa final do processo, a conversão de acetato, hidrogênio e dióxido de carbono em metano, mas também por apresentarem lenta reprodução e serem o primeiro grupo de organismos a sucumbir quando ocorre algum estresse no meio (SILVEIRA & MONTEGGIA, 2000).

Para os reatores anaeróbios serem operados com baixos tempos de detenção hidráulica e elevados tempos de retenção celular, os mesmos devem possuir mecanismos de retenção de biomassa, o que os configura como sistemas de

alta carga, tipo UASB (VIDAL & DIEZ, 2005; BANKS et al., 1999; CAIXEITA et al., 2002; CAVALCANTI, 2003).

Existem diversos tipos de reatores de alta carga, sendo utilizados para o tratamento de efluentes, diferenciando-se pelo tipo de crescimento de microrganismo no sistema. Existe o crescimento disperso, que se relaciona à presença de flocos ou grânulos de bactérias totalmente livres, como é o caso dos reatores UASB, e o crescimento aderido, onde as bactérias crescem em materiais inertes, levando a formação de um biofilme (filme biológico), como no filtro biológico anaeróbio.

Os reatores UASB foram desenvolvidos por Lettinga et al. (1980). O que permite o uso de reatores UASB para cargas orgânicas elevadas, em comparação a outros sistemas anaeróbios, é o desenvolvimento de um lodo granular denso, que se concentra no fundo do reator (METCALF & EDDY, 2003). A concentração de biomassa no reator é bastante elevada (em geral 40 gSSV/L) e, por isso, o volume requerido, para as unidades, é bem reduzido quando comparado a outros exemplos de tratamento.

A produção de lodo é pequena e este possui elevado grau de estabilização (VON SPERLING, 2005). A parte inferior do reator UASB denomina-se leito de lodo, que se caracteriza pelo adensamento de biomassa. Acima do leito de lodo encontra-se uma zona de lodo mais dispersa denominada manta de lodo, em que os sólidos possuem velocidades de sedimentação mais baixas. A concentração do lodo nessa zona usualmente varia entre 1,5 e 4% (CHERCHINARO et al., 1999).

O reator UASB desempenha simultaneamente várias funções. Nele ocorre a sedimentação dos sólidos suspensos do efluente que ficam retidos no manto espesso de lodo biológico. Também ocorre a digestão da parte sólida retida (lodo da água residuária e parte da biomassa), resultando em um lodo bem estabilizado. Por fim, existe a degradação biológica da parte solúvel do efluente (KATO et al., 1999).

Segundo Fang et al. (1996), os reatores UASB têm sido aplicados para diferentes tipos de águas residuárias, desde aqueles que contenham proteínas até os que contêm compostos tóxicos como fenol, removendo-os eficientemente.

O processo de tratamento de efluente em reator UASB consiste de um fluxo ascendente do afluente através de um leito de lodo denso e de elevada atividade, sendo que o perfil de sólidos no reator varia muito desde um lodo muito denso até lodo mais disperso e leve. A estabilização da matéria orgânica ocorre em

todas as zonas do reator, leito e manta de lodo, sendo a mistura do sistema promovida pelos fluxos ascensionais do líquido alimentado e dos gases formados.

Segundo Cherchinaro (1997) a aplicação do reator UASB apresenta várias vantagens, como: facilidade de operação, pequena área para implantação quando comparada à área necessária para uma lagoa, baixa geração de odores, boa estabilização do efluente final, baixo consumo de energia elétrica para a operação em comparação aos processos aeróbios de tratamento de efluentes, além da possibilidade de geração de energia através do biogás.

Speece (1995) destaca outras vantagens:

- baixo custo de implantação e operação;
- baixa produção de lodo;
- satisfatória eficiência de remoção de DQO/DBO;
- possibilidade de rápido reinício;
- concentrações elevadas de biomassa.

Conforme Fang et al. (1996), a construção dos separadores de gás-líquido-sólidos, nos reatores UASB, conferiu a esses reatores característica de produzir uma biomassa com uma densidade global alta e com boas características de sedimentabilidade.

De acordo com González et al. (1998), como uma característica do fluxo ascendente, o tempo de detenção hidráulica (TDH), deve ser cuidadosamente controlado, durante a partida de reatores UASB, de forma a dar tempo para que os microrganismos adaptem-se ao efluente e possam formar os grânulos. A formação destes grânulos possibilita a operação dos reatores com menores TDH, evitando problemas de lavagem dos microrganismos e o acúmulo de nutrientes no leito da biomassa.

Cargas orgânicas elevadas podem ser aplicadas no reator UASB. Porém, deve-se tomar cuidado para que não ocorra problema de perda de biomassa (SEGHEZZO et al., 1998). Estudos experimentais demonstram que a carga volumétrica não deve ultrapassar o valor de  $5,0 \text{ m}^3/\text{m}^3.\text{d}$ , o que equivale ao tempo de detenção hidráulica, mínimo, de 4,8h (CHERCHINARO, 1997).

Vários estudos comprovam a eficiência do uso de reatores anaeróbios no tratamento de efluentes de agroindústrias tanto em escala de laboratório como em escala real (TORKIAN et al., 2003; CAIXETA et al., 2002; BANKS et al., 1999;



WIEGANT et al., 1999), indicando que o LCCV pode ser tratado neste tipo de sistema.

### **3.3.7. Desempenho de sistemas de tratamento anaeróbio de efluentes com taninos**

Uma pesquisa envolvendo reator híbrido anaeróbio em escala piloto para tratamento do efluente da indústria de fabricação de compensado de madeira foi desenvolvida por Fernández et al. (2001). Estes autores utilizaram efluente bruto que possuía 1460 mg/L de taninos totais e 40900 mgDQO/L. Foi aplicado pré-tratamento físico-químico sendo removido cerca de 13% da DQO inicial. Quando a COV aplicada variou de 6,5 a 8,5kg DQO/m<sup>3</sup>.d foram observadas remoções de DQO variando de 90 a 93% e, ainda, remoção de 90% de compostos fenólicos.

Uma variedade de água residuária, que deve ser abordada, é o lixiviado oriundo de resíduos de cascas de árvores visto que é caracterizado por apresentar elevadas concentrações de tanino.

Tipicamente, este tipo de efluente apresenta a seguinte composição: taninos poliméricos (30-55%), carboidratos (30-40%), monômeros fenólicos tânicos e não tânicos (10-20%), e DQO variando de 5 a 60gDQO/L. A toxicidade deste efluente, para microrganismos anaeróbios, tem sido demonstrada em estudos anteriores, e pode ser devida aos taninos oligoméricos condensáveis, resinas de cadeias longas e de ácidos graxos (FRIGON, CIMPOIA & GUIOT, 2003).

Os autores Frigon, Cimpoia & Guiot (2003) estudaram o tratamento biológico anaeróbio/aeróbio, em série, do lixiviado de cascas de árvores. Na pesquisa foi utilizado um reator UASB seguido de reator de lodos ativados ou de biofiltro aeróbio, todos em escala de laboratório. O afluente utilizado na pesquisa apresentava 20.900 mgDQO<sub>total</sub>/L e 9,1mg Fenóis totais/L. No reator UASB a remoção variou de 61 a 89% com COV variando de 7,0 a 13,8g DQO/L.d. Os autores concluíram que a atividade anaeróbia diminuía com o tempo, mostrando que havia inibição parcial provavelmente provocada pela presença de taninos.

Ainda na pesquisa realizada por Frigon, Cimpoia & Guiot (2003), os autores verificaram que a concentração de fenóis no efluente do reator UASB era sempre maior que a afluente. Os autores explicaram que poderiam ter ocorrido transformações anaeróbias de moléculas mais complexas em monômeros fenólicos

simples. Fato semelhante foi observado na pesquisa realizada por Field et al. (1990) que mencionaram que degradações incompletas de taninos poderiam resultar em produção de fenóis durante o tratamento anaeróbio.

### **3.3.8. Influência dos fatores ambientais e operacionais**

#### **3.3.8.1. Influência do pH**

O efeito do pH se manifesta sob diferentes formas, afetando a atividade das enzimas microbianas e alterando o equilíbrio químico de certos compostos, aumentando ou diminuindo a toxicidade destes.

Segundo Lema (1997), o pH ótimo depende do consórcio de microrganismos envolvidos no processo. Normalmente os microrganismos têm o seu pH ótimo perto da neutralidade como é o caso das arqueas metanogênicas, com uma faixa ótima de 6,5 a 8,2. Em condições acima ou abaixo desta faixa decresce a taxa de produção de metano. As bactérias produtoras de ácidos têm um crescimento ótimo na faixa de pH entre 5 e 6, tendo uma tolerância maior a valores mais baixos de pH que as arqueas metanogênicas.

Devido a estas diferenças dos valores de pH, Ince (1998) relata que é impossível estabelecer uma única condição ótima para o crescimento destes dois grupos de microrganismos, propondo assim, que estes fiquem expostos em condições diferentes para que se atinja uma maior eficiência no processo de degradação do substrato.

Nos processos anaeróbios os dois principais compostos que afetam o pH são o ácido carbônico e os ácidos voláteis. Na faixa de pH entre 6 e 7,5 a capacidade de tamponamento do sistema é quase completa, dependendo da relação gás carbônico / alcalinidade que, em equilíbrio com a dissociação do ácido carbônico, tende a regular a concentração do íon  $H^+$  (BREURE & van ANDEL, 1984).

#### **3.3.8.2. Influência da temperatura**

De acordo com Sánchez et al. (2001), pesquisas têm registrado a aplicação do processo anaeróbio em diferentes faixas de temperatura. Segundo Lema (1997), estas faixas de temperatura associadas com o crescimento microbiando podem ser classificadas como:

- faixa psicofílica: entre 0 e aproximadamente 20°C;
- faixa mesofílica: entre 20 e aproximadamente 45 °C;
- faixa termofílica: entre 45 e aproximadamente 70 °C.

A atividade dos microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia é muito dependente da temperatura a que estão expostos, em especial para o grupo metanogênico, que apresenta um intervalo de temperatura muito restrito de operação. Lema (1997) cita que em temperaturas abaixo de 20 °C o processo de digestão pode ser limitado pela velocidade da etapa hidrolítica.

Dois níveis ótimos têm sido associados à digestão anaeróbia, um na faixa mesofílica (30 e 35 °C) e outro na faixa termofílica (50 a 55 °C), porém os digestores, normalmente, são projetados para operarem na primeira faixa (SÁNCHEZ et al., 2001).

#### **3.3.8.3. Necessidades nutricionais**

Conforme Lema (1997), as necessidades nutricionais dos microrganismos presentes no sistema anaeróbio são estabelecidas conforme a composição química das células microbianas. Este dado exato é raramente conhecido, sendo esta informação determinada com base na composição empírica das células.

Os principais nutrientes para os microrganismos são o carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, fósforo, e enxofre. O nitrogênio é o nutriente que é exigido em maiores concentrações, após o carbono, hidrogênio e oxigênio, para o crescimento dos microrganismos.

Além de nitrogênio, fósforo e enxofre, juntamente com o carbono e oxigênio, que constituem as macromoléculas das estruturas celulares microbianas, um grande número de outros elementos químicos tem-se mostrado necessário ao crescimento de microrganismos no processo anaeróbio, que são os denominados micronutrientes, representam cerca de 4% do peso seco das células (SÁNCHEZ et al., 2001).

Em revisão de literatura sobre aspectos nutricionais em processos anaeróbios, Guiot & Costerton (1992) fizeram referências a vários trabalhos nos quais se comprovou que a presença de ferro, cobalto, níquel e zinco estimulou os processos anaeróbios. O efeito estimulante foi observado principalmente em experimentos de crescimento de culturas em laboratório.

### 3.4. TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS UTILIZANDO FUNGOS IMOBILIZADOS

Os fungos são reconhecidos por produzirem grande variedade de proteínas extracelulares, ácidos orgânicos, enzimas e, ainda, por sua capacidade de adaptação a condições ambientais adversas. Ao contrário do que ocorre com as bactérias, para os fungos não é observada limitação na difusão de vários substratos para o interior das células, pois produzem enzimas extracelulares que quebram grandes compostos em frações menores, facilitando a assimilação e permitindo, dessa forma, maior tolerância às concentrações elevadas de poluentes (KAPDAN et al., 2000).

O interesse na aplicação de fungos para tratamento biológico de águas residuárias vem crescendo devido às suas características fisiológicas. Segundo Santaella et al. (2005), a capacidade dos fungos de suportar mudanças bruscas na concentração de matéria orgânica, rápida reprodução e proliferação, tolerar grandes variações de pH e de temperatura e se adequar a variações e escassez de umidade e de oxigênio são indicadores do potencial de aplicação destes microrganismos em tratamento biológico de águas residuárias.

Segundo Araújo et al. (2001), leveduras são fungos como os filamentosos, mas se diferenciam deles por se apresentarem predominantemente sob forma unicelular. Por serem células mais simples, leveduras crescem e se reproduzem mais rapidamente em relação aos fungos filamentosos. Uma levedura típica consta de células ovais que se multiplicam assexuadamente, comumente por brotamento ou gemulação. A maioria das leveduras se adaptou a ambientes com altos teores de açúcares, tais como néctar de flores e superfícies de frutas. As leveduras são classificadas em todas as três classes de fungos superiores: ascomicetos, basidiomicetos e fungos imperfeitos.

A parede celular de leveduras é formada por três principais grupos de polissacarídeos:  $\beta$ - glucana ( $\beta$ -1,3 glucana e  $\beta$ -1,6 glucana), mananaproteínas e quitina. A  $\beta$ - glucana é o composto majoritário da parede celular de leveduras, seguida pelas mananaproteínas e pela quitina. A camada externa da parede celular de leveduras é formada pelas mananaproteínas, enquanto a interna, pela glucana. Diferentemente da parede celular das leveduras, a parede celular de fungos é composta principalmente por quitina (SELITRENNIKOFF, 2001).

### **3.4.1. Imobilização e formação de biofilme em reatores biológicos aeróbios**

A concepção do reator, idealizada na pesquisa, foi de biomassa imobilizada com vistas ao aumento da eficiência de degradação de compostos recalcitrantes, como os taninos, através do acréscimo da concentração e adaptação da biomassa e, ainda, incremento na flexibilidade de operação, uma vez que o reator opera sob condições dinâmicas (GODJEVARGOVA et al., 2003). Ainda, segundo Di laconi et al. (2002), o mecanismo de células imobilizadas é mais eficiente, para remoção de compostos tóxicos pelos fungos, em relação a sistemas de tratamento convencionais como: carvão ativado, e reatores com meio disperso.

Segundo Alves (1999), a formação de biofilme aderido à superfície do suporte, acontece com predomínio deste sobre culturas livres em suspensão, havendo a criação de micro-ambientes especiais pela interação entre as espécies, favorecendo o conjunto como um todo e garantindo grande estabilidade das colônias. Além disso, a utilização de suportes inertes assegura a retenção da biomassa no reator e propicia a operação com tempo de retenção celular muito elevado, aumentando a eficiência do reator.

O emprego de um suporte para imobilização da biomassa envolve questões relacionadas ao desempenho do reator, uma vez que poderá surgir resistência à transferência de massa, inerente a processos que envolvem duas fases distintas, no caso sólida e líquida. Desta forma, a eficiência de reatores contendo células imobilizadas também está diretamente relacionada com os fluxos de massa entre as fases líquida e sólida, os quais podem ser limitantes do processo de conversão e causar considerável decréscimo da velocidade global das reações (RATUSZNEI et al., 2000). Portanto, a escolha do material adequado a ser utilizado como suporte é de fundamental importância para a formação do biofilme e retenção da biomassa no interior do reator.

De acordo com Ratusznei et al. (2000), o oxigênio é fator determinante no estabelecimento das camadas de biofilme. A síntese de novas células promove o aumento da biomassa, prejudicando a passagem de oxigênio até as camadas internas, junto à superfície do meio suporte.

Outro aspecto que deve ser considerado é que a condição hidrodinâmica do sistema deve propiciar a manutenção do biofilme, pois em situações hidrodinâmicas críticas o biofilme pode se desprender do suporte e,

conseqüentemente, ser arrastado do reator (GIJZEN et al., 1988; WIRTZ & DAGUE, 1997; VARESCHE et al., 1997).

O fenômeno de desprendimento do biofilme é função das cargas hidráulicas e orgânicas aplicadas ao filtro. Cargas hidráulicas determinam a velocidade de passagem do esgoto pelo biofilme e cargas orgânicas são responsáveis diretas pela taxa do metabolismo da camada biológica (GONÇALVES et al., 2001).

De acordo com Porto (2002), o desprendimento da película é o principal fator que influencia a performance de um sistema de biofilme e ainda distingue o desprendimento causado por erosão e por cisalhamento. A erosão é caracterizada pela contínua remoção de pequenas partículas do biofilme e da interface biofilme-líquido. A erosão predomina quando há baixas concentrações de substrato e escoamento que gere turbulência. O cisalhamento está relacionado a esporádicos desprendimentos de fragmentos de película maiores, resultantes de alterações dentro do próprio biofilme. O cisalhamento é normalmente observado quando há grande concentração de substrato e escoamento não turbulento.

Outras características e vantagens da utilização de reatores com biomassa imobilizada são deferidas por Jou & Huang (2003), que apresentam quatro vantagens principais: simplicidade de operação, capacidade para suportar choques de carga orgânica, baixa produção de sólidos e, ainda, pouca necessidade de energia para operação.

Como desvantagem dos reatores de biofilme fixo considera-se a falta de mecanismos efetivos para controle da espessura do biofilme, o que pode contribuir para limitações à transferência de massa e à obstrução do leito (colmatação do sistema) implicando na necessidade de eventuais remoções do excesso de biomassa ou, até mesmo, retirada parcial ou total do meio-suporte.

Para imobilização da biomassa, diferentes tipos de materiais (espuma de poliuretano, poliamida, cloreto de polivinila - PVC, poliestileno - PE, tocos plásticos, escória de alto forno, pedra britada, materias cerâmicos) têm sido estudados como meio suporte, sendo duas as principais características para o uso destes para o tratamento biológico de águas residuárias: não ser biodegradável e nem solúvel no meio (RATUSZNEI et al., 2000 ; SANTOS, 2005).

Vieira & Melo (1999) realizaram experimento para verificar a formação de biofilme em sistemas de tratamento sujeitos ao escoamento turbulento e baixas

concentrações de substrato no afluente a ser tratado. Nesse estudo foram analisados o consumo de substrato, e as atividades de biofilmes formados por *Pseudomonas fluorescens*. A formação do biofilme foi monitorada através de medidas da resistência de transferência de calor dos sedimentos biológicos, que era transformada em unidade de massa. Estes autores concluíram que, para fluxo contínuo, a razão de consumo de substrato diminui com o aumento da velocidade, o que demonstrou que alterações nas condições hidrodinâmicas, em fluxo turbulento, têm um efeito significativo no comportamento do biofilme.

A utilização de reator com biofilme aderido oferece grande eficiência e estabilidade, principalmente quando se necessita alta taxa de degradação (JOU & HUANG, 2003; GODJEVARGOVA et al., 2003). Zhang et al. (1999) compararam a remoção do corante “Orange II” aplicando fungos em reatores de leito fluidificado com e sem biomassa imobilizada. Os resultados quanto à remoção de cor do meio líquido foram semelhantes para os dois sistemas estudados, ocorrendo cerca de 95% de remoção, porém as taxas de remoção do corante no reator com biomassa imobilizada foram mais elevadas, em torno de 40 a 45 mg/L.h, contra 30 a 40 mg/L.h do reator com biomassa livre.

#### **3.4.2. Vias metabólicas aeróbias de degradação dos taninos**

O efeito tóxico dos taninos deve-se principalmente à capacidade que possuem de precipitar proteínas de forma irreversível. As enzimas produzidas são prontamente precipitadas impedindo que a célula prepare o substrato para ser consumido. As estruturas são complexas e de alto peso molecular. Em razão dos efeitos tóxicos dos taninos, alguns microrganismos tornaram-se resistentes e desenvolveram a habilidade de degradá-los em unidades menores como ácido gálico, ácido elágico e monômeros de taninos condensados (BHAT, SINGH & SHARMA, 1998).

A degradação microbiológica de taninos hidrolisáveis se dá principalmente pela ação da tanase. Essa enzima é capaz de catalisar a hidrólise dos ésteres e quebrar as ligações de galotaninos reduzindo-os a ácido gálico e glicose. A tanase é produzida por variados microrganismos, com destaque para fungos, principalmente *Aspergillus* e *Penicillium*, bactérias e leveduras. Entretanto, nem toda tanase produzida é igualmente ativa em todos os taninos. A tanase de leveduras tem ação

eficaz na decomposição de galotaninos porém, atua de forma superficial na degradação de taninos de alto peso molecular como elagitaninos e taninos condensados. Já a tanase produzida por bactérias pode degradar tanto galotaninos quanto elagitaninos, assim como a tanase fúngica que pode degradar variados tipos de taninos (BHAT et al. 1998).

A via metabólica aeróbia, de degradação dos taninos hidrolisáveis, ocorre inicialmente através da ação da tanase, sendo convertida a ácido gálico para, em seguida, ser convertido à ácido pirúvico ( $\text{CH}_3\text{COCOOH}$ ) e, finalmente, ser introduzido no ciclo do ácido cítrico. Outra via, de biodegradação, transforma ácido gálico em pirogalol que pode ser convertido a ácido pirúvico ou em floroglucinol, o qual é transformado em acetato e butirato que em condições aeróbias é consumido no ciclo do ácido cítrico (BHAT et al. 1998).

Diferentes microrganismos, como bactérias (MONDAL & PATI, 2000; OSAWA et al., 2000, DESCHAMPS & LEBEAULT, 1984), leveduras (AOKI et al., 1976), e fungos filamentosos (BRADDOO, GUPTA & SAXENA, 1996; BAJPAI & PALTÍ, 1996; PINTO et al., 2003b) são considerados capazes de sintetizar tanases.

Os fungos filamentosos e mais especificamente as espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são os melhores produtores de tanase (BRADDOO et al., 1996; BAJPAI & PALTÍ 1996; BHAT, SIGH & SHARMA, 1998; BATRA & SAXENA, 2005). Das 80 linhagens fúngicas isoladas por Yamada et al. (1968) como produtoras de tanase, as duas que apresentaram maior capacidade de síntese foram identificadas como *Aspergillus oryzae*. Diferentes linhagens de *Aspergillus niger*, *A. japonicus* e *A. oryzae* são citadas como as melhores produtoras de tanase.

Os taninos condensados (ou Proantocianidinas) são compostos fenólicos poliméricos constituídos por unidades flavan – 3- ols (catequinas) e flavan 3-4 diols (leucoantocianidinas ou quercetinas) ligados por ligações carbono-carbono. Essas ligações conferem aos taninos condensados estrutura mais complexa com elevados pesos moleculares (SCHOFIELD et al., 2001). Por esta razão, dentre todos os taninos, os condensados são os mais resistentes à biodegradação (ARUNACHALAM et al., 2003).

A degradação aeróbia dos taninos condensados se dá inicialmente pela quebra oxidativa dos anéis heterocíclicos das catequinas convertendo-os ao ácido carboxílico floroglucinol. Este sofre descarboxilação e cisão sendo convertido a



ácidos alifáticos que são assimilados no ciclo do ácido cítrico (ARUNACHALAM et al., 2003).

### **3.4.3. Potencial de fungos para tratamento de águas residuárias**

Segundo Metcalf & Eddy (2003), os processos aeróbios são subdivididos em três classes:

- Crescimento em suspensão (ex. lodos ativados - mistura completa);
- Crescimento em meio suporte (ex. filtro biológico);
- Crescimento em suspensão e meio suporte (ex. biofiltro ativado).

Segundo Rocha (2003), de uma forma simplificada, um resíduo pode ser considerado facilmente biodegradável, por atividade aeróbia, quando as demandas, química e bioquímica de oxigênio, obedecem à relação DQO/DBO menor ou igual a três. Quanto maior que três for a relação, menos biodegradável deverá ser o resíduo e, evidentemente, mais difícil seu tratamento por processos biológicos. O valor da DQO de uma água residuária representa, em geral, tanto os compostos orgânicos biodegradáveis quanto os não biodegradáveis. No tratamento biológico somente a fração biodegradável do efluente pode ser efetivamente removida sendo que a não biodegradável passará inalterada pelo sistema. Em virtude disso, os microrganismos poderão produzir compostos solúveis dentro dos sistemas de tratamento. Alguns desses compostos serão resistentes à degradação biológica e ainda estarão presentes no efluente do reator.

De acordo com Marins et al. (2003), leveduras têm sido citadas na literatura como agentes eficazes em degradar ampla gama de substâncias orgânicas, comumente encontradas nos efluentes industriais. Por utilizarem tais substâncias como únicas fontes de carbono e de energia, os microrganismos vêm se apresentando como poderosas alternativas aos métodos convencionais de tratamento, sendo cada vez mais empregados na resolução de problemas ambientais.

Para o tratamento de águas residuárias industriais, os fungos têm sido estudados para remoção de compostos específicos que muitas vezes são inibidores do crescimento de outros microrganismos, aparecendo desta maneira como uma

alternativa aos tratamentos biológicos e físico-químicos convencionais (FACÓ, 2002).

Entre as muitas espécies fúngicas aplicadas em estudos envolvendo tratamento biológico de águas residuárias, o fungo filamentoso *Aspergillus niger* também vem se mostrando capaz de sobreviver e crescer em meios líquidos na presença de compostos de difícil degradação e obter bons resultados de remoção de matéria orgânica e compostos recalcitrantes, caracterizando-se, assim, como um microrganismo de elevado potencial para o tratamento biológico de águas residuárias industriais (FELIX, 2005).

Se os taninos são parte do sistema de defesa vegetal contra os microrganismos, a produção de tanase pode ser considerada como parte do contra-ataque microbiano. Tal ataque inclui estratégias como a secreção de substâncias com elevada afinidade por taninos, a produção de enzimas resistentes aos taninos, a produção de polifenoloxidasas (enzimas capazes de quebrar os anéis fenólicos das proantocianidinas) e a produção de sideróforos (SCALBERT, 1991).

#### **3.4.4. Digestão aeróbia fúngica**

Nos processos biológicos aeróbios o material orgânico é mineralizado pelo oxidante a produtos inorgânicos principalmente dióxido de carbono e água. Além disso, são sintetizados novos materiais celulares, os quais são facilmente removidos nas operações físicas de tratamento, ficando a água residuária livre de grande parte da matéria orgânica original (KAPDAN, 2000).

Segundo Griffin (1994), a obtenção de energia pelos fungos pode ocorrer por meio de via oxidativa (respiração) ou por fermentação. Na respiração, o oxigênio é o principal oxidante, contudo, sob condições de baixas concentrações de oxigênio, algumas espécies podem fazer uso de nitrato como aceptor de elétrons. O processo de respiração resulta na conversão completa de compostos orgânicos a dióxido de carbono e água, com energia gerada por fosforilação oxidativa. Os organismos capazes de obter energia por ambas as vias (respiração e fermentação), conseguem crescer sob condições aeróbias e anaeróbias.

Os fungos filamentosos produzem enzimas como lípases, invertases, lactases, proteinases, amilases que hidrolisam o substrato tornando-o assimilável através de mecanismos de transporte ativo e passivo. Alguns substratos podem

induzir a formação de enzimas degradativas; há fungos que hidrolisam substâncias orgânicas, como quitina, osso, couro, inclusive materiais plásticos (PITARCH et al., 2002)

Os processos de auto-replicação celular (ciclo celular) de leveduras ocorrem através da retirada de matéria prima (nutrientes) e energia do ambiente com devolução de produtos de excreção ao mesmo. Estes processos envolvem variadas reações bioquímicas que ocorrem em cadeia, ao mesmo tempo, e de forma extremamente organizadas e reguladas (ARAÚJO et al., 2001).

Bellaver et al. (2004) explicaram que existem diferenças quanto aos produtos do metabolismo celular de leveduras em condições de respiração e de fermentação. Ao crescer em condições aeróbias a levedura retira energia das ligações químicas da fonte de carbono. Por exemplo, a glicose de seis carbonos é quebrada, inicialmente, em duas moléculas de 3 carbonos (alcoóis aldeídicos e cetônicos) que são convertidos a duas moléculas de ácido pirúvico.

Essa sequência de transformações químicas constitui a via metabólica chamada glicólise. O ácido pirúvico é completamente oxidado nas mitocôndrias pelo Ciclo de Krebs liberando CO<sub>2</sub> enquanto a cadeia respiratória gera água ao oxidar NADH, que é uma estrutura que capta energia com geração de composto contendo alta energia (ATP). Esta energia é utilizada para converter compostos intermediários da degradação metabólica em novas células. O consumo de oxigênio ocorre nas mitocôndrias (YAMAGUCHI, 2003).

A diferença básica nos produtos do metabolismo celular da levedura em processos fermentativos, em relação ao metabolismo aeróbio, consiste que o ácido pirúvico formado em vez de ser oxidado pelas mitocôndrias, é convertido principalmente em citosol e, em seguida a etanol, glicerol, CO<sub>2</sub> e ácido succínico. Eventualmente, desde que estejam estabelecidas condições favoráveis para produção de biomassa, leveduras apresentam capacidade de produzir etanol mesmo em condições aeróbias (BELLAVÉR et al., 2004).

#### **3.4.5. *Aspergillus niger* para tratamento de águas residuárias**

Os fungos do gênero *Aspergillus*, particularmente a espécie *Aspergillus niger*, apresentam elevada capacidade para o tratamento de águas residuárias com compostos fenólicos e são utilizados como inóculo de reatores devido à sua

capacidade de produzir enzimas, como fenol hidroxilase (BORJA et al., 1995; PENA MIRANDA et al., 1996).

O *Aspergillus niger* é uma espécie de fungo filamentososo que tem eficiência comprovada na degradação de compostos recalcitrantes, e remoção de DQO, presentes em vários efluentes industriais (MIRANDA et al., 1996; VASSILEV et al., 1997; GARCÍA et al., 2000; RODRIGUES, 1999; SAMPAIO et al., 2004; FELIX, 2005; SANTOS et al., 2006).

Além disso, o *Aspergillus niger* é sintetizador eficiente de tanase, que é uma enzima capaz de fragmentar taninos hidrolisáveis (presentes no LCCV) e, ainda, capaz de utilizar taninos condensáveis (também presentes no LCCV) como principal fonte de carbono (BRADDOO, GUPTA & SAXENA, 1996; BAJPAI & PALTI, 1996; PINTO et al., 2001; YAMADA et al., 1968; HOPPER & MAHADEVAN, 1997).

Molla et al. (2002) realizaram estudo para identificar espécies fúngicas com potencial para degradar lodo de estação de tratamento de água residuária doméstica. Inicialmente, foram identificadas em diferentes tipos de resíduos líquidos 33 espécies fúngicas pertencentes a cinco gêneros: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Myriodontium* e *Pleurotus*. Do gênero *Aspergillus*, 8 espécies foram estudadas, sendo a espécie *Aspergillus niger* a que apresentou melhor potencial de adaptação, produzindo elevada quantidade de biomassa quando colocada para crescer no meio com lodo.

Vassilev et al. (1997) obtiveram bons resultados de remoção de fenóis presentes em água residuária de indústria de produção de óleo de oliva aplicando o fungo *Aspergillus niger* em meio enriquecido com nutrientes. Na ocasião, foram realizados ensaios de degradação em regime de bateladas seqüenciais, que ocorreram em erlenmeyer de 250 mL, contendo 100 mL da água residuária inoculada com *Aspergillus niger*, imobilizada em cubos de espuma de poliuretano.

#### **3.4.6. Leveduras para tratamento de águas residuárias**

Godjevargova et al. (2003) estudaram o tratamento de água residuária de indústria química produtora de fenol aplicando leveduras da espécie *Trichosporon cutaneum* em meio disperso e imobilizada em grânulos de poliamida. Os ensaios de degradação foram realizados durante um período de 24 h, ocorrendo os melhores

resultados de remoção dos contaminantes fenol + dimetil fenil carbonil, ácido benzênico e acetona, com o emprego do *Trichosporon cutaneum* imobilizado.

Sousa et al. (2005) avaliaram o tratamento de efluentes de refinarias de petróleo em reatores aeróbios de leito fixo inoculados com *Candida* sp. Três reatores foram operados, em escala de laboratório, com TDH de 12 e 8 horas. Foram testados três meios suportes diferentes: manta agulhada de poliamida, espuma de poliuretano e tiras lixadas de garrafas PET. Os melhores resultados foram obtidos quando os reatores foram operados com TDH de 12h, sendo as remoções de 82, 67 e 77% para DQO e 95, 88 e 88% de fenóis para os reatores R1, R2 e R3, respectivamente. Os autores mencionaram que as leveduras utilizadas foram hábeis para tratar a água residuária em questão e que o melhor meio suporte foi a manta agulhada de poliamida.

Chen et al. (2002) aplicaram um reator aeróbio com biomassa imobilizada inoculado com *Candida tropicalis* para tratamento de efluente sintético contendo concentrações de fenóis variando de 1,0 a 5,0 g/L. O reator era operado com TDH de 15h. Quando o afluente era composto por 5,0g de fenóis/L foi observada, após dez dias de operação, remoção de 95% de fenóis.

Isidori et al. (2004) avaliaram o desempenho de reatores biológicos aeróbios inoculados com culturas mistas de leveduras para tratamento do efluente de uma indústria de azeite de oliva. Foram analisadas, além da variação de DQO e fenóis totais, a redução de toxicidade ao rotífero *Brachionus calyciflorus* e *Daphnia magna* (crustáceo). As máximas remoções foram de 85 e 67% para DQO e fenóis totais, respectivamente. Os autores observaram ainda redução da toxicidade em 43% para o rotífero e de 83% para o crustáceo.

De acordo com Zheng et al. (2001), estudos envolvendo tratamento de águas residuárias empregando leveduras têm sido muito limitados se comparados com os que abrangem processos biológicos convencionais.

### **3.4.7. Desempenho de sistemas de tratamento utilizando-se fungos**

Uma aplicação dos fungos é em estudos envolvendo o tratamento de águas residuárias de indústrias têxteis. Nos processos de produção das indústrias têxteis são utilizados variados corantes sintéticos e, de acordo com Kapdan et al. (2000), parte do corante está presente no efluente final gerado, com elevada

coloração e, representando grande risco para o meio ambiente, pois geralmente corantes sintéticos apresentam estruturas com anéis aromáticos de elevado peso molecular.

Em estudo realizado por Assadi & Jahangiri (2001), o fungo *Aspergillus niger* foi aplicado para remover compostos formadores de cor presentes em água residuária de indústria têxtil, obtendo 97% de remoção de cor, com adição de glicose ao afluente.

Outra variedade de água residuária altamente poluente para a qual se tem obtido bons resultados para o tratamento com fungos é a vinhaça. A vinhaça é produzida a partir da destilação do álcool para a fabricação de etanol e, segundo os pesquisadores (GARCÍA GARCÍA et al., 1997; FITZGIBBON et al., 1998; JIMÉNEZ et al., 2003) este tipo de água residuária é caracterizada por ser um líquido com elevada coloração, odor, concentração de matéria orgânica (DQO entre 10 e 80 g/L) e compostos recalcitrantes, como os fenóis, possuindo caráter fortemente ácido (pH próximo a 3,5).

García García et al. (1997) e Jiménez et al. (2003) estudaram o tratamento da vinhaça aplicando tratamento aeróbio com fungos e leveduras. Variadas espécies fúngicas foram utilizadas, sendo que as melhores remoções, de fenóis totais, foram verificadas para *Penicillium decumbens* (74%) e *Aspergillus niger* (70%).

Santos & Linardi (2004) identificaram e estudaram o potencial de degradação de fenóis totais por espécies fúngicas presentes em águas residuárias de indústria de fabricação de aço. Segundo esses autores, esse tipo de efluente pode conter concentrações de fenóis variando de 5 a 326 mg/L. Os resultados, utilizando-se gêneros de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Graphium*, como inóculo dos reatores, apresentaram remoções médias de 80% de fenóis totais, para todas as espécies.

Mielgo et al. (2002) aplicaram a espécie fúngica *Coriolus versicolor* para remoção do corante polimérico Poly R-478, imobilizada em reator de leito fixo, em escala de bancada, com volume útil de 167 mL e utilizaram espuma de poliuretano como meio suporte. O reator foi operado com adição de 0,25 g de glicose/L ao afluente, amônia em 0,60 mg/L e TDH de 24h. Ao final da pesquisa, foram observados valores de remoção de cor próximos a 80% e verificou-se degradação significativa de grupos de compostos aromáticos.

Guimarães et al. (2005) utilizaram biodiscos para tratamento de água residuária de refinaria de açúcar. Esse tipo de água residuária é muito semelhante à vinhaça, possui elevada carga orgânica, coloração e presença de compostos fenólicos. Na pesquisa foi aplicada a espécie fúngica *Phanerochaete chrysosporium*. Ao final do experimento, as médias de remoção de cor, fenóis totais e DQO observadas foram de 55, 63 e 48%, respectivamente.

#### **3.4.8. Sistemas biológicos com fungos tratando águas residuárias contendo taninos**

No trabalho apresentado por Hopper & Mahadevan (1997), os autores asseguram que alguns microrganismos, como *B. Japonicum*, utilizam catequina, um tipo de tanino condensável, como única fonte de carbono. Outra afirmação relevante dos autores, que colabora para aplicação de fungos no tratamento do LCCV, é que microrganismos do gênero *Aspergillus spp.* ; *Streptomyces sp.* ; *Fusarium sp.* e *Pseudomonas spp.* também são capazes de utilizar a catequina como única fonte de carbono.

O potencial de se empregar fungos para o tratamento de substâncias persistentes, como os taninos, está relacionado à produção de grande número de enzimas extracelulares (tanases, proteases, celulasas, ligninases, lactases, entre outras), cujas ações tornam os organopoluentes mais acessíveis à biodegradação.

Segundo Bhat (1998), em 1913, Knudson foi o primeiro a reportar que ácido tânico poderia ser degradado por *Aspergillus niger*. Posteriormente, outros fungos filamentosos, especialmente gêneros de *Penicillium* e *Aspergillus* têm sido utilizados na degradação de taninos. Na realidade, a maioria das espécies fúngicas usadas na biodegradação de efluentes contendo taninos pertence aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Porém, outros fungos e leveduras, incluindo *Chaetomium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Cylindrocarpon* e *Trichoderma*, também são capazes de tratar estes efluentes.

Hamdi & Garcia (1993) afirmaram que a utilização de reatores com fungos, utilizando *Aspergillus niger* como inóculo, é uma boa alternativa para diminuição da toxicidade de efluentes contendo taninos.

Podem ser citados alguns trabalhos que tratam da degradação de taninos utilizando leveduras. Bhat (1998) cita em sua revisão bibliográfica os seguintes

autores: Aoki et al. (1976) que utilizaram *Candida* para degradar galotaninos; Otuk & Deschamps (1983) e Vennat et al. (1986) que utilizaram *Candida*, *C. tropicalis* e *Torulopsis candida* para degradar taninos condensáveis (tanino de acácia).

Resultados significativos vêm sendo alcançados com a aplicação de fungos para o tratamento de efluente líquido de indústrias produtoras de óleo de oliva. De acordo com D'Annibale et al. (1998), a água residuária da produção de óleo de oliva é caracterizada por ser altamente poluente ao meio ambiente por causa da sua elevada carga orgânica e coloração negra.

Além disso, estes efluentes são potencialmente tóxicos aos microrganismos presentes em sistemas convencionais de tratamentos biológicos, visto que também é elevada a presença de taninos condensáveis, hidrolisáveis e polifenóis (GUIMARÃES et al., 2005).

As pesquisas realizadas por D'Annibale et al. (1998); García et al. (2000); Dias et al. (2004); Fountoulakis et al. (2002); Santos & Linardi (2004); Vassilev et al. (1997) demonstraram a capacidade de remoção de fenóis, pelos fungos e leveduras, no tratamento de águas residuárias da indústria de produção de óleo de oliva. Apesar dos autores não apresentarem resultados da remoção de taninos, que estão presentes na água residuária, os resultados, possivelmente, corroboram a teoria que a atividade de alguns fungos e leveduras não é inibida pela presença de taninos.

Hopper & Mahadevan (1997) realizaram estudo para verificação da degradação de catequina (tanino condensado) por *Bradyrhizobium japonicum*, utilizando cromatografia líquida de alta performance para analisar a catequina e suas formas intermediárias. Durante o catabolismo da catequina foram sintetizados variados compostos fenólicos, comprovados por meio de análise infravermelha e ressonância magnética nuclear. As formações destes compostos oriundos da catequina foram igualmente observadas quando estudados *Aspergillus flavus* (YAMADA et al., 1968). A oxidação de catequina foi realizada com sucesso, mesmo nas células que cresceram no ambiente com presença do tanino.

Um estudo, demonstrando a capacidade de tratamento de efluentes industriais utilizando-se *Aspergillus niger* foi o desenvolvido por Kyriacou et al. (2005) para o tratamento da água residuária de indústria de processamento de azeitonas. Segundo os autores da pesquisa, esse tipo de água residuária é bem semelhante à água residuária de indústrias de produção de óleo de oliva,



apresentando elevada coloração, DQO e presença de diversas formas de fenóis e taninos.

A espécie *Aspergillus niger*, utilizada na pesquisa, foi isolada da própria água residuária a ser tratada. Durante a pesquisa a concentração de matéria orgânica, da água residuária, variou entre 8.000 e 35.000mg DQO/L. Em relação aos compostos fenólicos e ácidos orgânicos, altos níveis de remoção também foram observados, havendo degradação completa de 10 entre 15 tipos de fenóis simples e ácidos orgânicos identificados na água residuária bruta.

Como última etapa da pesquisa realizada por Kyriacou et al. (2005), foi operado um reator, em escala piloto, com capacidade de 9m<sup>3</sup> e, alimentado, em regime de bateladas seqüenciais de 3 dias durante 7 dias. A partir do terceiro dia de operação os microrganismos atingiram estabilidade e mantiveram valores elevados de remoção de DQO, próximos a 70%, mostrando a viabilidade em termos de tratamento da água residuária de indústria de processamento de azeitonas aplicando o fungo *Aspergillus niger* e, ainda, que ensaios em escala de laboratório são bons indicativos para o desenvolvimento de escala piloto.

Os efluentes de curtumes apresentam compostos de difícil degradação, como os taninos (catequina, ácido gálico, galotaninos), que dificultam a aplicação de tratamento biológico. A ação inibitória (tóxica) dos taninos aos microrganismos deve-se principalmente à capacidade que possuem de precipitar proteínas de forma irreversível. As enzimas produzidas são prontamente precipitadas impedindo que a célula prepare o substrato para ser consumido. Tanto as estruturas complexas (elevado peso molecular) dos taninos, quanto a adsorção de taninos, na parede celular, dificultam a degradação pelos microrganismos, os quais são elementos que comprometem a sobrevivência da célula e, possivelmente, são conseqüências da precipitação das proteínas (BHAT et al. 1998).

DI Iaconi et al. (2002) afirmaram que sistemas convencionais de tratamento de efluente de curtume consomem muitos reagentes químicos e produzem lodo químico em excesso. Sendo assim, os autores propuseram a combinação de tratamento biológico, através de reatores seqüenciais de leito fixo em batelada (SBBR), juntamente com oxidação por ozônio, para tratamento de águas residuárias de curtume. O sistema (SBBR-ozonização) alcançou remoção de 97% de DQO.

Nagarathnamma et al. (1999) apresentaram em seu trabalho que os métodos convencionais de branqueamento do papel utilizam compostos clorados gerando efluentes com elevados níveis de cor, e toxicidade devida à presença de lignina. Além disso, apresentam elevados níveis de DQO. Muitos métodos biológicos foram testados para o tratamento deste efluente. Os fungos da podridão branca, que degradam madeira, mostraram grande potencial para tratar tal efluente. O sistema enzimático destes fungos inclui grupo de enzimas extracelulares que catalisam tanto a degradação da lignina quanto muitos compostos aromáticos persistentes e, compostos halogenados como benzenos, DDT, combustíveis pesados, dentre outros. O maior problema de se utilizar tais fungos em escala real é a necessidade de se adicionar substrato de fácil degradação como glicose (facilitador do crescimento fúngico e da atividade enzimática), o que encarece consideravelmente o tratamento. A aplicação de *Rhizopus oryzae* demonstrou elevada capacidade de remoção de cor, compostos clorados, lignina e DQO do efluente do processo de branqueamento do papel, aplicando-se baixos níveis (<1mg/L) de substrato de fácil degradação (glicose). Mesmo sem a adição de glicose ocorreu remoção de 78% de cor.

### **3.5. CO-METABOLISMO**

Segundo Teixeira (2007), o LCCV é um efluente rico em teores de açúcares (principalmente glicose) e taninos totais. Portanto, nesta revisão abordou-se o papel da glicose como doadora de elétrons durante o metabolismo anaeróbio, bem como sua possível atuação durante o co-metabolismo de compostos de difícil degradação, como os taninos, em ambientes anaeróbios. Assim, considerando que taninos têm estrutura semelhante às quinonas, estes podem atuar como aceleradores do metabolismo. Apresenta-se a seguir uma breve revisão sobre este assunto.

#### **3.5.1. Glicose**

Durante a última década, diversos efluentes orgânicos têm sido utilizados como co-substratos em sistemas de digestão anaeróbia de efluentes agroindustriais, sendo estes co-substratos digeridos em combinação com o substrato predominante.

As quantidades adicionadas variam de acordo com o sistema, e podem situar-se entre 20 e 50% do volume de efluentes introduzido no reator (LAFITTE-TROUQUE & FORSTER, 2000)

Muitas vezes, a adição de co-substratos é uma das soluções tecnicamente mais adequadas para o tratamento anaeróbio de efluentes tóxicos.

Rzo-Flores et al. (1997) estudaram a completa degradação do azo corante azodisalicilato, através de ensaios anaeróbios em batelada utilizando consórcios metanogênicos imobilizados em grânulos de lodo. Os corantes azo podem ser facilmente reduzidos a aminas aromáticas em condições anaeróbias. No entanto, este processo requer a presença de quantidades equivalentes de agentes redutores, capazes de proporcionar os elétrons necessários para que o processo aconteça. Foi investigada também a influência de dois co-substratos (mistura acetato, propionato, butirato e glicose). Ambos co-substratos apresentaram-se adequados no entanto, a utilização de glicose permitiu o uso de maiores cargas do corante e remoções superiores a 99% para períodos de 41 a 136 dias.

Dos Santos (2005) investigou o efeito de diferentes co-substratos na remoção de cor de corantes azo pelo uso de lodo granular anaeróbio sob condições mesofílicas (30°C) e termofílicas (55°C). Adicionalmente, foram estudadas em ambas temperaturas, o efeito de diferentes doadores de elétrons nos processos de descoloração. Hidrogênio se mostrou extremamente efetivo como doador de elétrons para o processo de descoloração redutiva de azo corantes quando comparado com glicose, formiato e acetato. O autor afirmou que o acetato, apesar de ser um bom substrato para metanogênese, se mostrou um pobre doador de elétrons para a redução do corante RR2, quando comparado aos resultados de redução do corante RR2 utilizando glicose como substrato.

### **3.5.2. Quinonas**

Biocatalizadores são enzimas, proteínas ou células vivas que catalizam reações químicas nos microrganismos. São chamados de biocatalizadores pois estão no interior das células e produzem reações biológicas que aumentam o metabolismo dos microrganismos (PARALES & HADDOCK, 2004).

Segundo Field et al. (2000), os taninos condensados são estruturas aromáticas ricas em quinonas as quais podem elevar, sob condições anaeróbias, a taxa de degradação da matéria orgânica, agindo principalmente de três formas:

- 1) Como acceptor de elétrons;
- 2) Mediador redox em processos de redução;
- 3) Doador de elétrons para microrganismos.

Quinonas são comumente encontradas em águas residuárias da agroindústria, indústrias químicas e efluentes de destilarias. As quinonas atuam, como mediadores redox, transferindo elétrons do metabolismo anaeróbio de substratos para redução de diferentes compostos tóxicos, como os corantes azo, nitroaromáticos, poli-halogenados e compostos radioativos (CERVANTES et al., 2003).

De acordo com Cervantes et al. (2003), a capacidade redutora da quinona pode ser importante no tratamento de efluentes ricos em substâncias húmicas. Como o acetato é um importante intermediador na digestão anaeróbia, microrganismos redutores de quinona e oxidantes de acetato podem significativamente contribuir para a metabolização dos substratos em sistemas anaeróbios de tratamento.

Cervantes et al. (2004) afirmaram que em reatores tipo UASB, o efeito maximizador das quinonas, na metabolização de substratos, é ainda mais vantajoso visto que a elevada concentração de biomassa e conseqüente variedade do consórcio de microrganismos, aumenta a ocorrência de microrganismos com afinidade às quinonas.

Nos experimentos desenvolvidos por Lovley et al. (1999), os autores verificaram que a adição de AHQDS (antrahidroquinona disulfonada), uma forma de quinona reduzida, nas culturas de microrganismos anaeróbios elevava a oxidação de acetato a CO<sub>2</sub>, demonstrando que quinonas, na forma reduzida, podem funcionar como doadores de elétrons aos microrganismos anaeróbios.

No trabalho de Cervantes et al. (2003), foram operados dois reatores UASB, sendo um controle operado com substrato composto de acetato, propionato e butirato, e outro operado com a mesma composição de substrato, adicionado de uma solução de AQDS (antraquinona – 2,6 – disulfonada). Ao longo de 11 meses de operação foram realizados variados ensaios de AME. Os autores verificaram, no

reator controle, valores de AME superiores às obtidas no reator operado com AQDS quando os ensaios eram realizados tendo apenas acetato como substrato, mantendo-se a concentração de 1g DQO/L nas garrafas, adicionados de meio basal com macro e micronutrientes.

Os autores explicaram que o menor valor da AME obtido no lodo do reator com AQDS foi resultado da rápida preferência e adaptação deste lodo para a utilização da quinona como doadora de elétron durante o metabolismo. Porém, o lodo do reator em que foi adicionado AQDS apresentou enriquecimento de biomassa superior ao controle e, através de ensaios em batelada os resultados de remoção de DQO no reator suplementado com AQDS foram superiores aos verificados para o reator controle.

No entanto, os autores (CERVANTES et al., 2003) apresentaram uma conclusão importante. As quinonas adicionadas continuamente durante a partida e operação de reatores anaeróbios desempenham o papel de receptoras finais de elétrons, elevando a capacidade de remoção de substratos orgânicos de difícil degradação, como os fenóis.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Para realização desta pesquisa utilizou-se um reator anaeróbio tipo UASB e um reator biológico com fungos (RBF) seguido de decantador, operados independentemente. Os sistemas foram operados no Laboratório de Gestão Ambiental localizado na Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE.

### 4.1. ORIGEM E PRODUÇÃO DA ÁGUA RESIDUÁRIA (LCCV)

O LCCV era produzido na sede da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, utilizando-se uma unidade piloto de processamento da casca do coco verde anão. O coco, após o consumo da água, era triturado e prensado. Da prensagem era produzido o LCCV, que era peneirado e coletado em reservatórios de 20L. Em seguida o LCCV ficava em repouso por cerca de 15 minutos para sedimentação de sólidos e flotação de espuma. A fase intermediária do LCCV era coletada através de um sifão. Em seguida, o LCCV era armazenado em geladeira a uma temperatura de aproximadamente 5°C. Na Figura 4 pode ser visualizada a máquina que triturava e a que prensava a casca de coco verde triturada para retirada do excesso de líquido, gerando o LCCV.



FIGURA 4 – Máquina de trituração (à esquerda) e prensagem (à direita) da casca do coco verde onde era produzido o LCCV.

## 4.2. REATOR ANAERÓBIO DE FLUXO ASCENDENTE E LEITO DE LODO

### 4.2.1. Reator UASB - Equipamentos

Esta pesquisa utilizou um reator UASB em escala de laboratório, que vinha sendo operado há aproximadamente um ano.

Este reator foi confeccionado em tubos e conexões em PVC para esgoto ( $\phi = 100\text{mm}$ ), com altura total de 1,95m e volume útil de 16,80L. Para dimensionamento do reator, foram adotados os parâmetros: concentração afluente de 78,0Kg DQO/m<sup>3</sup>; COV de 10Kg DQO/m<sup>3</sup>.dia; velocidade ascendente de 0,6m/h. Isto resultou em uma vazão afluente de 0,083L/h e vazão de recirculação de 4,63L/h, segundo metodologia apresentada por van Haandel & Lettinga (1994) e Cherchinaro (1997).

O reator UASB em escala de laboratório foi concebido em forma de Y, que configurava o separador de fases, uma modificação apresentada por Cavalcanti (2003).

Foram instaladas sete torneiras ao longo do corpo principal do reator (sendo uma a cada 15cm para amostragem do lodo). Além disto, foram instaladas três torneiras na região inferior do reator, sendo uma para entrada do afluente, a segunda para coleta de lodo e a terceira funcionava como reserva, caso ocorresse entupimento nas outras. Na extensão do Y, foi instalada uma outra torneira para recirculação do efluente, localizada a 15cm da derivação do tubo.

Para evitar formação de “curtos-circuitos” no fluxo ascendente do reator, foi instalado um homogeneizador rotativo lento (1rpm) (GONÇALVES et al., 1994; BENINCASA et al., 1991).

Uma garrafa de alimentação foi utilizada como uma ferramenta para otimizar o controle e verificações das vazões do afluente e da recirculação. A garrafa estava localizada a 10cm acima da saída do efluente tratado.

Inicialmente, o afluente era acondicionado em reservatório de 50L, à temperatura ambiente, e recalado através de bomba de diafragma LMI Milton Roy modelo P133-398TI para a garrafa de alimentação. A partir do 180º dia de operação o afluente foi conservado em geladeira a 5°C.

Foi utilizado um gasômetro produzido pela Ritter, modelo MGC-1 (faixa de vazão mínima de 1,0mL/dia e máxima de 1,2L/h) para medições do volume de biogás produzido.

Nas Figuras 5 e 6 são mostrados o esquema simplificado de funcionamento do reator UASB e uma fotografia do UASB montado.

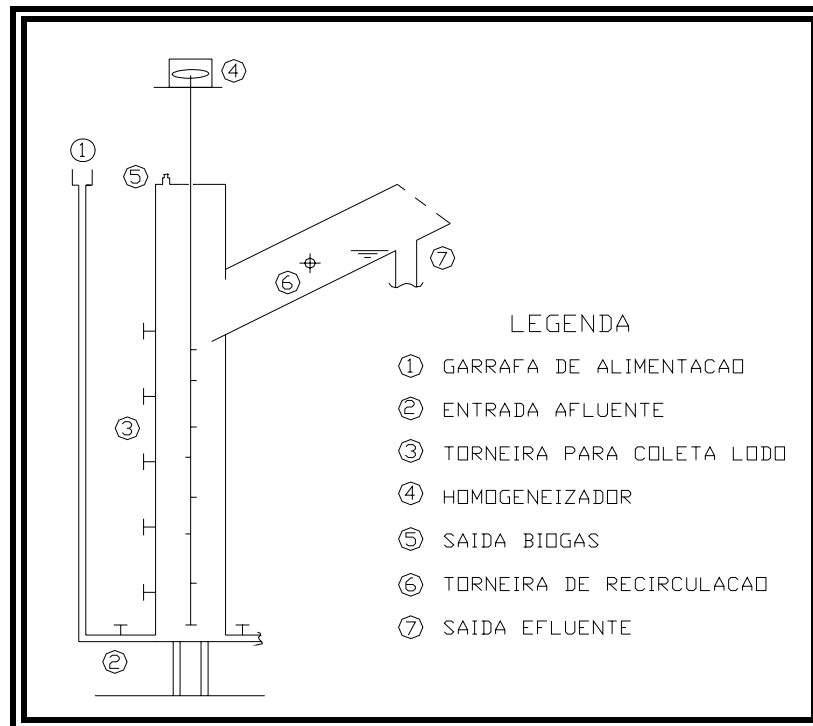


FIGURA 5 – Esquema simplificado de funcionamento do UASB.



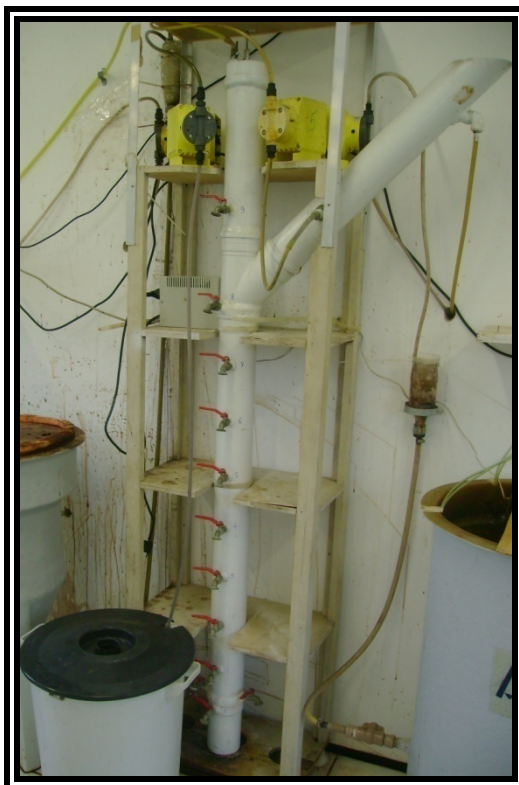


FIGURA 6 – Reator UASB montado no laboratório de Gestão Ambiental e utilizado na pesquisa.

#### 4.2.2. Teste de atividade metanogênica específica (AME)

Este teste ainda está em fase de padronização, assim cada grupo de pesquisa usa a metodologia mais apropriada para o seu trabalho (POERSCH & KOETZ, 1998). Jawed & Tare (1999) citam diversos métodos que estão sendo propostos para determinar a atividade metanogênica específica. A metodologia de AME, utilizada nesta pesquisa, foi a descrita por Leitão (2004). Os testes tinham duração de 5 a 15 dias, com aplicação de duas cargas subseqüentes de ácidos graxos voláteis (AGV) na forma de acetato de sódio e propionato de sódio (proporção 1:1 em DQO); bicarbonato de sódio; macro e micro nutrientes conforme Tabelas 1 e 2. A segunda carga era aplicada após conversão de pelo menos 75% do substrato da 1ª carga em metano. Para análises dos resultados foram considerados apenas os valores da AME obtidos após aplicação da segunda carga. Todos os ensaios foram realizados em duplicata. Testes similares foram realizados com a utilização de glicose (2,5g/L) na segunda carga.

TABELA 1 – Macronutrientes utilizados durante a pesquisa.

Nutriente	Concentração (g/L)
NH <sub>4</sub> Cl	0,28
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,25
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,10
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,01

TABELA 2 – Solução de elementos-traço utilizada durante a pesquisa.

Substância	Concentração (mg/L)
FeCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	20,00
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,50
ZnCl <sub>2</sub>	0,50
CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,38
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	5,00
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,50
AlCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,90
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	20,00

Os principais procedimentos seguidos, para realização da AME, foram:

- 1) No princípio eram descartados 20mL do lodo, para evitar a coleta de lodo retido nas torneiras. Após o descarte, eram retiradas amostras de cada torneira ao longo do reator UASB, de cima para baixo, partindo-se da torneira localizada abaixo do separador de fases sólido-líquido-gás;
- 2) Em cada reator era adicionado AGV suficiente para atingir uma concentração inicial de 2,5g DQO/L;
- 3) Os reatores eram tamponados à concentração de 0,5g NaHCO<sub>3</sub>/L.
- 4) As medições eram realizadas a cada 24h;
- 5) O reator era conectado à garrafa Mariotte utilizando-se agulhas acopladas a mangueiras.

- 6) Na saída da garrafa de Mariotte era colocado um béquer para coleta da solução alcalina expulsa dos frascos. O volume de metano produzido era calculado por gravimetria.

Nas Figuras 7 e 8 são mostrados o esquema de funcionamento da AME e uma fotografia dos reatores utilizados no ensaio.

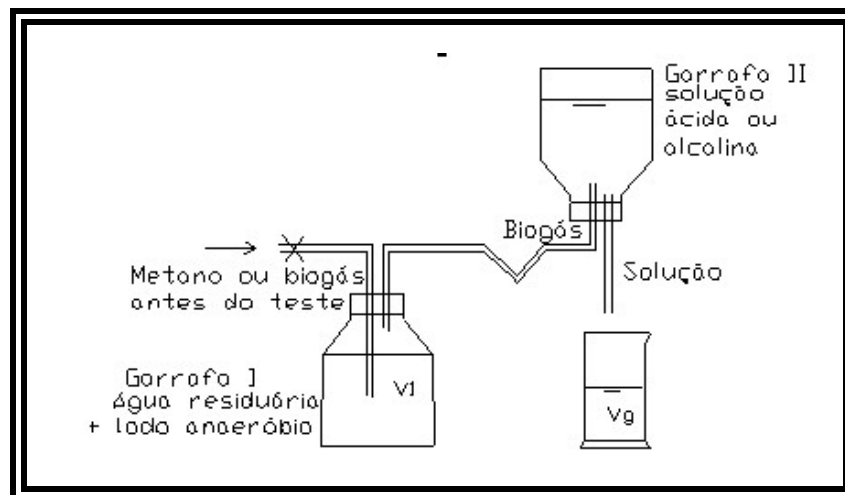


FIGURA 7 – Esquema utilizado para realização dos testes de AME e toxicidade metanogênica. Fonte: van Haandel & Lettinga (1994).



FIGURA 8 – Reatores utilizados para realização dos testes de AME.

### 4.2.3. Teste de toxicidade metanogênica

A determinação da toxicidade anaeróbia foi feita a partir do teste de Atividade Metanogênica Específica descrito em Leitão (2004), modificando-se apenas o substrato utilizado. Para o teste de toxicidade, variou-se a concentração do tóxico (LCCV) em substituição aos ácidos graxos voláteis (AGV), em termos de DQO. No teste, mede-se a produção de metano a partir do substrato (AGV com ou sem tóxico) quando este é colocado em contato com uma batelada de lodo anaeróbio sob condições previamente escolhidas e estáveis (van HAANDEL & LETTINGA, 1994).

Os testes foram realizados em duplicata e tinham duração de 5 a 15 dias, com aplicação de 2 cargas subseqüentes de substrato. Na primeira carga, em todos os reatores, o substrato era composto de acetato e propionato de sódio (proporção 1:1 em DQO). A segunda carga era aplicada após conversão de pelo menos 75% do substrato em metano, utilizando-se diferentes proporções de LCCV (0, 25, 50, 75 e 100%), sendo complementada com AGV até que se atingisse DQO de 2,5 g/L. Da mesma maneira que nos teste de AME, para análises dos resultados foram considerados apenas os valores obtidos após aplicação da segunda carga.

O LCCV utilizado foi autoclavado por 20 minutos a 111°C, 0,5 atm, objetivando-se o extermínio das leveduras nativas do LCCV, visto que estas produzem em condições facultativas ou anaeróbias dióxido de carbono, além de outros gases (TEIXEIRA, 2007) que possivelmente poderiam mascarar o teste.

Amostras do biogás dos reatores 100% LCCV foram analisadas no Laboratório de Combustíveis e Lubrificantes (LCL) do Departamento de Engenharia Química da UFC em um cromatógrafo portátil Varian, modelo CP 4900.

Com vistas à comprovação da eliminação das leveduras, foram realizadas análises microbiológicas de uma amostra de LCCV *in natura*, e de uma alíquota autoclavada, sob as mesmas condições do teste de toxicidade. A contagem das leveduras foi realizada no Laboratório de Bioprocessos da Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza-CE), e seguiu a metodologia descrita por Silva & Amstalden (1997).

#### 4.2.4. Estabilidade e biodegradabilidade anaeróbia do lodo

Para realização do ensaio de estabilidade e biodegradabilidade anaeróbia do lodo presente no reator UASB foram utilizados os mesmos reatores da AME. O ensaio durou 30d com adição de 150mL de lodo e 250mL de água destilada em cada reator. O lodo utilizado foi retirado do reator no 156º dia de operação. Conforme metodologia descrita por Leitão (2005), não foram adicionados substratos, nutrientes e bicarbonato aos reatores sendo o ensaio realizado através do monitoramento do volume de biogás produzido durante processos de degradação dos substratos orgânicos presentes no lodo. Os ensaios foram realizados em duplicata a uma temperatura de 28 °C.

A biodegradabilidade anaeróbia do lodo foi calculada segundo a Equação 1 (LEITÃO, 2004).

$$\text{Bio} = ( \text{DQO}^{30}_{\text{CH}_4} / \text{DQO}^0_{\text{X}} ) \times 100 \quad \text{Eq.1}$$

Em que: “Bio” é biodegradabilidade da amostra (%),  $\text{DQO}^{30}_{\text{CH}_4}$  é o volume total de metano produzido aos 30 dias em termos de DQO (g), e  $\text{DQO}^0_{\text{X}}$  é a massa inicial de lodo adicionada a cada reator.  $\text{DQO}^{30}_{\text{CH}_4}$  foi calculada baseada na lei de Henry.  $\text{DQO}^0_{\text{X}}$  foi calculada em função da concentração de sólidos totais voláteis (STV) do lodo e considerando que 1g de STV equivale a 1,5g de DQO.

Para linearização da produção de metano e definição da estabilidade do lodo foi seguida a metodologia descrita por Mgana (2003).

#### 4.2.5. Operação do reator UASB

Antes do início desta pesquisa, o reator UASB em escala de laboratório vinha sendo operado com COV de 2,2 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, TDH de 16h e afluente sintético contendo 1,6g/L de sacarose, macronutrientes (Tabela 1), micronutrientes (Tabela 2) e 1,5g/L de bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>), conforme Chaggu (2004). Anteriormente a esta pesquisa, o reator em escala de laboratório foi inoculado com lodo proveniente de um outro reator UASB em escala real que operava em estado estacionário tratando efluentes da cervejaria Kaiser localizada no município de Pacatuba-Ce.

Durante esta pesquisa o reator UASB foi operado durante 222 dias. Nos 31 dias iniciais foram mantidas as condições anteriores a pesquisa, e a partir do 32º dia de operação iniciou-se a substituição da sacarose por LCCV. Depois, a COV foi elevada através do aumento da concentração de LCCV e concomitante redução da vazão conforme as Etapas descritas na Tabela 3.

Até o 184º dia de operação, o LCCV utilizado era autoclavado por 20 minutos a 111°C, 0,5atm, para evitar a influência das leveduras no processo de digestão anaeróbia. A partir do 185º dia de operação foi utilizado LCCV bruto para alimentação do reator, simulando a operação em um reator em escala real. Até o 134º dia de operação eram adicionados nutrientes ao afluente, conforme descrito nas Tabelas 1 e 2.

A partir da Etapa IV iniciou-se a substituição do bicarbonato de sódio por cal virgem visto que seria inviável economicamente a operação de reatores UASB em escala real para tratamento do LCCV utilizando-se bicarbonato de sódio como alcalinizante.

TABELA 3 – Etapas da operação do UASB: substratos, volume de LCCV, água e alcalinizantes utilizadas no afluente e concentrações de DQO, COV, vazão do afluente e TDH aplicados ao UASB durante a pesquisa.

Etapas	Duração (dias)	Tempo Acumulado (dia)	Vazão Afluente (L/dia)				DQO <sup>4</sup> (g/L)	COV <sup>4</sup> (KgDQO/m <sup>3</sup> .d)	TDH (h)	Alcalinizante (g/L)		Nutrientes <sup>5</sup>
			Solução de Sacarose	LCCV	Água <sup>3</sup>	Total				NaHCO <sub>3</sub>	CaO	
I	33	33	25,2	-	-	25,2	1,3 > 1,5	1,5 > 2,2	16,1	1,3	-	Sim
II	40	73	25,2 > 24,6	0,0 > 0,6 <sup>1</sup>	-	25,2	1,5	2,2	16,1	1,3	-	Sim
III	104	177	-	0,6 > 2,8 <sup>1</sup>	24,6 > 22,4	25,2	1,5 > 6,7	2,2-10,0	16,1	1,3 > 6,5	-	Sim
IV	12	189	-	2,8 <sup>1</sup>	9,7	12,5	13,5	10,0	32,3	-	5	Não
V	19	208	-	2,8 <sup>2</sup>	3,2	6,0	28,0	10,0	67,2	-	6	Não
VI	14	222	-	2,8 <sup>2</sup>	-	2,8	60,0	10,0	144,0	-	7	Não

Notas: <sup>1</sup>LCCV autoclavado. <sup>2</sup>LCCV não autoclavado. <sup>3</sup>Água de diluição. <sup>4</sup>Valores teóricos. <sup>5</sup>Nutrientes conforme Tabelas 1 e 2

#### 4.2.6. Monitoramento do reator UASB

##### 4.2.6.1. Amostragem

O programa de monitoramento do efluente do reator UASB foi realizado segundo amostras compostas, coletadas durante período de 24h, com frequência de amostragem de 3 vezes por semana. Para coleta do efluente tratado do UASB era utilizado um conjunto de reservatórios com capacidade superior a 30L.

As coletas de amostras do afluente ao UASB eram realizadas, também, 3 vezes por semana, ocorrendo simultaneamente à coleta do efluente no conjunto de reservatórios.

##### 4.2.6.2. Variáveis monitoradas e métodos empregados

O monitoramento incluiu determinações físico-químicas das seguintes variáveis: volume de biogás, pH, taninos totais, alcalinidade, ácidos graxos voláteis (AGV) e DQO do afluente e efluente do reator UASB. Na Tabela 4 está apresentado o programa de monitoramento com as variáveis determinadas, frequências e métodos empregados durante o monitoramento do reator UASB.

TABELA 4 – Variáveis determinadas, frequências e métodos empregados durante o monitoramento do afluente e efluente do UASB.

Variável	Método	Afluente	Efluente
		Frequência semanal	
pH	Potenciométrico	Diária	Diária
DQO	Espectrofotométrico	3X	3X
Taninos totais	Espectrofotométrico	3X	3X
Alcalinidade	Potenciométrico	-	3X
AGV	Potenciométrico	-	3X
Série de sólidos	Evaporação a 105°C e Volatilização a 550°C		eventual
Volume de biogás	Gasômetro		Diária



As determinações de DQO foram realizadas segundo os procedimentos descritos no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA, AWWA, WEF, 2005) método 5220B.

Para determinação da alcalinidade total, e as parcelas de alcalinidade a bicarbonato, e a ácidos graxos voláteis, foi seguida a metodologia descrita por Kapp (1984).

As medidas de pH foram realizadas com pHmetro da Tecnal, modelo R-TEC-03P-MP segundo os procedimentos descritos no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA, AWWA, WEF, 2005) método 4500 H+B. As determinações de taninos totais, realizadas a partir da Etapa II, seguiram o método descrito por Lowry et al. (1947).

As determinações da série de sólidos foram realizadas segundo os procedimentos descritos no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA, AWWA, WEF, 2005) métodos 2540B, 2540F, 2540C.

O balanço de massa do reator foi calculado conforme a Equação 2 (van HAANDEL & LETTINGA, 1994).

$$Q_{Afl} \times DQO_{Afl} = (Q_{Afl} \times DQO_{Afl}) + (Y \times Q_{Afl} \times DQO_{Afl}) + \left[ \frac{Q_{CH_4} \times \% CH_4}{DQO_{CH_4}^{CNPT} \times (273 + T) / (273 \times Atm)} \right] \quad \text{Eq.2}$$

Em que:  $Q_{afl}$  = vazão do afluente,  $DQO_{afl}$  = concentração de DQO no afluente,  $Y$  = razão em o volume produzido de metano por grama de DQO removida,  $Q_{CH_4}$  = Vazão de metano,  $\% CH_4$  = Percentual de metano no biogás,  $DQO_{CH_4}^{CNPT}$  = Equivalente em DQO da produção de metano sob as condições normais de temperatura e pressão,  $T$  = temperatura em graus Celsius.

Para o cálculo da COV de projeto foi considerado que o LCCV apresentava 60 gDQO/L e aplicada a Equação 3 (van HAANDEL & LETTINGA, 1994).

$$COV = \frac{(Q_{Afl} \times DQO_{Afl})}{V_{REATOR}} \quad \text{Eq. 3}$$

Em que:  $Q_{\text{afi}}$  = vazão do afluente,  $DQO_{\text{afi}}$  = concentração de DQO no afluente,  $V_{\text{REATOR}}$  = Volume do reator.

A Equação 3 também foi usada para o cálculo da COV medida.

Nos 120°, 150° e 200° dias de operação amostras do biogás do UASB foram coletadas e analisadas no Laboratório de Combustíveis e Lubrificantes (LCL) do Departamento de Engenharia Química da UFC em um cromatógrafo portátil Varian, modelo CP 4900.

Visando tanto o ajuste dos limites dos métodos, quanto a restrição da interferência da salinidade, as determinações colorimétricas (DQO e taninos totais) foram realizadas com amostras diluídas (1:10 a 1:100).

### 4.3. REATOR BIOLÓGICO COM FUNGOS

O sistema aeróbio, proposto para tratamento do LCCV, era composto por um reator biológico com fungos (RBF) e um decantador secundário. O fungo *Aspergillus niger* foi escolhido como inóculo para o RBF por ser de ampla ocorrência e ter sido utilizado em vários trabalhos de tratamento biológico de águas residuárias industriais com bastante sucesso (ALAM, 2003; FU & VIRAGHAVAN, 2002; JIMENEZ, 2003; MOLLA, 2002, SAMPAIO, 2001; SÁ, 1997; SANTOS, 2005; GIFFONI, 2000; MEDEIROS, 2003; FACÓ, 2002; RODRIGUES, 1999; FREITAS NETO, 2005; SANTOS et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2006; SOUSA et al., 2006; FREITAS NETO et al., 2006; FELIX et al., 2006; ARTHAUD et al., 2006).

#### 4.3.1. Cultivo e preparação da espécie fúngica

A espécie *Aspergillus niger* AN 400, proveniente do departamento de genoma de fungos da Universidade de Wageningen, Holanda, foi cultivada em placas de Petri com meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose, 1mL solução de Vishniac por litro de meio de cultura e 0,05 g cloranfenicol /L.

As placas foram colocadas em uma caixa de isopor, previamente limpa e desinfetada utilizando-se hipoclorito de sódio a 10%, pelo período de três dias e,

mantidas, à temperatura média de 28°C. Foi utilizada solução de Vishniac descrita por Rodrigues (2006).

Os esporos de *Aspergillus niger* foram removidos das placas com 4mL solução de Tween 80 e transferidos para tubos de ensaio. Para contagem dos esporos foi preparada uma solução utilizando 50µL de suspensão de esporos, previamente agitados em agitador tipo Vórtex, e 950µL de solução Tween 80, resultando em diluição de 1:20. Em seguida 20µL da solução preparada foram transferidos para uma câmara de Neubauer que era dividida em 25 grupos de 16 pequenos quadros (0,2mm). Procedeu-se a contagem dos esporos em microscópio óptico, segundo metodologia descrita por Tuite (1969), sendo a determinação da concentração de fungos realizada através do número contado de fungos x 20 (diluição) x  $2,5 \times 10^5$  (volume ocupado pela solução de fungos) que resultou na concentração de fungos por mL.

#### **4.3.2. Teste de toxicidade em placas**

Para os testes de toxicidade, diversos erlenmeyers contendo diferentes concentrações (v/v) da água residuária (LCCV): 0% (branco), 10%, 25%, 50%, 75% e 100% foram autoclavados por 15 min, a 120°C e, pressão de 1,0atm, juntamente com o meio de cultura, Agar Sabouraud Dextrose. Após breve resfriamento, foi adicionada, a cada erlenmeyer, soluções de Vishniac (1mL/L) e cloranfenicol (0,05g/L). Esta solução foi distribuída em 18 placas de Petri (Figura 9), divididas em lotes, sendo cada lote constituído em triplicata. Após o endurecimento do meio nas placas, cada uma foi inoculada com  $2,0 \times 10^6$  esporos/mL, de *Aspergillus niger* AN 400. Nesta etapa foi determinada a concentração máxima de efluente na qual os fungos conseguiram crescer.

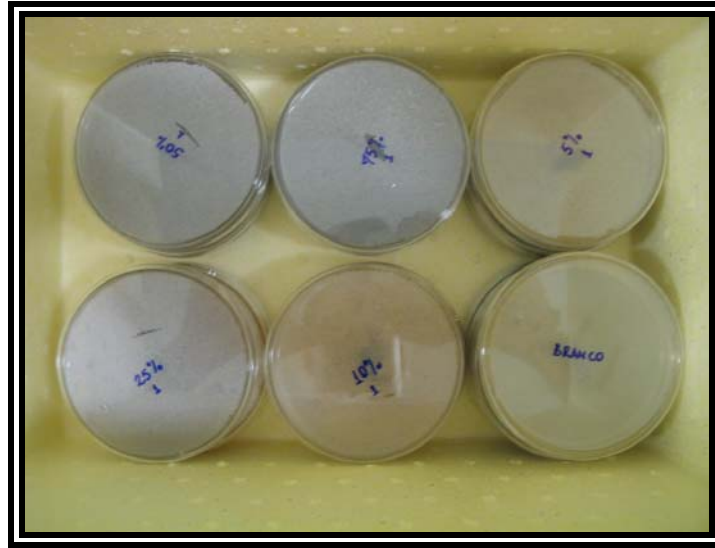


FIGURA 9 – Placas preparadas para o Teste de toxicidade do LCCV para o *Aspergillus niger* AN 400.

#### 4.3.3. Ensaios de biodegradabilidade aeróbia fúngica do LCCV

Foram realizados dois ensaios de biodegradabilidade do LCCV por *Aspergillus niger* utilizando-se erlenmeyers de 250 mL. Em cada ensaio foram montados 20 reatores sendo 10 de controle (sem fungos) e 10 com fungos. Nos reatores de controle foram adicionados 125mL de LCCV bruto (não autoclavado), 1ml de solução de Vishniac/L e 0,05 g de cloranfenicol/L (antibiótico). Os reatores com fungos foram montados de maneira semelhante aos sem fungos, porém foi acrescentado uma suspensão de *Aspergillus niger* AN 400 a concentração de  $2 \times 10^6$  esporos/mL.

Todos os reatores foram tampados com algodão hidrófobo e agitados a 200rpm em mesa agitadora (Figura 10). O experimento foi montado em duplicata, com desmonte de 4 reatores (2 controle e 2 com fungos) no 2º, 8º, 12º, 21º, 30º e 42º dia, após caracterização inicial no dia de montagem (dia 0). As variáveis determinadas neste ensaio foram  $DQO_{\text{solúvel}}$  e taninos totais.



FIGURA 10 – Ensaio de biodegradabilidade aeróbia do LCCV.

Para determinação da  $DQO_{\text{solúvel}}$  as amostras foram filtradas em papéis de filtro “Qualy” com poros de  $14\mu\text{m}$ , diâmetro de 11cm, sem auxílio de bomba de vácuo. Neste ensaio todos os materiais utilizados foram previamente autoclavados a  $120^{\circ}\text{C}$  e 1atm por 15 minutos.

O “software” utilizado para análises estatísticas foi o Graphpad Prism® versão 5.0. Para avaliação dos resultados foram realizadas análises de variância (ANOVA), com grau de significância de 95% ( $\alpha < 0,05$ ), seguida do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis que fez uma comparação múltipla entre as concentrações de DQO e taninos totais nos reatores controle e com fungos. O mesmo programa foi utilizado para realização das análises de correlação, sendo aplicado o teste não-paramétrico de Spearman.

#### 4.3.4. Reator Biológico com Fungos - Equipamentos

Foi projetado um reator cilíndrico, com volume total de 113L, altura de 58cm e diâmetro de 51cm, fabricado em fibra de vidro, com dois registros de  $\frac{3}{4}$ ”, localizados na parte inferior, para controle do funcionamento do reator. O RBF funcionava em escoamento ascendente, com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano com densidade de  $53,55 \text{ Kg/m}^3$  (cubos de aproximadamente 3cm de aresta). Após o reator,

havia um decantador cilíndrico em fibra de vidro com volume útil de 57L. Nas Figuras 11 e 12 pode ser visualizado o esquema simplificado de funcionamento e uma fotografia do sistema RBF-decantador.

O RBF era continuamente aerado com a utilização de oito micro-aeradores. Após o 45º dia de operação foram utilizados 18 aeradores de aquário (vazão de 2,0L/min de ar cada) e, a partir do 180º dia de operação, foi utilizado apenas um compressor radial, cuja vazão era de 1,5m<sup>3</sup>/min. As mangueiras de oxigenação foram colocadas durante a inoculação do reator.

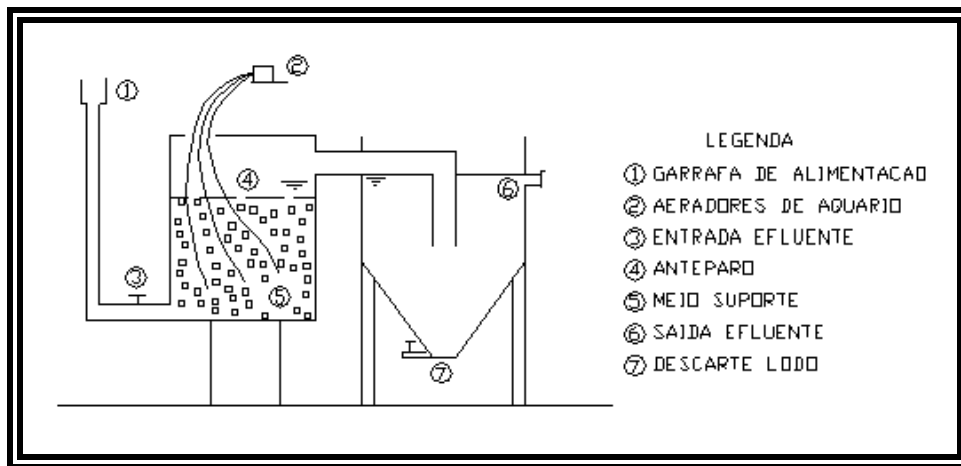


FIGURA 11 – Esquema simplificado de funcionamento do sistema RBF-decantador.



FIGURA 12 – Sistema RBF-decantador utilizado na pesquisa.

Escolheu-se a espuma de poliuretano como meio suporte, pois segundo Zaiat (1996), este material possui baixa densidade, alta porosidade interna, estabilidade à hidrólise, difícil degradação biológica e capacidade de confinamento de microrganismos, o que a torna adequada para este fim. Além disso, a espuma de poliuretano tem sido utilizada com êxito em diversas pesquisas (FELIX, 2005; FREITAS NETO, 2005; MIELGO, 2002; D'ANNIBALE et al., 1998; VASSILEV et al., 1997; SANTOS, 2005), apresentando bons resultados quando aplicada em reatores de leito fixo para tratamento de águas residuárias de origens variadas.

O volume útil do reator foi determinado através da alocação do meio suporte e adição de água até extravasar pela saída para efluente tratado. Como resultado, o volume ocupado pela espuma foi de 13L, portanto, o volume útil do reator era de 100L.

#### **4.3.5. Partida do RBF**

Para inoculação, foram preparados 100L de uma solução composta por: 40,0g/L de açúcar comum (adotado para simular a concentração de açúcares no LCCV), 0,28g  $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{L}$ ; 0,25g  $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{L}$ ; 0,1g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{L}$ ; 0,01g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/\text{L}$ ; 1mL da solução descrita na Tabela 2.

Após o preparo da solução, em recipientes de 20L, o pH foi corrigido para 4,0, utilizando-se ácido sulfúrico. Em seguida foram adicionados  $2 \times 10^6$  esporos de *Aspergillus niger* AN 400/mL. O passo seguinte foi colocar, alternadamente, o meio suporte e a solução de açúcar, nutrientes e fungos. Por último, foi encaixado, no RBF, um anteparo (com perfurações de 0,5cm), em fibra de vidro, localizado 8,5cm abaixo da saída para efluente tratado. A função do anteparo era reter o meio suporte impossibilitando a saída juntamente com o efluente.

O reator permaneceu em repouso durante 24h. Após esse período foi iniciada a aeração, através de seis aeradores de aquário, e recirculação do efluente do reator, por meio de bomba de diafragma LMI Milton Roy modelo P133-398TI. Após o 7º dia o decantador foi conectado ao RBF e foi iniciada a alimentação do RBF. O afluente era armazenado em reservatório de 20L, conservado em geladeira a 5°C e recalado para uma garrafa de alimentação localizada acima do reator, que funcionava como reservatório de passagem do sistema, viabilizando o controle da vazão. Na garrafa foi adaptada uma mangueira de 1/2" que era conectada ao registro localizado na extremidade inferior do RBF.

O afluente ao sistema entrava pela região inferior do RBF e saía pela parte superior do reator para o decantador, através de um tubo de PVC (75mm). A tubulação oriunda do RBF despejava o efluente, no decantador a 15 cm do fundo. O efluente do sistema era coletado através de calhas e, conduzido para um reservatório com capacidade de 12L.

#### **4.3.6. Operação do RBF**

A operação do RBF foi realizada durante 274 dias e foi dividida em duas fases. Durante a Fase 1 foi utilizado LCCV bruto como afluente e a operação era realizada sem retirada do excesso de biomassa do RBF. O TDH era de 12 e 6 dias, para o RBF e decantador, respectivamente.

A Fase 2 foi dividida em Etapas A e B. Nas duas Etapas o afluente ao RBF era LCCV bruto diluído em água, na proporção de 1:1. Além disso, foi retirado do reator o anteparo descrito no item 4.3.4. O TDH do sistema foi mantido no entanto, o RBF apenas durante a Etapa B foi operado com descartes semanais de biomassa que



crescia na parte superior do reator, sem retirada dos meios suportes. Esta operação foi empírica, sendo verificado apenas o peso da biomassa retirada. Na Tabela 5 são apresentadas as variáveis da operação do RBF durante a pesquisa.

TABELA 5 – Variáveis da operação do RBF durante a pesquisa.

Variável	Fase 1	Fase 2	
		Etapa A	Etapa B
Duração (dias)	116	96	62
DQO teórica (mg/L)	60.000	30.000	30.000
COV (Kg DQO/m <sup>3</sup> .d)	5,0	2,5	2,5
TDH total (h) <sup>1</sup>	18	18	18
Vazão afluyente (L/d)	8,20	8,20	8,20
Afluyente	LCCV <sup>2</sup>	LCCV <sup>3</sup>	LCCV <sup>3</sup>
Descarte de biomassa <sup>3</sup>	não	não	sim

Notas: <sup>1</sup> Somatório do TDH do RBF(12d) e decantador (6d).<sup>2</sup>LCCV bruto sem diluição.<sup>3</sup> LCCV bruto diluído em água proporção 1:1. <sup>3</sup>Descartes do excesso de biomassa.

Os valores adotados de COV foram baseados em pesquisas realizadas com reatores de biofilme tratando efluentes indústrias (NASCIMENTO et. al., 2000; GONÇALVES, 2000; WOLFF, 1997; BARTHEL, 1998; SALES, 1999; GRANDO & ALVES, 2000; CAMPOS, 2001; FÉLIX, 2005; GIFFONI, 2000; KYRIACOU et al., 2005).

#### 4.3.7. Monitoramento do RBF

##### 4.3.7.1. Amostragem

As coletas de amostras do afluyente e efluyente do RBF eram realizadas 3 vezes por semana. O programa de monitoramento do efluyente do RBF foi realizado segundo amostragem composta, durante período de 24h. O efluyente era coletado na saída do decantador e armazenado em reservatório mantido sob refrigeração a 5° C.

#### 4.3.7.2. Variáveis monitoradas e métodos empregados

O monitoramento incluiu as determinações físico-químicas das seguintes variáveis: pH, DQO e taninos totais, do afluente e efluente do sistema RBF-decantador.

A Tabela 6 apresenta o programa de monitoramento com as variáveis determinadas, freqüências e métodos utilizados durante o monitoramento do RBF.

TABELA 6 – Variáveis determinadas e freqüências realizadas durante o monitoramento do afluente e efluente do RBF.

Variável	Método	Afluente	Efluente
		Freqüência semanal	
pH	Potenciométrico	3X	3X
DQO	Espectrofotométrico	3X	3X
Taninos totais	Espectrofotométrico	3X	3X
Série de sólidos	Evaporação a 105°C e Volatilização a 550°C	eventual	

As medições de oxigênio dissolvido (OD) foram realizadas diretamente no RBF e no decantador, utilizando um oxímetro portátil marca YSI, modelo F-1550A. As medições eram realizadas duas vezes por semana sendo os valores obtidos ajustados por um fator de correção de salinidade informado pelo fabricante do aparelho.

As determinações de DQO foram realizadas segundo os procedimentos descritos no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA, AWWA, WEF, 2005) método 5220B.

As medidas de pH foram realizadas com pHmetro da Tecnal, modelo R-TEC-03P-MP segundo os procedimentos descritos no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA, AWWA, WEF, 2005) método 4500 H+B. As determinações de taninos totais foram realizadas segundo o método descrito por Lowry et al. (1947).

As determinações da série de sólidos foram realizadas segundo os procedimentos descritos no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA, AWWA, WEF, 2005) métodos 2540B, 2540F, 2540C.

Foi realizada no último dia de operação uma análise de açúcares totais e redutores do afluente e efluente do RBF sendo seguida a metodologia descrita por Miller (1959).

Para o cálculo da COV de projeto foi considerado que o LCCV apresentava 60 gDQO/L e aplicada a Equação 3 (van HAANDEL & LETTINGA, 1994). A Equação 3 também foi usada para o cálculo da COV medida.

Tanto para circunscrição dos limites dos métodos, quanto para limitação da interferência da salinidade, as análises colorimétricas (DQO e taninos totais) foram realizadas com amostras diluídas (1:100).

Foram realizadas duas análises microbiológicas do material celular do RBF. A primeira ocorreu no 120º dia de operação e foi realizada no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza-CE) através do método de espalhamento por plaqueamento. A segunda foi realizada no 170º dia e foi realizada no Laboratório Integrado de Águas de Mananciais e Residuárias (LIAMAR/CEFET-CE) através da observação da morfologia e crescimento apical, segundo o método da coração por azul de metileno descrito por Myrvik & Weiser (1988).

O “software” utilizado para análises estatísticas foi o Graphpad Prism® versão 5.0. Para avaliação dos resultados foram realizadas análises de variância (ANOVA), com grau de significância de 95% ( $\alpha < 0,05$ ).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da caracterização do LCCV, dos ensaios anaeróbios e operação do UASB, bem como os ensaios aeróbios e operação do RBF serão apresentados e discutidos com base tanto em fundamentos teóricos, quanto em resultados de pesquisas correlatas observadas na literatura.

### 5.1. CARACTERIZAÇÃO DO LCCV

Os resultados da caracterização preliminar do LCCV e os obtidos durante a pesquisa estão apresentados na Tabela 7.

TABELA 7 – Caracterização físico-química do LCCV.

Variável	Unidade	Metodologia	Nº de amostras	Média	Desvio padrão
DBO <sub>5</sub> <sup>*</sup>	mg/L	Incubação	2	4,12 E <sup>+04</sup>	-
DQO <sup>**</sup>	mg/L	Espectrofotométrico	60	6,35E <sup>+04</sup>	12,03 E <sup>+03</sup>
Taninos totais <sup>**</sup>	mg/L	Espectrofotométrico	15	5,95 E <sup>+03</sup>	1,01 E <sup>+03</sup>
Açúcares <sup>**</sup>	mg/L	Espectrofotométrico	2	4,51 E <sup>+04</sup>	-
Alcalinidade Total <sup>*</sup>	mg/L	Potenciométrico	2	1,01 E <sup>+03</sup>	-
pH <sup>**</sup>	-	Potenciométrico	60	4,91	0,38
Condutividade <sup>*</sup>	mS/cm	Condutivimétrico	2	8,75	-
Amônia <sup>*</sup>	mg/L	Destilação	2	746	-
Nitrito <sup>*</sup>	mg/L	Espectrofotométrico	2	0,42	-
Nitrato <sup>*</sup>	mg/L	Titulométrico	2	66	-
Fósforo Total <sup>*</sup>	mg/L	Espectrofotométrico	2	130	-
Sólidos Totais <sup>**</sup>	mg/L	Evaporação a 105°C e Volatilização a 550°C	18	6,53 E <sup>+04</sup>	1,24 E <sup>+03</sup>
Sólidos Fixos <sup>**</sup>	mg/L		18	6,16 E <sup>+03</sup>	438
Sólidos Voláteis <sup>**</sup>	mg/L		18	5,91 E <sup>+04</sup>	1,29 E <sup>+03</sup>

Notas: \*Laboratório de Saneamento da Universidade Federal do Ceará (Labosan).

\*\* Laboratório de Gestão Ambiental da Embrapa Agroindústria Tropical (LGA).

Os valores médios das concentrações de DQO e alcalinidade total (AT) resultaram em relação AT/DQO de 0,015. Para que ocorra eficiente degradação e controle da digestão anaeróbia, os afluentes em sistemas anaeróbios devem apresentar taxa de 1gAT/gDQO (LEMA, 1997). Assim, para que fossem evitados problemas de acidificação no reator UASB, durante toda a pesquisa foram adicionados alcalinizantes ao afluente do UASB.

A taxa  $DBO_5/DQO$  do LCCV apresentou valor de 0,66, que indicou boa biodegradabilidade deste tipo de efluente, quando comparada a esgotos domésticos que possuem esta taxa variando de 0,4 a 0,8 (METCALF & EDDY, 2003).

Considerando as amostras analisadas, a relação DQO:N:P foi igual a 510:6:1 portanto, não seria necessária para tratamento biológico do LCCV a suplementação com nitrogênio e fósforo. Conforme recomendação de Cherchinaro (1997) a relação 500:5:1 de DQO:N:P é suficiente para atender as necessidades de macronutrientes dos microrganismos em sistemas biológicos. Portanto, o afluente do RBF não foi suplementado com nutrientes durante a pesquisa. Já o afluente do UASB foi suplementado com nutrientes até a Etapa III visando a manutenção de nutrientes em excesso, evitando assim riscos às atividades das bactérias enquanto era realizada a transição dos afluentes.

## **5.2. UASB**

### **5.2.1. Análise microbiológica do LCCV autoclavado**

O processo de esterilização do LCCV utilizado durante a pesquisa foi eficiente para exterminação das leveduras, conforme amostras analisadas de LCCV autoclavado e não autoclavado. Os ensaios em placas apresentado na Figura 13 mostram que não houve crescimento de leveduras quando foram utilizadas amostras de LCCV autoclavado, enquanto que nos ensaios com amostras *in natura* detectou-se  $5,0 \times 10^6$  NMP/mL (número mais provável de colônias por mililitro).



FIGURA 13 - Placa de Petri com LCCV *in natura* (esquerda) e placa com LCCV esterilizado (direita).

### 5.2.2. Teste de toxicidade metanogênica do LCCV

Na Figura 14 são apresentados os valores médios, máximos e mínimos das AME obtidas durante os testes de toxicidade metanogênica.

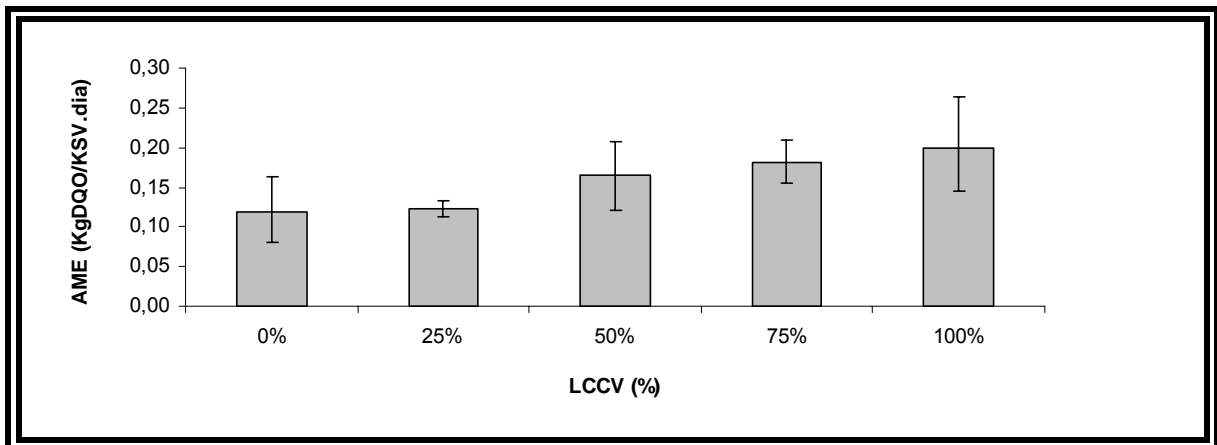


FIGURA 14 – Valores médios, máximos e mínimos das AME observadas durante os testes de toxicidade metanogênica para os reatores 0%, 25%, 50%, 75% e 100% LCCV. As barras de erros indicam os valores máximos e mínimos.

Os resultados dos testes de toxicidade metanogênica demonstraram que o LCCV não provocou efeitos tóxicos às bactérias metanogênicas presentes no lodo do UASB. Além disso, observou-se que os valores das AME dos reatores com LCCV foram próximos ou superiores aos obtidos nos reatores com acetato e propionato.

Uma hipótese sugerida para a explicação do aumento da AME nos reatores com LCCV seria a ação da glicose (naturalmente presente no LCCV) como co-substrato nos processos de degradação da matéria orgânica (incluindo taninos). Os testes realizados utilizando glicose como substrato apresentaram valores de AME similares aos obtidos nos reatores com LCCV. No entanto, como a glicose é um precursor de acetato esta hipótese não foi comprovada visto que seriam necessários estudos minuciosos sobre a possível formação de metabólitos provenientes da degradação parcial de taninos, e suas influências nas AME das bactérias.

Outra proposição seria que o uso de acetato e propionato como substrato não teria avaliado todo o consórcio microbiano sendo assim, durante os testes de AME não foram atingidas nos reatores as atividades metanogênicas máximas sendo que nos reatores que foram utilizados glicose pode ter sido alcançada a real atividade metanogênica máxima. De acordo com Aquino et al. (2007), o uso de glicose como substrato em testes de AME suportaria a atividade metabólica de microrganismos fermentativos (acidogênicos), sintróficos (acetogênicos) e produtores de metano (metanogênicos) com isso, seria possível avaliar a atividade do consórcio anaeróbio como um todo.

Mehrotra et al. (2003); Tay et al (2001) em seus estudos também verificaram que testes de toxicidade metanogênica de efluentes com compostos fenólicos apresentaram valores superiores de AME nos reatores que eram adicionados de glicose quando comparados aos que eram acrescidos de acetato e propionato como co-substrato. Estes autores levantaram a hipótese “aparecimento” de metabólitos oriundos das degradações incompletas dos compostos fenólicos possivelmente aumentou a concentração de material biodegradável nos reatores, no entanto apenas na presença de glicose este acréscimo de material foi consumido pelas bactérias.

Outra hipótese levantada seria a ação das quinonas como catalisadores das atividades das bactérias, conforme citado no item 3.5.2 da revisão de literatura desta Tese. Para tanto, ainda são necessárias pesquisas para confirmação e identificação das quinonas presentes no LCCV bem como a ação destes compostos como catalisadores da atividade metanogênica.

As análises cromatográficas do biogás produzido durante o teste de toxicidade, utilizando-se 100% LCCV resultaram em 70% de metano, 25% de dióxido de carbono, 0,5% de nitrogênio e 4,5% de gases traços, o que está dentro da faixa esperada para este tipo de teste (van HAANDEL & LETTINGA, 1994). Isto demonstra que possivelmente não ocorreu crescimento de leveduras nos reatores visto que, o percentual de CO<sub>2</sub> foi muito inferior ao metano, o que demonstrou predominância das atividades das bactérias metanogênicas durante os testes. Ratificando que a autoclavagem foi eficiente para esterilização do LCCV.

Field & Lettinga (1987) realizaram testes de toxicidade metanogênica utilizando lodo granular, demonstrando que taninos hidrolisáveis são tóxicos à AME. Os autores utilizaram 4,17 gDQO/L de um substrato composto de AGV (acetato, propionato e butirato proporção 1:1:1) e 700 mg/L de ácido galatânico. A concentração de lodo nas garrafas era de 1,11 gSV/L. O teste resultou em 50% de inibição da AME, quando comparada ao reator que continha apenas AGV como substrato. A inibição por ácido galatânico foi 20% menor quando os autores utilizaram apenas acetato e propionato como substrato.

Por outro lado, os resultados encontrado por Fernandez et al. (2002) mostraram que sistemas anaeróbios podem tratar efluentes com taninos, obtendo-se lodo anaeróbio com AME elevada. Estes autores realizaram testes de AME no lodo de um reator UASB utilizado no tratamento de efluentes da indústria de manufatura de fibras com elevada toxicidade devido aos taninos. As AME foram realizadas ao longo do perfil do lodo do reator sendo observado 0,8 KgDQO/KgSV.d para a amostra coletada na manta de lodo do reator. Isto demonstrou que o reator estava bem adaptado ao efluente em questão, no entanto não foram informadas as concentrações, bem como as características dos taninos no efluente.

Resultados de diferentes pesquisas são difíceis de serem comparados, pois diferentes metodologias e condições do experimento podem conduzir a resultados de AME também diferentes para um mesmo tipo de efluente (Cherchinaro, 1997). Nesse sentido, entende-se que os resultados obtidos com o teste de toxicidade são válidos quando comparados entre si.



### 5.2.3. Biodegradabilidade e estabilidade anaeróbia do lodo

Os resultados do ensaio de biodegradabilidade demonstraram que apenas 7,2% da matéria orgânica do lodo utilizado era biodegradável em um prazo de 30 dias.

De acordo com Seghezze et al. (2002), o decaimento celular ocorre de acordo com uma cinética de primeira ordem. Utilizando a metodologia descrita por Mgana (2003), pôde-se estimar a taxa de decaimento através da linearização da curva de produção acumulada de metano durante o teste de biodegradabilidade anaeróbia do lodo (Figura 15).

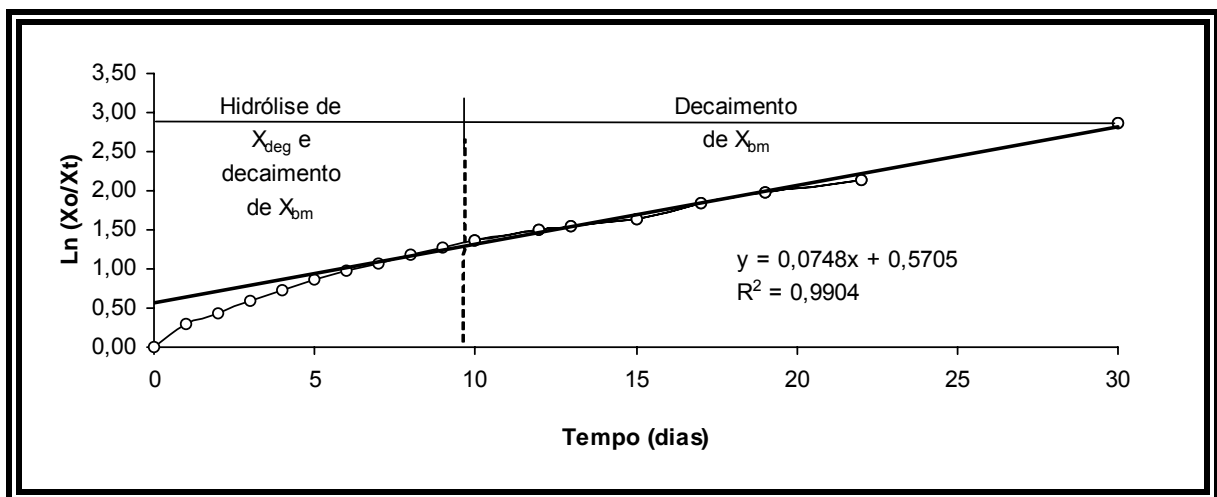


FIGURA 15 - Linearização da curva de produção acumulada de metano durante o teste de biodegradabilidade anaeróbia do lodo. Onde  $X_o$  é o total degradado das frações de sólidos suspensos do lodo ( $X_{deg}$ ) somado a  $X_{bm}$  (decaimento das bactérias) e  $X_t$  é a degradação acumulada de  $X_{deg} + X_{bm}$  em qualquer dia do ensaio.

Assim, os resultados demonstraram que a primeira parte da curva da Figura 15 não se adequou a produção linear de metano. Essa discrepância pode ser interpretada como uma degradação da matéria orgânica facilmente biodegradável ( $X_{deg}$ ) em adição ao decaimento da biomassa.

Leitão (2005) também observou, durante variados ensaios de biodegradabilidade de lodo, não-linearização em parte das curvas de produção de metano e justificou este fato pelas maiores concentrações de sólidos suspensos hidrolisáveis, que geralmente ocorrem em reatores UASB submetidos a baixos TDHs.

O valor do coeficiente de decaimento ( $K_d = 0,0748d^{-1}$ ) obtido na equação do gráfico da Figura 15 ficou acima aos valores informados por Batstone et al. (2002), que sugerem a faixa de 0,004 a 0,050/d como a biodegradabilidade representativa da produção de metano devida a decaimento de biomassa. Isto provavelmente ocorreu devido ao tempo de detenção celular muito elevado que foi mantido no reator UASB desta pesquisa (100 dias).

## 5.2.4. Operação do reator UASB

### 5.2.4.1. COV, DQO e biogás

A COV foi aumentada ao longo da operação do reator UASB até atingir os valores de dimensionamento, como pode ser visualizado na Tabela 8.

TABELA 8 - Concentrações médias, mínimas, máximas, número de determinações (ND) e desvios-padrão (DP) de DQO determinadas no afluente e efluente do UASB durante as etapas de operação.

Etapa	Amostra	Média (mg/L)	Mínima (mg/L)	Máxima (mg/L)	ND	DP (mg/L)
I	Afluente	1357	1123	1625	9	188
	Efluente	209	120	413	9	95
II	Afluente	1423	572	3278	14	653
	Efluente	149	93	351	14	63
III	Afluente	3121	676	7027	40	1758
	Efluente	585	161	2053	40	490
IV	Afluente	7578	6331	9930	3	-
	Efluente	1539	900	1953	3	-
V	Afluente	17295	9432	35733	5	10985
	Efluente	2419	1510	3883	5	1015
VI	Afluente	53471	31474	74300	4	19277
	Efluente	8754	2688	14200	4	5717

Observa-se também que ocorreram variações da DQO afluente durante o período de monitoramento do UASB, ocasionadas pela variação natural da concentração de matéria orgânica no LCCV.

O UASB apresentou durante as etapas de operação eficiência elevada de remoção de DQO, sendo os valores médios, mínimos, máximos, número de determinações e desvios-padrão apresentados na Tabela 9.

TABELA 9 – Eficiências médias, máximas, mínimas, número de determinações (ND) e desvios-padrão (DP) observadas para remoção de DQO durante as etapas de operação do UASB.

Etapa	Média (%)	Mínima (%)	Máxima (%)	ND	DP (%)
I	84,2	66,9	91,2	9	8,3
II	88,6	80,2	94,4	14	3,9
III	80,6	62,4	97,7	40	8,6
IV	79,2	69,2	86,1	3	-
V	79,5	61,3	91,6	5	13,5
VI	85,0	77,9	91,5	4	6,1

Na Figura 16 são apresentadas as variações da COV (medida e de projeto), produção específica de biogás, concentrações teóricas de DQO no afluente, concentrações de DQO no afluente e efluente, eficiências de remoções de DQO e produção de biogás monitorados durante a operação do UASB.

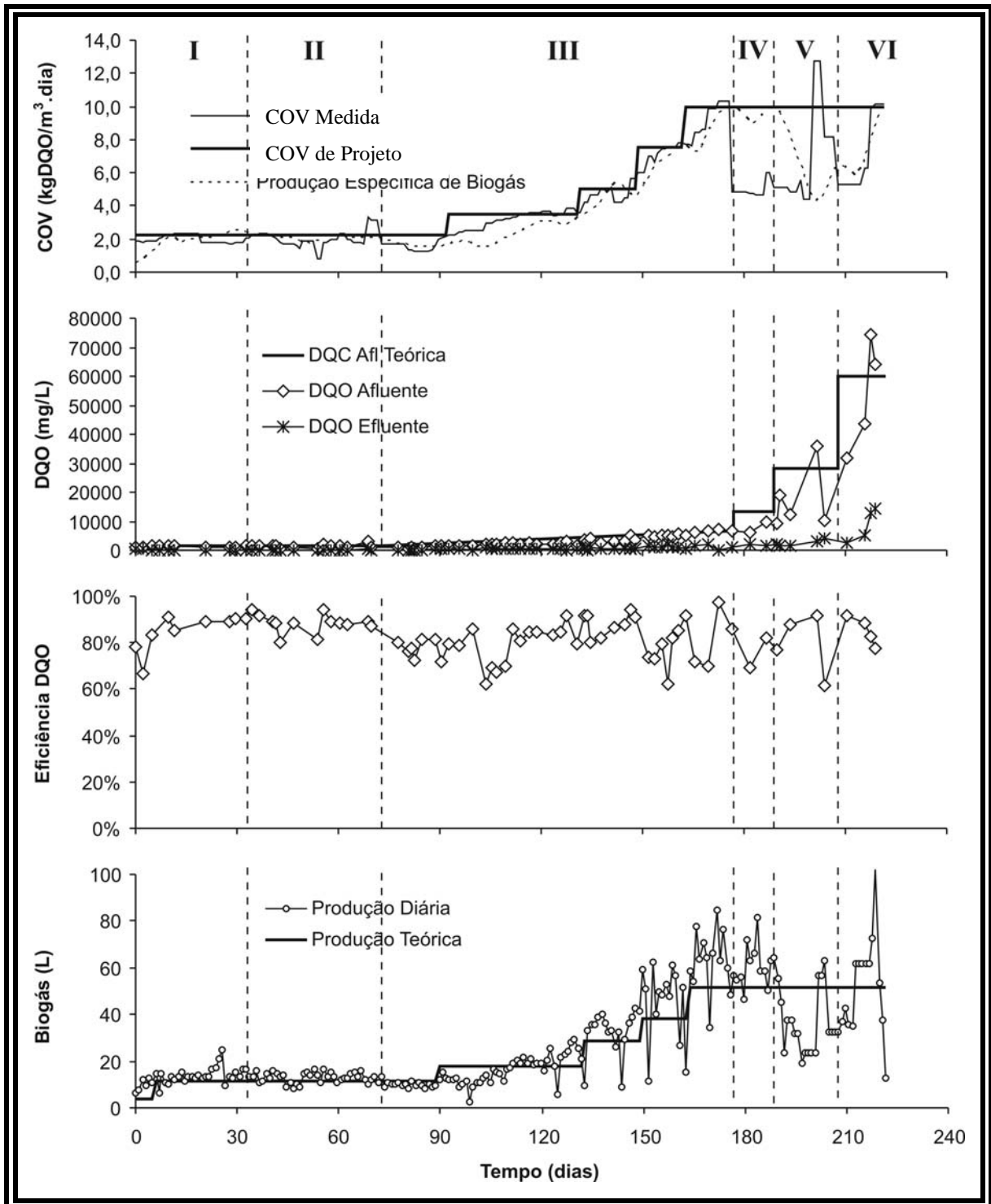


FIGURA 16 – Variação da COV (medida e de projeto), produção específica de biogás, concentrações teóricas de DQO no afluente, concentrações de DQO no afluente e efluente, eficiências de remoções de DQO, alcalinidade total e AGV no efluente observados durante a operação do UASB.

Até a Etapa III os valores das COV aplicadas ao UASB foram próximos aos esperados teoricamente. No entanto, problemas operacionais diversos tornaram difícil o controle da DQO e da vazão afluentes a partir da Etapa IV.

Essa variação da vazão ocorreu devido à elevada concentração de sólidos suspensos característicos do LCCV. Estes sólidos acumulavam-se nas tubulações anteriores à bomba, diminuindo a vazão ou causando entupimento. Apesar disto, o reator UASB apresentou alta robustez. Até o final da Etapa III, mesmo com um aumento da COV de aproximadamente 5 vezes, o efluente manteve-se em média abaixo de 600 mgDQO/L, fazendo com que a eficiência ficasse acima de 80%.

Uma pesquisa envolvendo reator híbrido anaeróbio em escala piloto para tratamento do efluente da indústria de fabricação de compensado de madeira foi desenvolvida por Fernández et al. (2001). Estes autores utilizaram efluente bruto que possuía 1460 mg/L de taninos totais e 40900 mgDQO/L. Foi aplicado pré-tratamento físico-químico sendo removido cerca de 13% da DQO inicial. Quando a COV aplicada variou de 6,5 a 8,5kg DQO/m<sup>3</sup>.d foram observadas remoções de DQO variando de 90 a 93% e, ainda, remoção de 90% de compostos fenólicos.

Os resultados destas pesquisas demonstraram que foram obtidas elevadas remoções de DQO quando foram utilizados sistemas anaeróbios para tratamento de efluentes contendo concentrações inferiores a 2000 mg/L. No entanto, estas mesmas pesquisas não esclareceram quais frações de taninos provocaram toxicidade, quando as concentrações destes taninos foram elevadas

A partir da Etapa IV, quando o reator foi operado com plena carga (COV de 10 KgDQO/m<sup>3</sup>.d), o reator apresentou alguns distúrbios no efluente e na produção de biogás. Isto se deveu principalmente à mudança da fonte de LCCV. Até a Etapa III o LCCV era produzido na própria Embrapa, em uma planta piloto de beneficiamento da casca do coco verde. Posteriormente, o LCCV foi trazido da Usina localizada no bairro do Jangurussu. Possivelmente, este último LCCV era diluído durante o processamento da casca do coco verde.

A produção específica de biogás, que mostra o quanto da carga aplicada está realmente sendo convertida em metano, manteve-se muito próxima a COV, mostrando que o reator conseguiu se manter estável durante a operação. Quando operado com

carga de projeto, a produção média de biogás foi de 50L /dia, coerente com o valor de 51 L/dia obtido a partir do balanço de massa efetuado (Equação 2).

Os valores médios dos resultados obtidos nas duas análises cromatográficas realizadas no biogás produzido pelo reator UASB são apresentados na Tabela 10.

TABELA 10 - Concentrações médias de metano, dióxido de carbono, nitrogênio e gases traços do biogás produzido pelo reator UASB durante a operação.

Constituinte	Concentração (%)
Metano	75
Dióxido de carbono	20
Nitrogênio	2
Gases traço	3

A composição do biogás produzido pelo reator UASB durante a pesquisa apresentou valores condizentes com os observados em variados sistemas anaeróbios tratando efluentes industriais (PUIG-GRAJALES et al., 2003; RAZO-FLORES et al., 2003; ENRIGHT et al., 2005).

#### 5.2.4.2. Alcalinidade total e Ácidos Graxos Voláteis

Assim como a eficiência de DQO e produção de biogás, a variação da alcalinidade total e ácidos graxos voláteis (AGV) determinadas no efluente (Figura 17) também comprovaram que o UASB se manteve estável durante a operação. Para efeito didático, nas Figuras 17, 18 e 19 também será apresentado o gráfico com a variação da COV aplicada ao reator UASB, que possibilitará a avaliação do comportamento deste reator durante as diversas etapas operacionais.

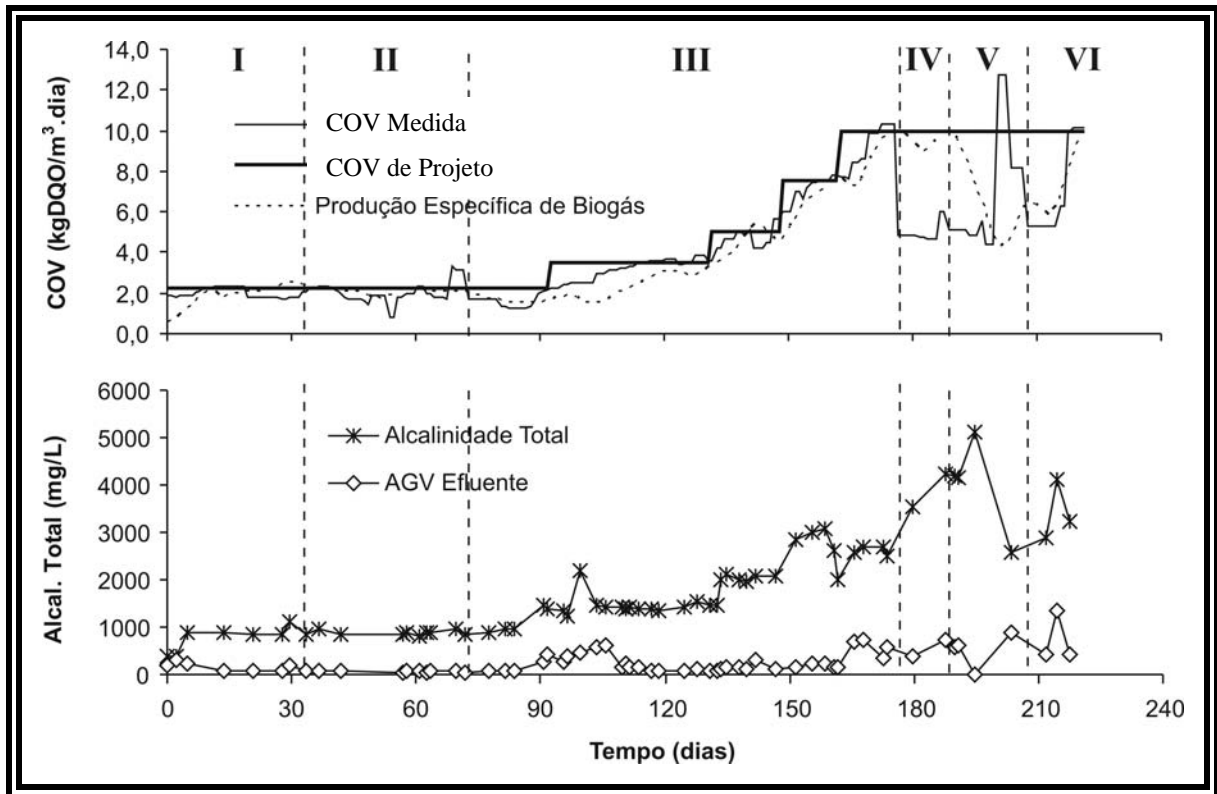


FIGURA 17 – Variação da alcalinidade total e AGV no efluente durante a operação do UASB.

Durante a operação do UASB foi verificado que, a cada elevação da COV, ocorria um breve aumento das concentrações de AGV no efluente, que são justificadas pela maior velocidade das atividades acidogênicas em relação às acetogênicas e metanogênicas. (van HAANDEL & LETTINGA, 1994). Contudo, após curto período as concentrações de AGV no efluente do UASB voltavam a apresentar valores próximos aos verificados anteriormente.

Alterações semelhantes nas concentrações de AGV efluente ocorreram na pesquisa desenvolvida por Collins et al. (2005), que operaram um reator UASB para tratamento de efluente sintético e observaram que a cada aumento da COV a concentração de AGV no efluente aumentava. Porém, após período médio de 5 a 15d, o equilíbrio entre os processos de digestão anaeróbia eram restabelecidos.

Além da elevação da carga durante a operação do UASB, algumas modificações na dosagem de bicarbonato no afluente provocaram breves aumentos na concentração de AGV no efluente. Pode ser visualizado ainda na Figura 17 que a partir

do 130º dia de operação do UASB (Etapa III) ocorreram incrementos na concentração de AT no efluente do UASB que foram motivados pelo aumento da concentração de DQO afluente e coerente elevação da adição de bicarbonato ao afluente, pois era mantida a razão de  $1\text{gNaHCO}_3/1\text{gDQO}$  Afluente.

Durante a Etapa IV, apesar da utilização de cal hidratada que apresenta solubilidade inferior ao bicarbonato de sódio utilizado anteriormente como alcalinizante, foram mantidas as concentrações almeçadas de AT no entanto, durante as Etapas V e VI estas concentrações não foram alcançadas visto que, as dosagens de cal hidratada no afluente do UASB foram realizadas de forma equivocada.

Durante a operação do UASB as variações das concentrações de AGV no efluente eventualmente apresentaram valores superiores a  $500\text{ mgAGV/L}$  o que poderia demonstrar uma possível instabilidade do reator, caso fosse considerada a recomendação de Connaughton et al. (2006) que expôs como uma das variáveis mais importantes para determinação se um reator anaeróbio está estável a manutenção de concentração inferior a  $500\text{mg AGV/L}$  no efluente.

No entanto, outros autores como Ripley et al. (1986) e Seghezze et al. (1998), mencionam que os parâmetros usados freqüentemente para monitorar a estabilidade de reatores anaeróbios são a manutenção da eficiência de remoção de DQO superior a 80%, produção estável de biogás e, ainda mais importante, a razão entre AGV e alcalinidade total (AT) pois, o sucesso da operação depende da manutenção de concentrações adequadas de bicarbonato e impedimento de concentrações excessivas de ácidos voláteis. Assim, a razão AGV/AT tem sido utilizada para monitoramento dos processos metabólicos envolvidos na digestão anaeróbia, considerando-se valores de 0,10 a 0,35 como típicos de digestores bem operados (RINCON et al., 2002)

Portanto, o UASB manteve-se estável durante a operação, visto que a razão AGV/AT manteve-se abaixo de 0,30, a eficiência média de remoção de DQO foi superior a 80% e a produção média de biogás foi estável durante este período.



### 5.2.4.3. Taninos totais

Na Tabela 11 são apresentadas as concentrações médias, mínimas, máximas, número de determinações e desvios-padrão de taninos totais no afluente e efluente do reator UASB durante as etapas da operação.

TABELA 11 - Concentrações médias, mínimas, máximas, número de determinações (ND) e desvios-padrão (DP) de taninos totais determinadas no afluente e efluente do UASB durante as etapas da operação.

Etapa	Amostra	Média (mg/L)	Mínima (mg/L)	Máxima (mg/L)	ND	DP
I*	Afluente	-	-	-	-	-
	Efluente	-	-	-	-	-
II	Afluente	62	56	68	3	-
	Efluente	49	23	64	3	-
III	Afluente	244	51	472	28	94
	Efluente	137	14	213	28	39
IV	Afluente	925	925	925	1	-
	Efluente	266	266	266	1	-
V	Afluente	1349	744	2093	3	-
	Efluente	350	239	506	3	-
VI	Afluente	3254	2241	4348	3	-
	Efluente	1388	433	766	3	-

Nota: \* Não foram realizadas análises de taninos totais nesta etapa.

Os valores médios, mínimos, máximos, número de determinações e desvio-padrão de remoção de taninos totais observados durante a etapas de operação do UASB são apresentados na Tabela 12.

TABELA 12 – Eficiências médias, máximas, mínimas, número de determinações (ND) e desvio-padrão (DP) observadas para remoção de taninos totais durante as etapas de operação do UASB.

Etapa	Média (%)	Mínima (%)	Máxima (%)	ND	DP
I*	-	-	-	-	-
II	22,1	1,6	58,7	3	-
III	41,7	7,3	73,4	28	13,6
IV	71,2	71,2	71,2	1	-
V	71,7	59,1	80,2	3	-
VI	77,9	68,1	84,9	3	-

Nota: \* Não foram realizadas análises de taninos totais nesta etapa.

Na Figura 18 são apresentadas as variações de taninos totais no afluente e efluente, bem como a eficiência de remoção de taninos totais observadas durante as etapas de operação do UASB.

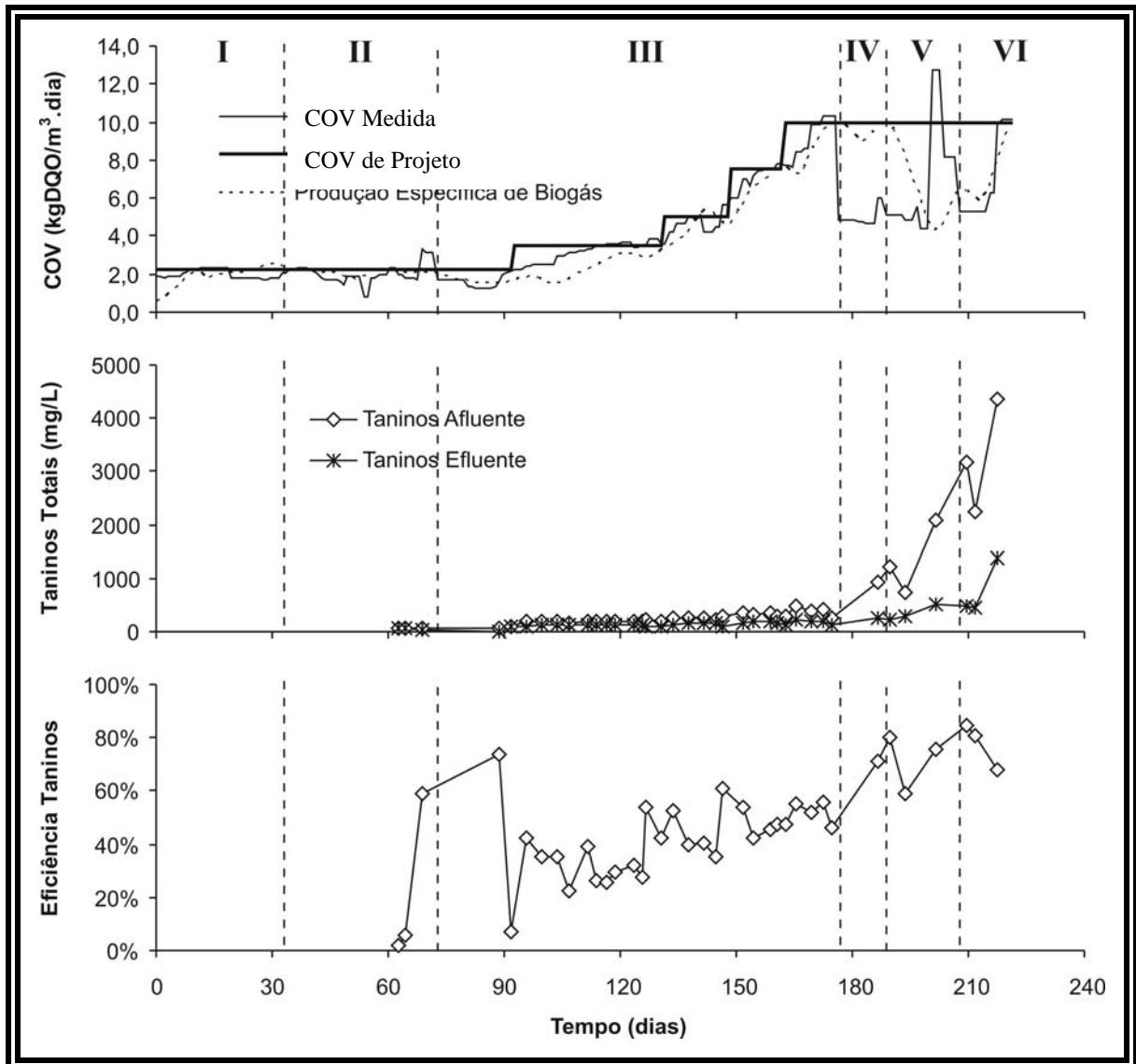


FIGURA 18 – Variação de taninos totais no afluente, efluente e eficiência de remoção de taninos totais durante as etapas de operação do UASB.

Pode ser observado na Figura 18 que o UASB removeu parcialmente os taninos totais presentes no afluente. Algumas pesquisas verificadas na literatura demonstraram que reatores UASB apresentaram-se eficientes para remoção de DQO e taninos durante o tratamento de efluentes contendo taninos como a desenvolvida por Soto et al. (1991), que aplicaram este tipo de reator para tratamento do efluente da indústria de compensado feito de eucalipto. O efluente apresentava 42020 mgDQO/L (sendo 1464 mg/L de taninos). Quando o reator foi operado com 20640 mgDQO/L no

afluente, e COV de 16,9 kgDQO/m<sup>3</sup>.d. as remoções máximas de DQO e de taninos foram de 93% e 78%, respectivamente. Apesar das limitações nas informações dos grupos de taninos utilizados no afluente, a pesquisa de Soto et al. (1991) demonstrou que reatores UASB são capazes de remover taninos de efluentes.

Como pesquisa envolvendo tratamento anaeróbio de efluentes contendo taninos merece destaque a pesquisa realizada por Vijayaraghavan & Murthy (1997), que empregaram reatores anaeróbios de leito fixo em série (escala de bancada) para degradar efluentes de curtume. Os TDHs aplicados foram 36, 48 e 60h, com efluente bruto apresentando DQO variando de 1500 a 16500 mgDQO/L. A maior eficiência de remoção de DQO, variando de 52 a 89% e COV de 5,0 Kg DQO/m<sup>3</sup>.d, foi observada quando as concentrações no afluente eram inferiores a 2000 mg /L de taninos totais. Concentrações superiores a 2000 mg/L de taninos totais provocaram decréscimo de 40% na remoção de DQO.

Outra pesquisa desenvolvida por Vijayaraghavan & Ramanujam (1999) demonstrou a toxicidade dos taninos condensados a sistemas anaeróbios. Os autores aplicaram um sistema constituído por dois filtros anaeróbios em série, de fluxo ascendente, para tratamento de efluente de curtume. No experimento em escala de laboratório foram aplicados 3 TDHs. Para o TDH de 60h, e COV de 5,6 Kg DQO/m<sup>3</sup>.d, a eficiência de remoção de DQO diminuiu de 80 para 60% quando o afluente apresentava 1.050mg taninos/L. Quando o TDH era de 48h e 920mg taninos/L afluente, a remoção de DQO diminuiu de 60 para 40% e, para TDH de 24h e 790mg taninos/L afluente a remoção de DQO diminuiu de 40 para 20%.

Estes autores atribuíram à presença de taninos condensáveis a diminuição na remoção de DQO, levantando inclusive a hipótese que taninos tem capacidade de formar ligações mais fortes (através de pontes de hidrogênio) às proteínas funcionais das bactérias, em relação as ligações que estas proteínas normalmente teriam com monômeros mais simples como o acetato. Assim, as bactérias ficariam impossibilitadas de utilizarem qualquer forma de substrato e acabariam entrando em decaimento.

A hipótese levantada por Vijayaraghavan & Ramanujam (1999) que a presença de taninos condensados impede a utilização de substratos foi confirmada por López-Fiuza et al. (2003) visto que estes autores confirmaram que taninos

hidrolisáveis, por apresentarem menor peso molecular, são compostos mais suscetíveis à degradação anaeróbia portanto, menos tóxicos, quando comparados aos taninos condensáveis.

Contudo, para tratamento anaeróbio de efluentes contendo taninos algumas condições devem estar presentes, ou serem adquiridas pelo reator em questão pois, o trabalho de Vidal et al. (2001) demonstrou ineficiência de um reator UASB empregado para tratamento do efluente de uma indústria de celulose. A água residuária apresentava baixas concentrações de DQO variando de 800 a 1900 mg/L e taninos e ligninas (TL) na faixa de 44 a 64 mg/L, quando comparadas ao LCCV. O reator em escala de laboratório foi operado com aumento gradual da COV de 1,7 para 3,1 KgDQO/m<sup>3</sup>.d. Durante o período de operação (350d) as remoções de DQO variaram de 33 a 36% e de 10 a 29% para TL. Ao final da operação os autores verificaram que o lodo presente no UASB era muito floculento visto que, o reator foi operado sem recirculação do efluente que resultou em velocidades ascensionais baixas. Portanto, segundo estes autores a não formação de lodo granular durante a operação do UASB explicaria as baixas remoções de DQO e TL observadas.

Outras condições operacionais de sistemas anaeróbios para tratamento de efluentes contendo compostos fenólicos são formuladas por Veeresh, kumar & Mehrotra (2005), que recomendaram a utilização de reatores UASB para tratamento de efluentes que contenham compostos fenólicos desde que sejam aplicadas algumas estratégias de operação como aumento gradual da COV, substituição gradual do substrato ideal (AGV, glicose, metanol) por fenóis bem como diluição do afluente.

Além destes procedimentos Tay et al. (2001) recomendam, durante o tratamento anaeróbio de compostos fenólicos, a utilização de lodo granular, adequada aclimatização do inóculo, recirculação do efluente tratado e suplementação do afluente com co-substratos, como a glicose e AGV.

Mehrotra et al. (2003) participaram de uma pesquisa que demonstrou que a utilização de glicose como co-substrato foi mais eficiente que AGV para remoção de fenóis durante o tratamento anaeróbio de efluentes contendo estes últimos compostos citados. Nesta pesquisa, foram utilizados dois reatores UASB (1 e 2) sendo que no UASB-1 foi adicionado e utilizado como substrato no afluente, além dos fenóis, 1g/L de

Glicose. No UASB-2 o substrato era composto de AGV e fenóis. Ambos os reatores foram operados com COV de 8,0 KgDQO/m<sup>3</sup>.d e TDH de 12h. O afluente aos reatores apresentava 2,8 gDQO/L e 1,2 g/L de Fenóis. O UASB-1 apresentou remoções médias de 98% e 87% para DQO e fenóis, respectivamente. Já UASB-2 alcançou remoções médias de 88% e 81% para DQO e fenóis, respectivamente.

Outras pesquisas que verificaram a influência da glicose na remoção de compostos fenólicos foram as desenvolvidas por Tay et al. (2001), que utilizaram dois reatores UASB (2L) para tratamento de efluente sintético contendo fenóis. Os autores observaram que a adição de glicose como co-substrato no afluente reduzia em 3 meses o tempo de partida de um dos reatores (UASB-I), quando comparado ao outro (UASB-II), que foi operado sem adição de glicose. No reator operado com co-substrato a remoção média de fenóis foi de 95% operando com afluente contendo 1260 mg/L de fenóis, TDH de 0,5d e COV de 5,0 KgDQO/m<sup>3</sup>.d.

E por Veeresh, kumar & Mehrotra (2005), que concluíram em seu trabalho que reatores UASB podem tratar efluentes com concentrações variando de 1,2 a 3,0 g/L de Fenóis (eficiência de remoção de DQO superior a 80%). Caso seja adicionada glicose como co-substrato a eficiência de remoção de DQO pode subir para 90% e, ainda, ser alcançada a remoção de 98% dos compostos fenólicos presentes na água residuária. Os autores afirmaram que sistemas de tratamento anaeróbio de águas residuárias com compostos fenólicos, bem como as vias metabólicas da atuação de co-substratos nestes sistemas, ainda estão em estágio de desenvolvimento.

As explicações de Puig-Grajales et al. (2003) confirmam mais uma vez que é benéfica a atuação de co-substratos em sistemas anaeróbios. Estes autores mencionaram que substratos de difícil degradação podem ser eficientemente degradados na presença de um substrato de fácil degradação (co-metabolismo). O co-substrato é necessário quando um substrato não é apto a servir como fonte de energia para o crescimento das bactérias. O processo anaeróbio de transformação de material orgânico a metano é realizado através da produção de precursores de metano. A atividade metanogênica das bactérias, durante o tratamento anaeróbio de águas residuárias que apresentam compostos fenólicos, é mantida ativa quando é adicionado,

ou estão presentes no efluente, co-substratos como a glicose, sacarose, AGV e metanol.

Além disso, segundo Collins et al. (2003), co-substratos promovem maior adaptação da biomassa anaeróbia presente em reatores, bem como facilitam os processos de hidrogenização, fissão e fragmentação do anel fenólico durante o tratamento anaeróbio de efluentes com compostos fenólicos.

No entanto, a pesquisa de López-Fiuza et al. (2003) demonstrou que além da utilização de glicose como co-substrato, é importante a caracterização das frações de taninos (hidrolisável ou condensado) presentes no efluente aplicado em sistemas anaeróbios de tratamento. Estes pesquisadores operaram três reatores UASB em escala de bancada para verificar a viabilidade de degradação anaeróbia de extratos naturais de taninos. Os reatores R1 e R2 foram alimentados com afluente sintético contendo taninos condensados e R3 com hidrolisáveis. Nos três reatores utilizou-se 5g/L de glicose como co-substrato e foi mantida a mesma carga orgânica volumétrica (COV) que variou de 2,5 a 3,0kg DQO/m<sup>3</sup>.d. A remoção de DQO variou de 90 a 100%, bem como remoção de 60 a 90% de taninos hidrolisáveis quando R3 foi operado com 1,0g/L de taninos hidrolisáveis. Quando a concentração de taninos condensáveis no afluente era de 800mg/L, R1 e R2 apresentaram elevada concentração de AGV no efluente e inibição da atividade, apresentando apenas 20% de remoção de DQO.

Apesar da elevada concentração, em torno de 45000 mg/L de açúcares (frutose, sacarose e principalmente glicose) naturalmente presentes no LCCV ainda é prematura a suposição que estes compostos podem ter atuado como co-substratos durante o processo de degradação (absorção) anaeróbia dos taninos. Além disso, as remoções de taninos observadas durante a operação do UASB também podem ter ocorrido através da adsorção dos taninos ao lodo granular presente no reator. Portanto, seriam necessárias análises mais sensíveis como espectrofotometria de massa do afluente, efluente e lodo do reator UASB para comprovação do principal processo (absorção ou adsorção) envolvido na remoção de taninos durante a operação do reator UASB com LCCV.

#### 5.2.4.4. AME

Os valores obtidos das AMEs (Figura 19) realizadas durante a operação do UASB encontraram-se dentro da faixa de valores típicos de AME de lodos estritamente anaeróbios, que variam de 0,0001 a 1,5000 KgDQO/KgSSV.d (FIELD et al., 1988). No entanto, caso sejam analisadas apenas as COV aplicadas ao UASB, valores maiores de AME eram esperados durante a operação. Estes baixos valores de AME foram justificados pela elevada concentração de DQO no LCCV, que resultou em altas idades do lodo (100 dias).

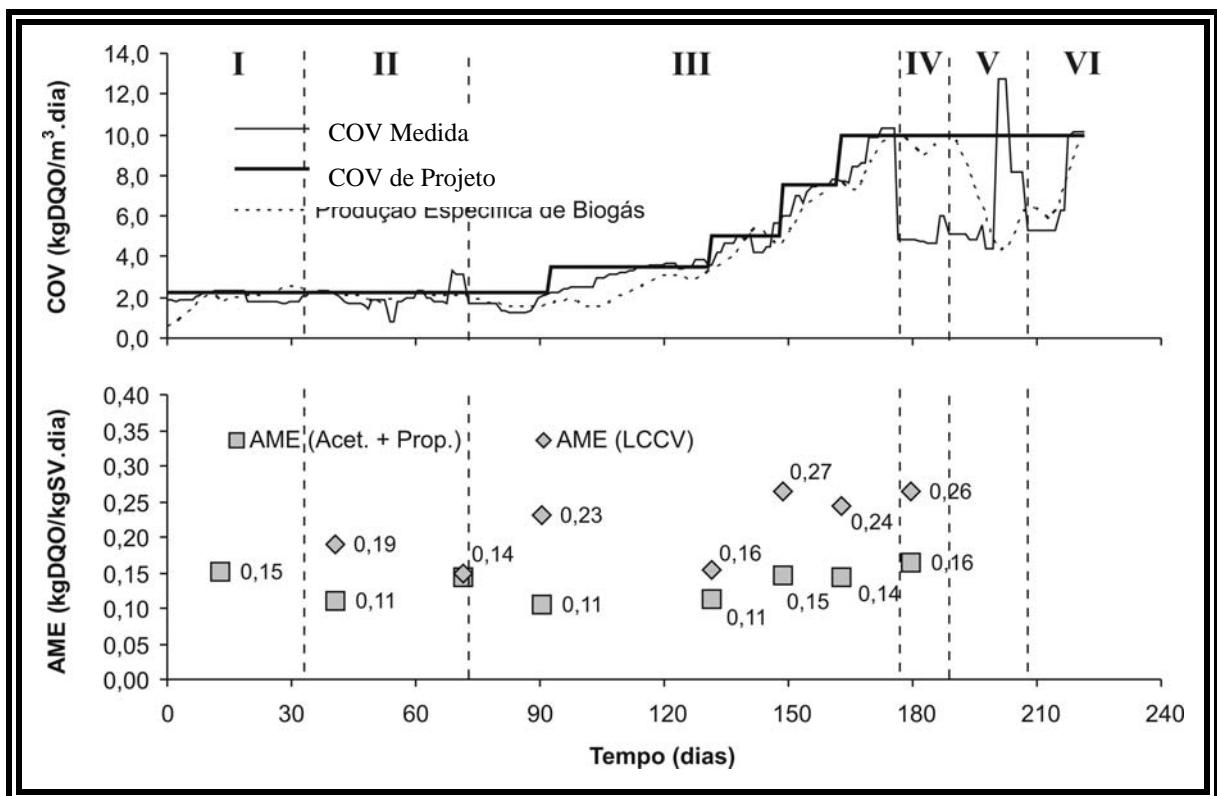


FIGURA 19 – Variação dos valores obtidos nos testes de AME realizados durante as etapas de operação do UASB.

Muito embora as metodologias empregadas fossem diferentes das utilizadas nesta Tese, os trabalhos de Penna (1994) e Mendonça et al. (2003) obtiveram valores de AME superiores aos resultados alcançados nos testes realizados com o UASB durante a operação.



Penna (1994) utilizou como substrato a mistura dos ácidos acético, propiônico e butírico, e encontrou valor médio de AME de 0,1100 KgDQO/KgSVT.d, para lodo de reator de manta de lodo tratando esgoto de uma indústria alimentícia. No mesmo experimento, avaliando a AME das acetogenocásticas, encontrou valor de 0,1300 KgDQO/KgSVT. A COV aplicada ao sistema em questão era de 7,0 KgDQO/m<sup>3</sup>.d. e não foi informada a idade do lodo utilizado nos ensaios.

Mendonça et al. (2003) realizaram experimento para avaliar a AME de lodos de reatores anaeróbios tratando variados efluentes industriais onde observaram que o lodo anaeróbio de refinação de milho apresentou AME igual a 0,2100 KgDQO/KgSV.d, pouco inferior ao lodo de usina de açúcar (AME= 0,2930 KgDQO/KgSV.d). O lodo de cervejaria (0,2060 KgDQO/KgSV.d) também apresentou atividade inferior ao lodo de usina de açúcar. Os substratos utilizados foram acetato e propionato (1:1). Os experimentos foram realizados com lodos submetidos a COV variando de 5,0 a 7,0 KgDQO/m<sup>3</sup>.d. sendo, mais uma vez, não informadas as idades dos lodos utilizados nos ensaios.

No princípio era esperado que o LCCV apresentasse toxicidade às atividades das bactérias inoculadas no UASB, porém a estabilidade do reator comprovada pela manutenção da razão AGV/AT inferior a 0,30, produção estável de biogás e as elevadas eficiências de remoção de DQO observadas durante a operação do reator UASB, bem como os resultados dos testes de toxicidade metanogênica demonstraram que o LCCV pode ser tratado em um reator UASB.

### 5.3. REATOR BIOLÓGICO COM FUNGOS (RBF)

#### 5.3.1. Teste de toxicidade do LCCV em placas

Após o primeiro dia de incubação foi perceptível o crescimento de *Aspergillus niger* em todas as placas. No segundo dia de incubação percebeu-se crescimento dos esporos *Aspergillus niger* em todas as placas, sendo mais acentuada na amostra com 25% de LCCV. No 3º dia de incubação as placas com 10%, 25%, 50% e 75% (Figura 20) apresentavam crescimento visual similar de esporos de *Aspergillus niger*.

Completados quatro dias de incubação todas as placas com exceção da de 100% LCCV apresentavam esporos de *Aspergillus niger* em toda superfície. Somente após cinco dias a placa com 100% de LCCV apresentou superfície totalmente recoberta por esporos.

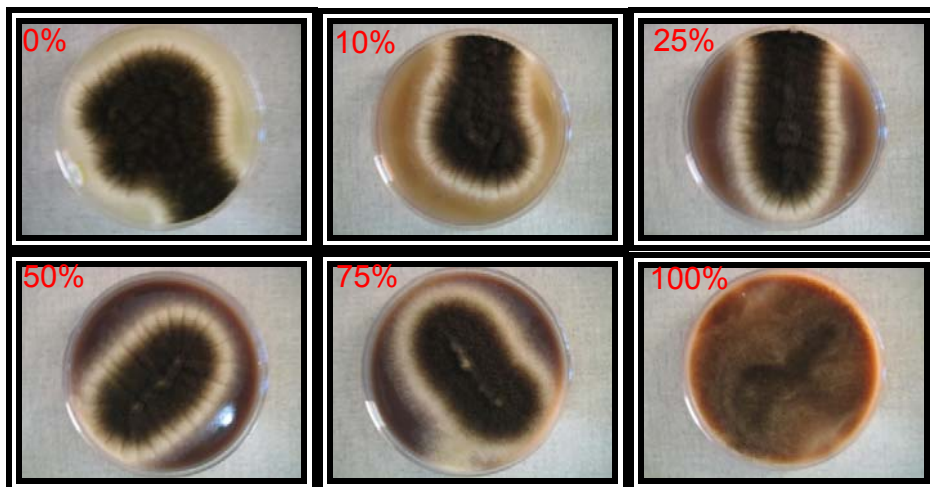


FIGURA 20 – Imagem das placas com 0%, 10%, 25%, 50%, 75% e 100% de LCCV, aos três dias de incubação.

Alguns estudos evidenciaram que taninos têm efeitos inibitórios sobre bactérias e fungos (SCALBERT, 1991; MARVAN & NAGEL, 1986; SANTOS & MELO, 2003) contudo, neste trabalho os resultados do teste de toxicidade em placas demonstraram que a espécie *Aspergillus niger* foi capaz de crescer e se desenvolver na presença de efluente (LCCV) contendo taninos, confirmando o exposto por Bhat et al.

(1998) que afirmam que, apesar das propriedades antimicrobianas dos taninos, muitos fungos, bactérias e leveduras são resistentes, conseguem crescer e se desenvolver em ambientes caracterizados pela presença de taninos.

De acordo com Moraes (2001) cada microrganismo responde ao ambiente, gerando vantagem seletiva e competitiva em seu nicho ecológico. A resposta do microrganismo ao ambiente eventualmente é interativa, pois enquanto cresce e se reproduz (adaptação ao ambiente) ele modifica o meio como consequência de suas próprias atividades de crescimento e, em alguns casos, para melhorar suas vantagens competitivas perante outros microrganismos.

A versatilidade e capacidade de crescimento do *A. niger* em ambientes com compostos tóxicos e recalcitrantes foi demonstrada na pesquisa desenvolvida por Sampaio (2005). Foram realizados testes em placas para avaliar crescimento de *A. niger* em meio contendo diferentes concentrações de metil paration. A autora afirmou que apesar de o meio imposto ao microrganismo oferecer condições nutricionais adequadas com fonte de carbono, proteínas, elementos-traço, e temperatura ideal ao seu crescimento, a presença de metil paration em concentrações elevadas não impediu a reprodução da espécie.

### **5.3.2. Ensaio de biodegradabilidade aeróbia fúngica do LCCV**

Na Figura 21 são visualizadas as variações das concentrações de taninos totais e  $DQO_{solúvel}$  determinadas para os reatores controle e com fungos durante os ensaios de biodegradabilidade aeróbia.

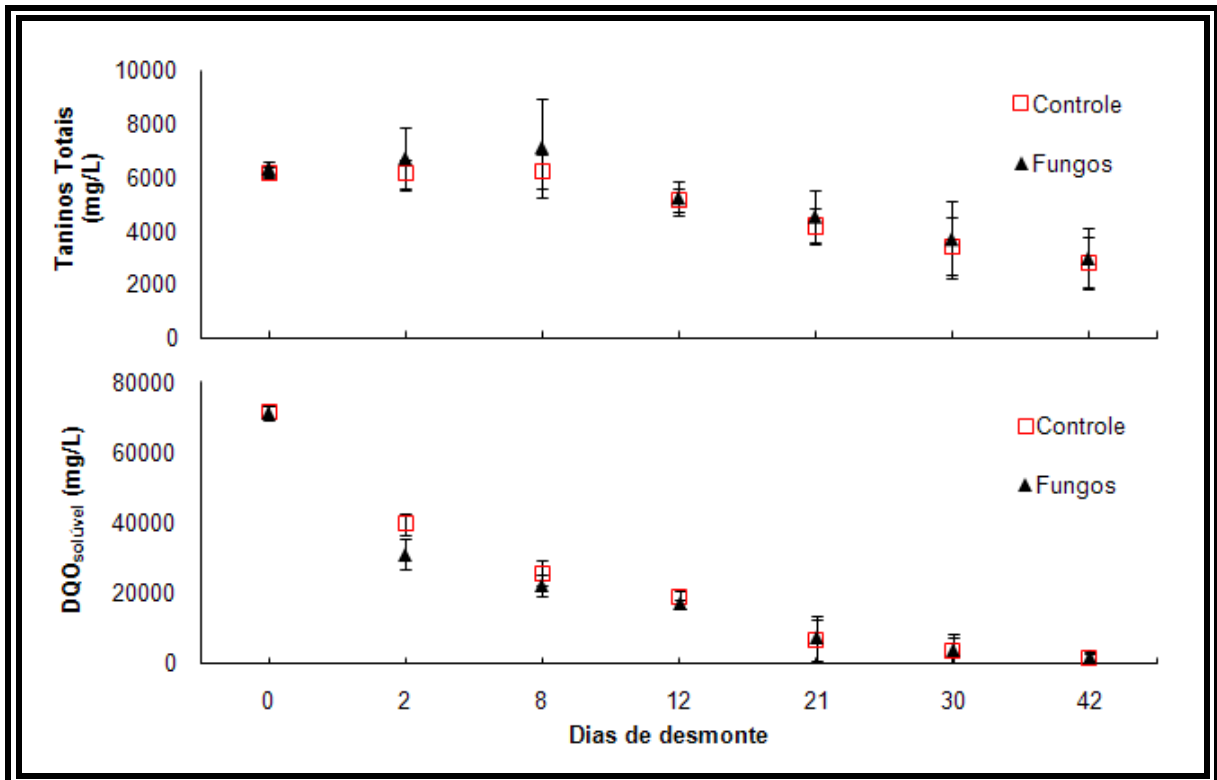


FIGURA 21 – Variação da concentração de taninos totais e DQO<sub>solúvel</sub> ao longo dos ensaios de biodegradabilidade aeróbia. As barras de erros indicam os valores máximos e mínimos.

Tanto reatores controle quanto com fungos apresentaram baixas remoções de taninos. No 2º e 8º dias de desmonte foram observadas, nas amostras coletadas dos reatores com fungos, concentrações de taninos totais superiores ao dia inicial, possivelmente motivadas por erros durante execução das análises.

O LCCV demonstrou elevada biodegradabilidade visto que, após trinta dias de ensaio e considerando todos os reatores utilizados, em média 95% da DQO<sub>solúvel</sub> inicial havia sido consumida.

Análises de variância comprovaram que não ocorreram diferenças significativas (nível de significância de 95%) entre os resultados obtidos nos reatores controle e com fungos tanto para DQO quanto para taninos totais. Portanto, a espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 não aumentou os valores da eficiência de remoção de DQO<sub>solúvel</sub> e taninos totais do LCCV, quando comparada aos resultados obtidos nos reatores controle, ou seja, microrganismos naturais do LCCV são capazes de degradar

aerobiamente este efluente e, portanto, a partida do RBF poderia ser feita sem a inoculação de *Aspergillus niger*.

### 5.3.3. Análises microbiológicas

Embora o reator tenha sido inoculado com  $2,0 \times 10^6$  esporos/ml, de *Aspergillus niger*, observou-se o desenvolvimento de uma massa gelatinosa de coloração amarela no interior do reator. As análises microbiológicas feitas a 120 e 170 (Etapa A-Fase2) dias de operação indicaram a inexistência de fungos filamentosos no reator e a presença de leveduras que não puderam ser identificadas.

Limitações nas identificações de fungos e leveduras presentes no LCCV também foram destacadas na pesquisa desenvolvida por Teixeira (2007) que afirmou que estudos específicos de isolamento e identificação de espécies presentes no LCCV estão em desenvolvimento. A autora avaliou o potencial fermentativo do LCCV através da fermentação natural do líquido.

Os resultados das análises microbiológicas demonstraram que as leveduras nativas do LCCV se adaptaram ao ambiente do RBF. Portanto, o reator continuou a ser operado, mesmo na ausência de *Aspergillus niger*, uma vez que leveduras são fungos unicelulares cuja maioria pertence ao filo ascomicetos. As células de leveduras majoritariamente são esféricas, ovais ou cilíndricas, com divisão celular ocorrendo por brotamento e geralmente são encontradas em habitats nos quais açúcares estão presentes tais como frutos, flores e cascas de árvores (MADIGAM et al, 1997). As leveduras podem sobreviver em ambientes aeróbios, anaeróbios ou facultativos portanto, têm capacidade de se ajustar metabolicamente tanto em condições de aerobiose, como de anaerobiose (LIMA, BASSO & AMORIM, 2001).

### 5.3.4. Operação do RBF

Ao longo da operação do RBF o pH afluente e efluente apresentou valor médio de 4,8 ( $\pm 0,4$ ) e 3,9 ( $\pm 0,3$ ), respectivamente.

Segundo Griffin (1994), fungos modificam o pH do meio durante o crescimento. Teixeira (2007), como parte da pesquisa, avaliou a fermentação natural do

LCCV e notou que o crescimento de leveduras nativas do LCCV diminuía o pH do meio. Segundo Starzak (1994), o crescimento de leveduras durante processos fermentativos aeróbios leva à formação de ácido cítrico e íon hidrogênio, que diminuem os níveis de pH do meio.

### **5.3.5. Oxigênio dissolvido e sólidos voláteis**

As concentrações de oxigênio dissolvido (OD) determinadas no RBF durante a operação apresentaram valores médios de 2,0 ( $\pm 0,9$ ), 1,2 ( $\pm 0,4$ ) e 1,9 ( $\pm 0,9$ ) mgOD/L para as Fases 1, Etapa A (Fase 2) e Etapa B (Fase 2), respectivamente. Apesar destes valores, não se pôde afirmar que as concentrações de OD não foram restritivas às atividades biológicas no RBF pois, em sistemas aeróbios com biomassa imobilizada mesmo que sejam mantidas concentrações superiores a 0,5 mgOD/L, não pode ser descartada a hipótese que a concentração de OD não é limitante à atividade biológica. Para determinação da concentração limitante, devem ser realizados ensaios dos mecanismos de transferência de massa e da velocidade de consumo de oxigênio dissolvido pelos microrganismos presentes no reator (VIEIRA et al., 2001).

Contudo, apesar da utilização de um soprador de ar (a partir do 180º dia de operação), que apresentava capacidade de injeção de ar muito superior aos aeradores de aquário utilizados anteriormente, no início da Etapa B (Fase 2) verificou-se que as concentrações de OD começaram a declinar, quando comparadas aos valores observados na Etapa A.

Como o RBF, durante a pesquisa, apresentou remoção elevada de sólidos voláteis o declínio na concentração de OD foi provocado, possivelmente, pelo acúmulo de biomassa no reator e conseqüente prejuízo das velocidades de transferência de oxigênio desde a bolha de gás até as células. Além disso, como o RBF estava sendo operado a 212 dias (Fase 1 + Fase 2 - Etapa A) sem descarte de biomassa, também pode ter ocorrido acúmulo do material celular das leveduras pois, em condições aeróbias o metabolismo da levedura leva à maior produção de moléculas de ATP por unidade de carbono, favorecendo a produção excessiva de biomassa (MORAES, 2001).

Na Figura 22 são apresentadas as variações de oxigênio dissolvido (OD) no RBF e decantador, as concentrações de sólidos voláteis (SV) no afluente e efluente do

sistema RBF-decantador e as eficiências de remoção de SV verificadas durante a operação do RBF. Para efeito didático, nas Figuras 22, 23 e 24 será também apresentado o gráfico com a variação da COV aplicada ao mesmo, que possibilitará a avaliação do comportamento deste reator durante as diversas fases e etapas operacionais.

Assim, visando ao aumento da concentração de OD no RBF, a partir do 212º dia de operação foram iniciados e mantidos até o final da pesquisa, descartes semanais de aproximadamente 5,5Kg da biomassa localizada na parte superior do RBF. Outra observação importante, que poderia confirmar a acumulação de biomassa no RBF, é que foi verificado, durante a pesquisa, pequeno acúmulo de biomassa no decantador, sendo realizado, no final da pesquisa, o descarte de aproximadamente 1Kg de biomassa do decantador, que representou menos de 2,0% da biomassa que foi retirada do RBF durante a Etapa B, Fase 2.

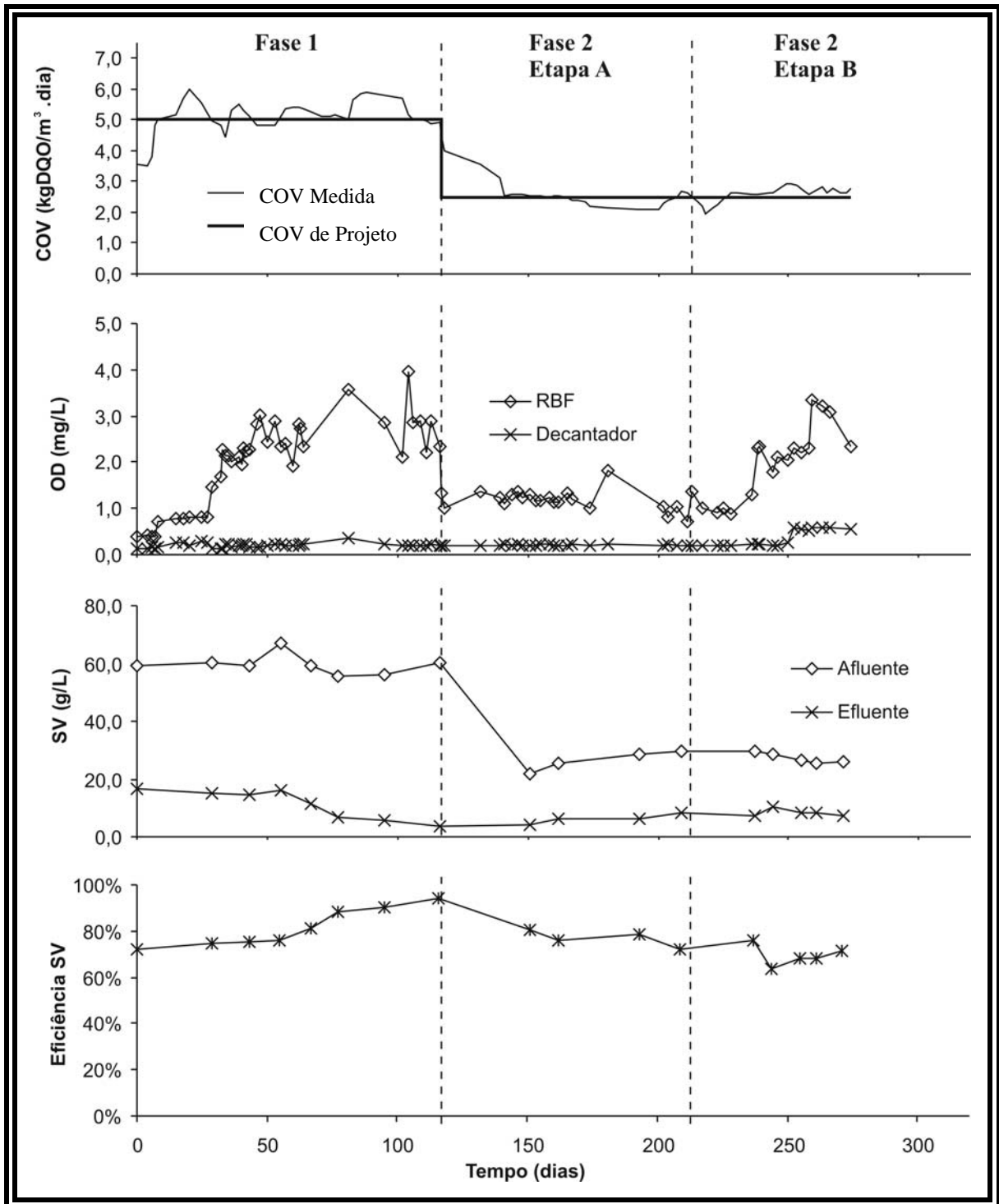


FIGURA 22 – Variações das concentrações de oxigênio dissolvido (OD) no RBF e decantador, concentrações de sólidos voláteis (SV) no afluente e efluente do sistema RBF-decantador e eficiências de remoção de SV observadas durante a operação do RBF.



### 5.3.5.1. DQO

Nas Tabelas 13 e 14 são apresentadas as concentrações médias, máximas e mínimas, número de amostras determinadas (ND), desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV) e intervalo de confiança (IC), com nível de significância de 95% ( $\alpha=0,05$ ), de DQO verificadas no afluente e efluente do RBF ao longo da Fase 1 e durante as Etapas A e B (Fase 2).

TABELA 13 - Número de determinações, concentrações médias, máximas, mínimas, desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança de DQO determinadas no afluente e efluente do RBF durante a Fase 1.

Descrição	Unidade	Afluente	Efluente
ND	und	41	41
Conc. Média	mg/L	62.382	25.748
Conc. Máxima	mg/L	95.286	40.433
Conc. Mínima	mg/L	36.946	12.400
Desvio padrão	mg/L	11.128	6.086
Coeficiente de variação	%	17,8	23,6
Intervalo de confiança	mg/L	$\pm 3.406$	$\pm 1.863$

O afluente ao RBF apresentou grande variação da concentração de DQO, principalmente durante a Fase 1 de operação do RBF, quando comparada à Fase 2. Esta variação era esperada, pois o LCCV é um efluente gerado por matéria prima natural oriunda de diversos locais porém, ainda são necessários estudos específicos para melhor compreensão da correlação entre as características físicas e químicas das cascas de coco e o LCCV.

TABELA 14 - Número de determinações, concentrações médias, máximas, mínimas, desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança de DQO determinadas no afluente e efluente do RBF durante a Fase 2, Etapas A e B.

Descrição	Unidade	Etapa A		Etapa B	
		Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
ND	und	28	28	24	24
Conc. Média	mg/L	29.442	18.277	32.446	3.036
Conc. Máxima	mg/L	33.234	28.133	36.840	7.389
Conc. Mínima	mg/L	21.450	12.433	20.676	1.840
Desvio padrão	mg/L	2.644	3.981	3.724	2.285
Coeficiente de variação	%	9,0	21,8	11,5	12,3
Intervalo de confiança	mg/L	± 979	± 1.475	± 1.490	± 914

Na Tabela 15 são discriminados valores médios, máximos, mínimos, número de amostras determinadas (ND), DP, CV e IC ( $\alpha = 0,05$ ), das eficiências de remoção de DQO observadas para o RBF durante as Fases 1 e 2 (Etapas A e B) de operação.

TABELA 15 - Número de determinações, valores médios, máximos, mínimos, desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança, das eficiências de remoção de DQO obtidas pelo RBF durante as Fases 1 e 2 (Etapas A e B) de operação.

Descrição	Eficiência de remoção de DQO (Fase 1)	Eficiência de remoção de DQO (Fase 2)	
		Etapa A	Etapa B
ND	41	28	24
Média	58,8%	37,6%	90,6%
Máxima	73,8%	58,6%	99,2%
Mínima	41,1%	8,7%	76,5%
Desvio padrão	6,6%	13,4%	7,4%
Coeficiente de variação	11,2%	35,7%	8,2%
Intervalo de confiança	± 2,0%	± 5,0%	± 3,0%

As eficiências de remoção de DQO verificadas no RBF durante a Fase 1 apresentaram valores estáveis, com baixa variação. Porém, durante a Etapa A da Fase 2 ocorreu grande variação das eficiências de remoção de DQO, com valores inferiores aos verificados durante a Fase 1 (Figura 23).

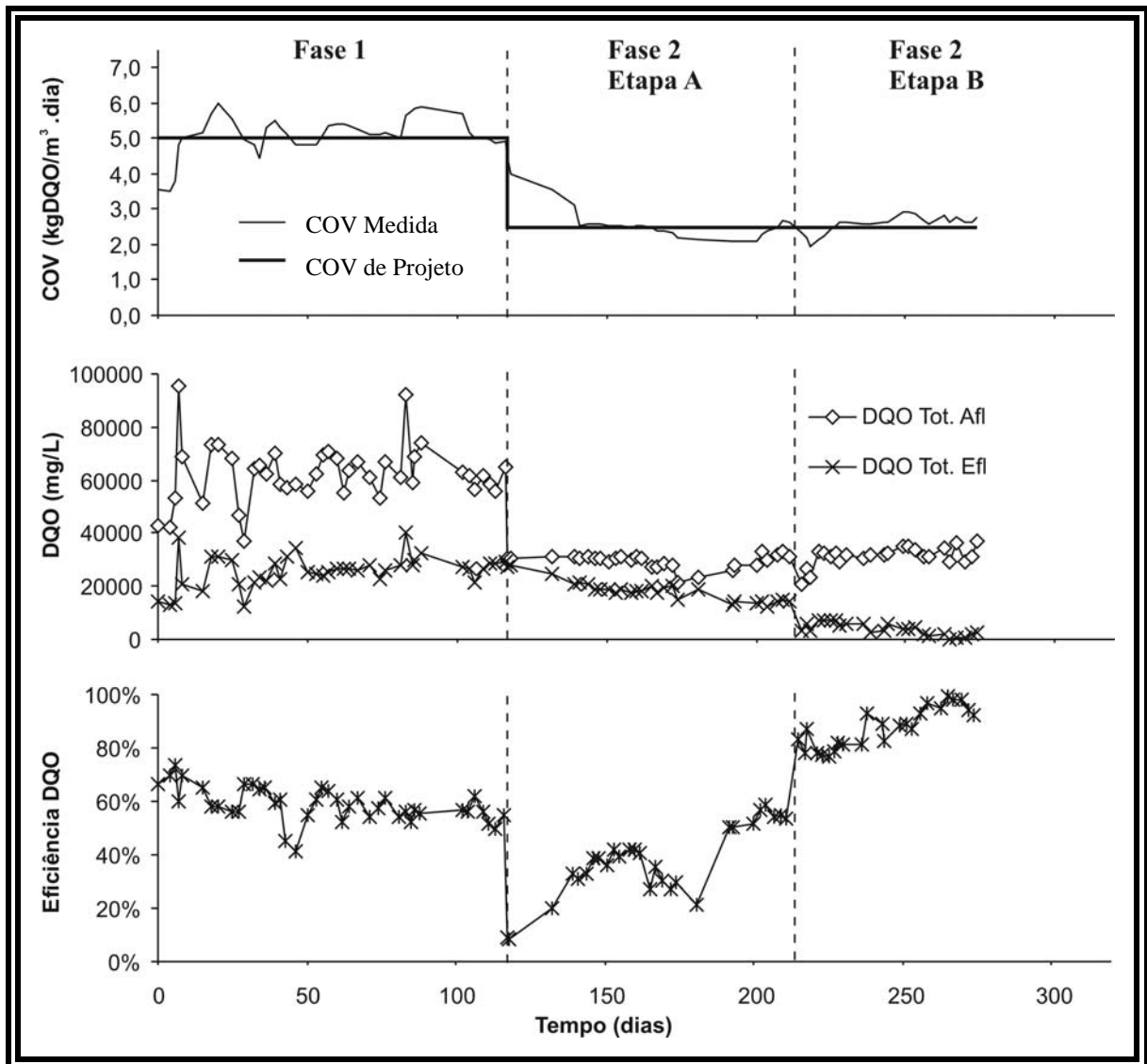


FIGURA 23 – Variações das concentrações de DQO no afluente e efluente do sistema RBF-decantador e eficiências de remoção de DQO observadas durante a operação do RBF.

Com diminuição da COV aplicada ao RBF, passando de 5,0 (Fase 1) para 2,5 KgDQO/m<sup>3</sup>.d (Fase 2), eram esperadas eficiências de remoção de DQO superiores,

durante a Fase 2, em comparação com a Fase 1 visto que, em reatores de biomassa imobilizada, a estabilidade e eficiência de remoção de DQO aumentam quando COV menores são aplicadas, uma vez que a resistência durante a transferência de massa é reduzida (RATUSZENEI et al., 2003)

No entanto, durante a Etapa A (Fase 2) foi observado acúmulo de biomassa no reator que provavelmente prejudicou a atividade biológica visto que, durante a Etapa B (Fase 2), foram observados valores superiores e menor variação da eficiência de remoção de DQO, quando comparados aos resultados alcançados durante a Fase 1 e a Etapa A (Fase 2).

Possivelmente, as remoções de biomassa realizadas durante a Etapa B forneceram condições mais adequadas para o RBF, quando comparadas principalmente, à Etapa A, pois, conforme Lai et al. (2005), o excesso de biomassa em reatores biológicos altera a morfologia das células, resultando em modificações das características biológicas e bioquímicas que geram prejuízos na capacidade dos microrganismos em utilizar substratos durante o metabolismo.

O controle do crescimento de microrganismos, através do descarte de biomassa, promove aumento da atividade superficial do micélio e melhor disponibilidade de oxigênio, bem como compactação do leito, conseqüente melhora da transferência de massa e conversão do substrato, finalizando com aumento do desempenho do reator (PAPAGIANNI & MATTEY, 2004).

Assim, mecanismos de transferência de massa podem ter ocorrido com mais eficiência durante a Etapa B, que resultou no equilíbrio da atividade dos microrganismos no reator, pois elevadas concentrações de biomassa em reatores aeróbios resultam em maior competição pelos nutrientes do meio, minerais e vitaminas, e conseqüente redução dos processos aeróbios envolvidos. Portanto, em sistemas aeróbios devem ser estabelecidas concentrações ótimas de biomassa (LIMA, BASSO & AMORIM, 2001).

Além do descarte de biomassa, outra forma de controlar o crescimento exagerado das leveduras no RBF seria a aplicação de fluxo através de pulsos em freqüências controladas que, segundo Moreira et al. (1996), seria uma das formas de reduzir as restrições difusionais. Porém, as bombas disponíveis não apresentavam esta

configuração, bem como a operação com fluxo intermitente desconfigurava o regime de operação do RBF, que foi adotado como fluxo contínuo.

### 5.3.5.2. Taninos totais

Na Tabela 16 são apresentados valores médios, máximos, mínimos, número de amostras, DP, CV e IC ( $\alpha = 0,05$ ), das eficiências de remoção de taninos totais observadas para o RBF durante a Fase 2 (Etapas A e B) de operação.

TABELA 16 – Número de determinações, valores médios, máximos, mínimos, desvio padrão, coeficiente de variação e intervalos de confiança, das eficiências de remoção de taninos totais obtidas pelo RBF durante a Fase 2 (Etapas A e B) de operação.

Descrição	Eficiência de remoção de taninos totais (Fase 2)	
	Etapa A	Etapa B
ND	7	22
Média	35,4%	14,8%
Máxima	61,2%	28,8%
Mínima	10,6%	2,8%
Desvio padrão	14,8%	5,8%
Coeficiente de variação	41,7%	39,3%
Intervalo de confiança	$\pm 11,0\%$	$\pm 2,4\%$

Como a remoção de DQO durante a Etapa B foi superior à da Etapa A, também eram esperadas remoções maiores de taninos durante a Etapa B em relação à Etapa A uma vez que, taninos podem ser utilizados por leveduras como fonte de carbono. Contudo, os valores da eficiência de remoção de taninos totais obtidos durante a Etapa A foram superiores aos observadas na Etapa B (Figura 24).

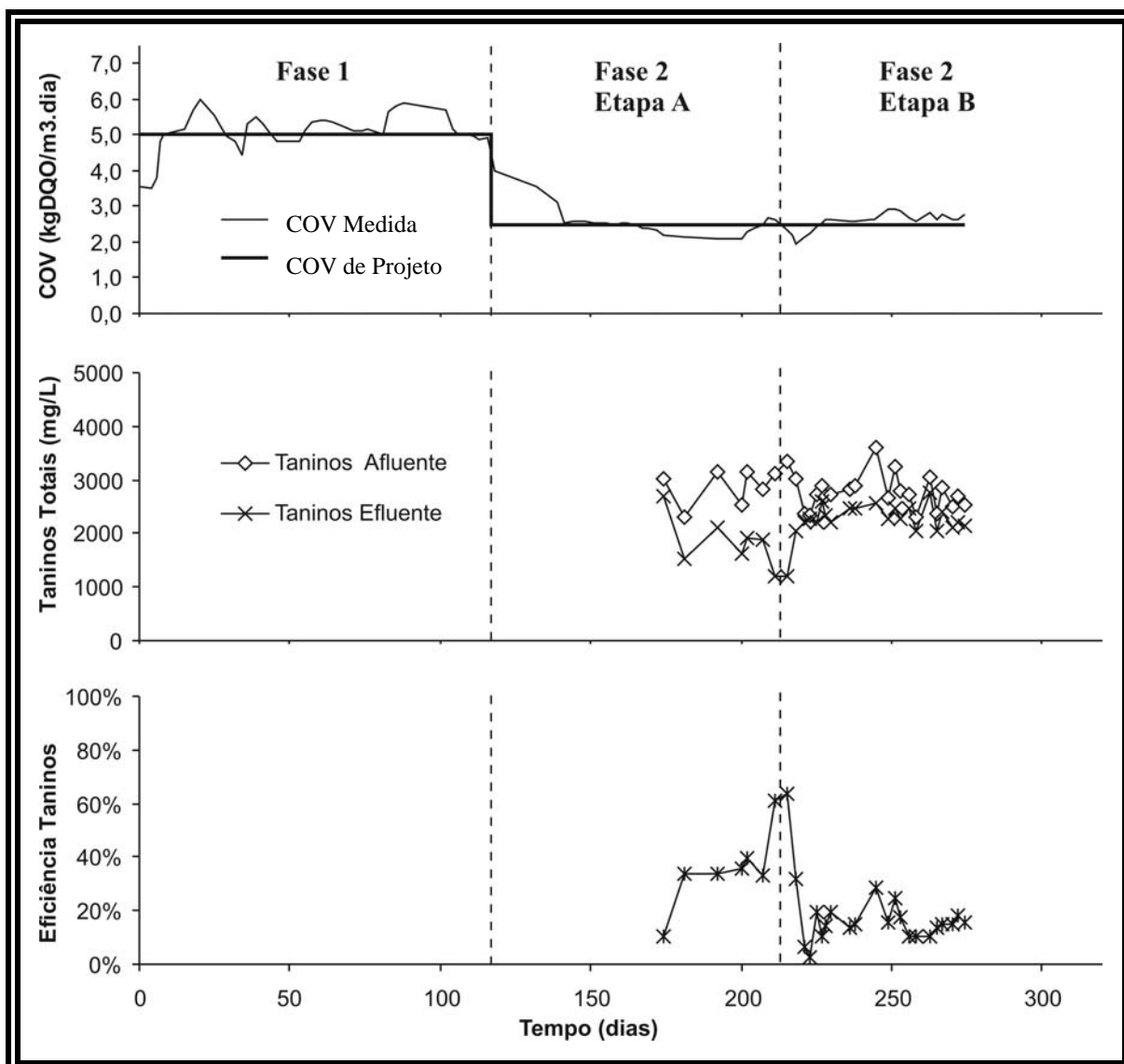


FIGURA 24 – Variações das concentrações de taninos totais no afluente e efluente do sistema RBF-decantador e eficiências de remoção de taninos totais observadas durante a operação do RBF.

No princípio, não foi possível afirmar que os taninos presentes no LCCV foram utilizados como fonte de carbono pelas leveduras estabelecidas no RBF. Assim, baseado na pesquisa desenvolvida por Rodrigues (2006), que realizou ensaios de adsorção de fenóis em espuma de poliuretano e observou que cada grama de espuma de poliuretano adsorvia 0,14g de fenóis, bem como considerando que taninos são compostos fenólicos, possivelmente parte dos taninos estaria sendo adsorvida no meio suporte do RBF.

No entanto, o meio suporte não poderia ser a única explicação para a redução da remoção de taninos que ocorreu entre a Etapa A e B, pois o volume de meio suporte no RBF durante a Etapa B foi o mesmo da Etapa A pois não foram realizadas retiradas de meio suporte durante a operação do RBF.

Outra explicação seria que os taninos podem ser adsorvidos pelo material celular da biomassa e, desta forma, com a retirada da biomassa do RBF na Etapa B, obteve-se valores menores, de remoção de taninos em relação à Etapa A.

Uma outra hipótese seria que taninos foram submetidos a processos oxidativos, ou enzimáticos, mais acentuados no RBF durante a Etapa A em relação à Etapa B porém, não foram realizadas análises compatíveis que esclarecessem processos oxidativos ou enzimáticos que possivelmente poderiam ocorrer durante a operação do RBF. Considerando que o processo envolvido era anaeróbio, Teixeira (2007) também não conseguiu identificar a principal via de remoção de fenóis totais do LCCV. A autora acompanhou durante 10 dias de incubação a variação de compostos fenólicos do LCCV em meio fermentativo e os resultados revelaram que apenas 10% da concentração inicial de fenólicos foi removida. A autora sugeriu que compostos fenólicos presentes no LCCV foram utilizados como fonte de carbono pelas leveduras nativas do LCCV ou, ainda, sofreram oxidação química ou enzimática. Portanto, as vias metabólicas de remoção de taninos do LCCV por leveduras possivelmente não são simples e merecem estudos mais aprimorados.

Finalmente, é mais provável que os taninos não tenham sido utilizados como fonte de carbono pelas leveduras presentes no RBF. As baixas remoções de taninos podem ter sido fruto das próprias características do LCCV uma vez que as leveduras necessitariam gastar energia para metabolizar os taninos, que são compostos de maior massa molecular, em relação aos açúcares que estão presentes naturalmente, e em concentrações elevadas, no LCCV.

O resultado da análise de açúcares, realizada no final da pesquisa, revelou que o RBF removeu 81% dos açúcares totais, e 93% dos açúcares redutores portanto, foi comprovado que as leveduras presentes no RBF estavam adaptadas ao consumo dos açúcares constituintes do LCCV, não necessitando assim de outra fonte de carbono como os taninos.

Além disso, as baixas remoções de taninos observadas no RBF durante a Etapa B (Fase 2) confirmaram os resultados obtidos nos ensaios de biodegradabilidade do LCCV, que também apresentaram baixas remoções de taninos nos reatores controles.

Portanto, leveduras normalmente optam por fontes de carbono mais abundantes e de menores massas moleculares, já que a biodegradação de compostos maiores como taninos e ligninas exige, inicialmente, que estes sejam rompidas em unidades monoméricas menores, antes que sejam absorvidos. Esta ruptura de macromoléculas é um processo que ocorre com dispêndio de energia, pois é realizada no exterior da célula fúngica através da secreção de enzimas catabolizadoras das reações de hidrólise (GRIFFIN, 1994).

Possivelmente, caso ocorressem limitações nas concentrações de açúcares, no LCCV, os taninos seriam removidos por co-metabolismo. No co-metabolismo compostos de maior massa molecular e em maior concentração no efluente são metabolizados na presença de outros de menor massa molecular, e em menor concentração no efluente, que servirão como fonte primária de carbono e energia. De acordo com Boldú (2002), a degradação de compostos recalcitrantes por fungos ocorre por co-metabolismo. Algumas espécies fúngicas degradam ligninas a dióxido de carbono apenas na presença de fontes de carbono prontamente utilizáveis como sacarose ou glicose.

Uma situação hipotética para verificação se seria possível a remoção eficiente de taninos por co-metabolismo seria a aplicação de um sistema de tratamento do LCCV composto por pré-tratamento em reator UASB e pós-tratamento em RBF.

O RBF utilizado nesta pesquisa não apresentou remoções satisfatórias de taninos totais, contudo, as remoções de DQO observadas, principalmente durante a Etapa B (Fase 2) de operação do RBF, podem ser consideradas satisfatórias quando comparadas aos resultados de outros sistemas de tratamento de efluentes contendo fenóis e taninos.

Por exemplo, Ettayebi et al. (2003) avaliaram a utilização de *Candida tropicalis* YMEC14 em reatores em escala de bancada operando em regime de batelada para tratamento de efluente da indústria de azeite de oliva (OMW). Este tipo



de efluente é caracterizado pela presença de fenóis. Os autores aplicaram ciclo de fermentação de 24h, utilizando leveduras imobilizadas e efluente adicionado de co-substrato (hexadecano), alcançaram remoção de DQO com eficiência de 70%, inferiores aos observados durante a operação do RBF na Fase 2, Etapa B. Porém, aqueles autores verificaram remoções de polifenóis de 55%, superiores às remoções de taninos observadas nesta Tese. Este fato pode ser explicado pelas características do efluente da indústria de azeite de oliva, que não apresenta compostos de fácil degradação como os açúcares que estão presentes no LCCV.

Assim, leveduras podem utilizar fenóis tanto em função das opções de fonte de carbono disponíveis, quanto por questões de sobrevivência sendo que, de acordo com as características do efluente, a adição de co-substratos pode incentivar o consumo de fenóis por leveduras através de mecanismos co-metabólicos.

Outros resultados satisfatórios de remoção de DQO e fenóis foram os obtidos por Petruccioli et al. (2002), que utilizaram sistema de lodos ativados em escala de bancada para tratar efluente da indústria de produção de vinho. Este tipo de efluente também é caracterizado pela presença de taninos oriundos das cascas das uvas de fabricação do vinho. Estes autores aplicaram COV variando entre 1,4 e 4,0 kgDQO/m<sup>3</sup>. dia portanto, próximas às empregadas para o RBF, e alcançaram remoções de DQO variando de 96 a 98%, e remoções de polifenóis superiores a 75%.

Outra pesquisa utilizando lodos ativados em escala de bancada, porém tratando efluentes de curtume, foi desenvolvida por He et al. (2006). Os resultados desta pesquisa comprovaram o efeito tóxico de taninos a determinados sistemas de tratamento biológico, pois os autores verificaram que concentrações de 4900 mg/L de taninos no afluente diminuía para 10% a remoção de DQO no reator. As maiores remoções de DQO (52%) e taninos (45%) foram observadas quando o reator foi operado com TDH de 6d e concentrações de 890 mgDQO/L e 490 mg/L de taninos no afluente.

Considerando a possível diferença que pode existir entre os taninos presentes no LCCV, e os presentes nos efluentes de curtume, os resultados da pesquisa de He et al. (2006) demonstraram que, ao contrário do que ocorreu com as leveduras no RBF, as bactérias utilizadas no sistema de lodos ativados não se

adaptaram ao meio contendo concentrações elevadas de taninos. Vale ressaltar que os valores destas concentrações são próximos aos observados para o LCCV.

Apesar de não utilizarem tratamento biológico, a pesquisa desenvolvida por Boye et al. (2005) demonstrou que tratamento químico pode ser eficiente para remoção de taninos. Os autores estudaram o tratamento de soluções sintéticas contendo 2000 mg/L de ácido gálico, e efluentes de extratos vegetais com valores superiores a 100.000 mgDQO/L, submetidos a eletrólise usando eletrodo de sacrifício de Ferro (ânodo). Os experimentos foram realizados na presença de agentes oxidantes como ar, oxigênio e peróxido de hidrogênio (adicionado diretamente a solução). DQO e absorvâncias medidas em UV demonstraram que 94% dos taninos foram removidos das soluções.

No entanto, esses autores destacaram que em algumas etapas da pesquisa a oxidação dos taninos pode não ter sido completa, que possivelmente resultou na geração de compostos de cadeias curtas (basicamente ácidos carboxílicos) que foram responsáveis pelas frações remanescentes de DQO. Assim, e considerando que processos de tratamento químico de efluentes podem ser realizados com mais controle quando comparados a tratamentos biológicos, as observações realizadas por Boye et al. (2005) comprovaram mais uma vez que as vias de remoção de taninos, mesmo em processos químicos, não são facilmente explicadas.

Outro processo químico para tratamento de efluentes com taninos foi realizado por Zenaitis, Sandhu & Duff (2002), que avaliaram a utilização de ozonização como pré e pós-tratamento do lixiviado de armazém de madeiras. O estudo foi realizado em escala de bancada sendo que durante a pré-ozonização ocorreu redução de 10 e 70% para DQO e taninos e ligninas (TL), respectivamente. Os valores iniciais no efluente eram de 8.050 mgDQO/L e 1.550 mgTL/L. Com a pós-ozonização, foram observadas remoções adicionais de 22% para DQO e 68% para TL, considerando as frações remanescentes da pré-ozonização. Apesar dos altos custos dos processos de ozonização, estes resultados demonstraram uma possível via de remoção de taninos do LCCV.

Porém, como ocorreram baixas remoções de taninos, principalmente durante a Etapa B da Fase 2 de operação do RBF, as frações remanescentes de taninos no

efluente do RBF podem ser exploradas comercialmente visto que, segundo Brígida & Rosa (2003) a demanda por taninos é um mercado que está em plena expansão, portanto, a busca por fontes desta substância deve ser explorada.

A análise de correlação entre as variações das eficiências de remoção de DQO, e as eficiências de remoção de taninos totais, no RBF durante a Fase 2 (Etapas A e B), resultou em elevada correlação negativa, com valor de -0,6834 (nível de significância de 95% e intervalo de confiança entre -0,8891 e -0,2473). Este resultado demonstrou que durante a Fase 2 de operação do RBF, na medida em que a eficiência de remoção de DQO aumentava, a eficiência de remoção de taninos totais diminuía.

#### **5.4. RESULTADOS COMUNS AOS REATORES**

Comparados os resultados de DQO obtidos durante a operação do UASB e do RBF, ficou evidenciado que a utilização do UASB para tratamento do LCCV foi mais adequada que a opção por RBF pois, apesar de a média de remoção de DQO (90,6%) obtida durante a Etapa B (Fase 2) de operação do RBF ser superior aos valores médios de remoção de DQO observados durante a operação do UASB, a configuração do RBF com biomassa imobilizada não foi apropriada visto que, na presença do LCCV, ocorreu elevado crescimento de biomassa o que dificultou a operação desse reator. Fato semelhante (excesso de biomassa) não foi verificado durante a operação do UASB. Além disso, a COV alcançada no UASB foi quatro vezes superior à aplicada ao RBF durante a Etapa B (Fase 2).

Portanto, com vistas à operação de reatores em escala real, é mais viável a utilização de reatores UASB para tratamento do LCCV quando comparada à alternativa de emprego de RBF com biomassa imobilizada para tratamento deste efluente.

Ainda vale ressaltar, agora com vistas às características físico-químicas do LCCV e ao atendimento dos padrões legais de lançamento de efluentes que, mesmo demonstrado nesta Tese que o reator UASB foi eficiente e adequado para tratamento do LCCV, esse reator em escala real deve funcionar, assim como geralmente ocorre em estações de tratamento, como uma unidade principal de tratamento seguida de pós-tratamento.

## 6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos nesta pesquisa pode-se concluir que o LCCV:

- ✓ Não é tóxico para o consórcio metanogênico.
- ✓ Não apresentou toxicidade ao *Aspergillus niger*.
- ✓ Pode ser degradado eficientemente tanto por *Aspergillus niger* quanto por leveduras nativas do LCCV.
- ✓ Não causou toxicidade na biomassa dos reatores RBF e UASB durante a pesquisa.

Conclui-se ainda que o reator UASB:

- ✓ Apresentou elevada remoção de DQO durante toda a operação.
- ✓ Removeu parcialmente os taninos presentes no LCCV.
- ✓ Apresentou lodo com baixa biodegradabilidade.
- ✓ Foi adequado para tratamento do LCCV.

O RBF:

- ✓ Apresentou elevada remoção de DQO durante a Fase 2 (Etapa B), porém durante a Fase 1 e Etapa A (Fase 2) a remoção não foi satisfatória.
- ✓ Não necessitaria ser inoculado com *Aspergillus niger*, pois as leveduras presentes no LCCV são mais adaptadas ao LCCV.
- ✓ Apresentou baixas remoções de taninos durante toda a operação.
- ✓ Apresentou crescimento excessivo de biomassa.
- ✓ Configurado com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano não foi adequado para remoção de taninos.

**Conclusão geral:** O reator UASB operado com COV de 10 KgDQO/m<sup>3</sup>.d, TDH de 144 horas e afluente composto por LCCV não autoclavado adicionado de alcalinizante foi mais eficiente para tratamento desse efluente quando comparado ao RBF que, apesar das elevadas remoções de DQO observadas na Fase 2 –Etapa B (COV de 2,5 KgDQO/m<sup>3</sup>.d, TDH de 16 dias e afluente composto por LCCV não autoclavado diluído em água a razão 1:1), apresentou dificuldades operacionais motivadas pelo crescimento excessivo de biomassa e subseqüentes descartes destes excessos.

## 7. RECOMENDAÇÕES

- ✓ Utilizar reatores de biodiscos com fungos como unidade principal de tratamento do LCCV, ou pós-tratamento de efluente de reator UASB.
- ✓ Aplicar sistema de lodos ativados para tratamento de efluente de reator UASB.
- ✓ Avaliar a toxicidade crônica do LCCV a reatores UASB.
- ✓ Examinar a possibilidade de reúso de efluentes de reatores UASB utilizados para tratamento do LCCV.
- ✓ Verificar o aproveitamento energético do metano produzido em reatores UASB empregados para tratamento do LCCV.
- ✓ Realizar ensaios de biodegradabilidade anaeróbia do LCCV.
- ✓ Analisar a viabilidade econômica de aproveitamento comercial dos taninos constituintes de efluentes de reatores UASB aplicados para tratamento do LCCV.
- ✓ Estudar a hipótese da ação de co-substratos do LCCV.
- ✓ Caracterizar as frações de taninos presentes no LCCV.
- ✓ Avançar no estudo microbiológico do LCCV.
- ✓ Realizar estudos de produção de biomassa em RBF utilizados para tratamento do LCCV.
- ✓ Avaliar a remoção de compostos nitrogenados, fosfatos, cloretos e sulfetos aplicando sistemas aeróbios para tratamento do LCCV.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAM, M. Z.; FAKHRU'L-RAZIA, A.; MOLLA, A. H. Biosolids accumulation and biodegradation of domestic wastewater treatment plant sludge by developed liquid state bioconversion process using a batch fermenter. *Water Research*, n. 37, p. 3569–3578, 2003.

ALONSO, V.; MARTÍN, A.; BORJA, R. Anaerobic digestion of wastewater produced in manufacture of cellulosic pulp from wheat straw in immobilized cell bioreactors. *Resource, Conservation and Recycling*. v. 13, p. 129-138, 1995.

ALVES, M. M. A new device to select microcarries for biomas immobilization to an anaerobic consortium. *Water Environment Research*,v. 71, n. 2, p. 209-217, 1999.

ANDERSON, G. K. & YANG, G. Determination of bicarbonate and Total Volatile Acid Concentration in Anaerobic digesters using a simple titration. *Water Environment Research*. v. 164, p. 48-53, 1992.

AOKI, K.; SHINKE, R.; NISHIRA, H. **Purification and some properties of yeast tannase**. *Agricultural and Biological Chemistry*, v. 40, n. 1, p. 79-85, 1976.

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21 ed. Washington American Public Health Association, 2005.

AQUINO, S. F. & STUCKEY, D. C. **Characterization of soluble microbial products (SMP) in effluents from anaerobic reactors**. *Wat. Sci. Tech*. v. 45, n.10, p. 127-132, 2002.

AQUINO, S. F. et al. **Metodologias para determinação da Atividade Metanogênica Específica (AME) em lodos anaeróbios**. *Engenharia Sanitária e Ambiental*. v. 12, n.02, p. 192-201, 2007.

ARAÚJO, W. N.; SILVA, M. H.; MARTINEZ, T. C. N.; BANAS, S. L. B.; SILVEIRA, V. F. Determinação do número de fungos filamentosos e leveduras no queijo Minas comercializado na região metropolitana de Salvador – Bahia. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*,v. 2, n. 1, p. 10-14, 2001.

ARTHAUD, I. D. et al. Avaliação da redução de toxicidade de efluentes de indústria petroquímica após tratamento em reator de leito fixo e fluxo contínuo inoculado com "Aspergillus niger". In: Mário Takayuki Kato (Org.). Gestão e tratamento de resíduos líquidos gerados na cadeia produtiva do petróleo - 1a. Coletânea de Trabalhos Técnicos. 1 ed. Recife. Editora Universitária da UFPE, 2006, p. 199-210.

ASSADI, M. M. & JAHANGIRI, M. R. Kinetic Studies of Decolorization of Textile Wastewater by *Aspergillus niger*. *Desalination*. v. 141, p. 1-6, 2001.

BAJPAI, B.; PALTÍ, S. **Tannin acyl hydrolase activity of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* and *Trichoderma***. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. v. 12, p. 217-220, 1996.

BANKS, C. J. et al. Development of a two phase anaerobic digester for the treatment of mixed abattoir wastes. *Water Science and Technology*, v. 40, n. 1, p. 69-76, 1999.

BARKER, D. J.; STUCKEY, D. **A review of soluble microbial products (SMP) in wastewater treatment systems**. *Water Research*. v. 33, n. 14, p. 3063-3082, 1999.

BATRA, A.; SAXENA, R. K. **Potential tannase producers from the genera *Aspergillus* and *Penicillium***. *Process Biochemistry*. v. 40, p. 1553-1557, 2005.

BEAL, L. L. Avaliação de processo anaeróbio em duas fases tratando efluentes de curtume. Dissertação de Mestrado. Porto Alegre, UFRGS, 1995.

BELLAVER, L. H.; CARVALHO, N. M. B. de; ABRAHÃO NETO, J.; GOMBERT, A. K. Ethanol formation and enzyme activities around glucose-6-phosphate in *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556 exposed to glucose or lactose excess. *FEMS Yeast Research*. v. 4, p. 691-698, 2004.

BENINCASA, M.; ORTOLANI, A. F.; LUCAS JÚNIOR, J. **Biodigestores convencionais**. 25 p. Boletim Técnico 8. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Jaboticabal, 1991.



BHAT, T. K.; SINGH, B.; SHARMA, O. P. **Microbial degradation of tannins: a current perspective.** Biodegradation. v. 9, p. 343-357, 1998.

BHATTACHARYA, S. K., UBEROI, V. & DRONAMRAJU, M. M. **Interaction between acetate fed sulfate reducers and methanogens.** Water Research. v. 30, n. 10, p. 2239-2246, 1996.

BIRCH, R. et al. **Screening of chemicals for anaerobic biodegradability.** Chemosphere. v. 19, n. 10-11, p.1527-1550, 1989.

BORJA, R. et al. Influence of different aerobic pretreatments on the kinetics of anaerobic digestion of olive mill wastewater. Water Research. v. 29, n. 2, p. 489-495, 1995.

BRADOO, S.; GUPTA, R.; SAXENA, R. K. **Screening of extracellular tannase producing fungi:** development of a rapid and simple plate assay. Journal of General and Applied Microbiology, v. 42, p. 325-329, 1996.

BREURE, A. & van ANDEL, J. G. **Hydrolysis and acidogenic fermentation of a protein gelatin in anaerobic conditions culture.** Applied Microbiology and Biotechnology. v. 20, p. 40-45, 1984.

BRÍGIDA, A. I. S.; ROSA, M. F. **Determinação do teor de taninos na casca de coco verde (Cocos nucifera L.).** In: PROCEEDINGS OF THE INTERAMERICAN SOCIETY FOR TROPICAL HORTICULTURE, Fortaleza. v. 47, p. 25-27, 2003.

BRUYNE, T. D.; PIETERS, L.; DEELSTRA, H.; VLIETINCK, A. **Condensed vegetable tannins:** biodiversity in structure and biological activities. Biochemical and Systematic Ecology. v. 27, p. 445-459, 1999.

BRYERS, J. D. & CHARACKLIS, W. G. **Biofilms in water and wastewater treatment.** In: CHARACKLIS, W. G. & MARSHALL, K. C. Editors Biofilms. John Wiley & Sons. Inc. U.S.A.: 671- 696, 1990.

CAIXETA, C. E. T. et al. Slaughterhouse wastewater treatment: evaluation of a new three-phase separation system in a UASB reactor. Bioresource Technology. v. 81, p. 61-69, 2002.

CANNAS, A. **Tannins**: fascinating but something dangerous molecules. Disponível em: <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannins/index.htm>. Acesso em: 02 jan. 2006.

CASSINI, S. T. (Coord.). **Digestão de Resíduos Sólidos Orgânicos e Aproveitamento de Biogás**. Rio de Janeiro: ABES, 196 p, 2003.

CAVALCANTI, P. F. F. **Integrated Application of the UASB reactor and Ponds for domestic Sewage Treatment in Tropical Regions**. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental). Sub-Department of Environmental Technology, Wageningen University, Wageningen, Netherlands, 2003.

CEBALLOS, B. S. O. **Curso de microbiologia dos esgotos e fundamentos microbiológicos dos sistemas de tratamento**. Fortaleza: UFC, 1999.

CHARACKLIS, W. G. et al. **Physiological Ecology in Biofilm Systems**. New York, John Wiley, 1991.

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.

CHERCHINARO, C. A. L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias** – Volume 5. 10<sup>a</sup> ed. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. UFMG. Belo Horizonte. 1997.

CHERCHINARO, C. A. L. et al. **Reatores Anaeróbios de Manta de Lodo**. In: Campos, J. R. (coord.). **Tratamento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo**, ABES, Projeto PROSAB, Rio de Janeiro, p.155-198, 1999.

D'ANNIBALE, A. et al. The biodegradation of recalcitrant effluents from an olive mill by a white-rot fungus. *Journal of Biotechnology*. v. 61, p. 209-218. 1998.

DESCHAMPS, A. M.; LEBEAULT, J. M. **Production of gallic acid from tara (*Caesalpinia spinosa*) tannin by bacterial strains**. *Biotechnology Letters*, v. 6. n. 4, p. 237-241, 1984.

DI IACONI, C. et al. Combined chemical and biological degradation of tannery wastewater by a periodic submerged filter (SBBR). *Water Research*. Bari. Italy. v. 36, p. 2205-2214, 2002.

DIAS, A. A. et al. Activity and elution profile of laccase during biological decolorization and dephenolization of olive mill wastewater. *Bioresource Technology*. v. 92, p. 7-13. 2004.

FACÓ, A. M. **Tratamento de percolado de aterro sanitário através de processo biológico com fungos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 113 p, 2002.

FANG, H. H. P.,; CHUI, H.; LI, Y. & CHEN, T. **Degradation of Fenol in an upflow anaerobic sludge blanket reactor**. *Water Research*. v. 30, n.6, p. 1356-1360, 1996.

FELIX, J. P. L. Remoção de DQO e fenóis totais de água residuária de refinaria de petróleo aplicando reatores aeróbios inoculados com *Aspergillus niger*. 2005. 95 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

FÉLIX, J. P. L. et al. Remoção de DQO e fenóis totais presentes em efluentes de indústria petrolífera utilizando reatores de leito fixo e fluxo contínuo inoculados com "*Aspergillus niger*" AN 400. In: Mário Takayuki Kato. (Org.). *Gestão e tratamento de resíduos líquidos gerados na cadeia produtiva do petróleo - 1a. Coletânea de Trabalhos Técnicos*. 1 ed. Recife: Editora universitária da UFPE, 2006, v. , p. 183-198.

FIELD, J. A. & Lettinga, G. The methanogenic toxicity and anaerobic degradability of a hydrolyzable tannin. *Water Research*. v. 21, n. 3, p. 367–374, 1987.

FIELD, J. A. et al. Methanogenic Toxicity of Bark Tannins and the Anaerobic Biodegradability of Water Soluble Bark Matter. *Water Science and Technology*. v. 20, n. 1, p. 219-240, 1988.

FITZGIBBON, F. et al. The effect of phenolic acids and molasses spent wash concentration on distillery wastewater remediation by fungi. *Process Biochemistry*. v. 33, n. 8, p. 799-803. 1998.

FOUNTOULAKIS, M. S. et al. Removal of phenolics in olive mill wastewater using then white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Water Research*. v. 36, p. 4735-4744, 2002.

FREITAS NETO, M. A. Remoção de nitrito, nitrato e amônia de efluentes de indústrias petrolíferas através de reatores biológicos com fungos inoculados com "Aspergillus niger". 2005. 90 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

FREITAS NETO, M. A. et al. Emprego de reatores biológicos com fungos para remoção de compostos nitrogenados presentes em efluentes de indústria petroquímica. In: Mário Takayuki Kato. (Org.). *Gestão e tratamento de resíduos líquidos gerados na cadeia produtiva do petróleo - 1a. Coletânea de Trabalhos Técnicos*. 1 ed. Recife: Editora universitária da UFPE, 2006, v. , p. 167-182.

FRIGON, J. C.; CIMPOIA, R.; GUIOT, S. R. **Sequential anaerobic/aerobic biotreatment of bark leachate**. *Water Science and Technology*. Canada. v. 48, n. 6, p. 203-209, 2003.

FU, Y. & VIRARAGHAVAN, T. **Removal of Congo Red from an aqueous solution by fungus Aspergillus niger**. *Advances in Environmental Research*. v. 7, n. 1, p. 239-247, 2002.

GARCÍA GARCÍA, J. L., et al. Biodegradation of phenol compounds in vinasse using *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*. *Water Research*. v. 31, n. 8. p. 2005- 2001. 1997.

GARCÍA, I. et al. Removal of phenol compounds from olive mill wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*. *Process Biochemistry*. *Water Research*, v. 33, p. 751-758, 2000.

GIFFONI, D. A. **Filtros Biológicos aplicado ao tratamento de água residuária sintética de laticínios**. 2000. 159 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia

Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hídrica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2000.

GIJZEN, H. J.; SCHOENMAKERS, T. J. M.; CAERTELING, C. G. M.; VOGELPS, G. D. Anaerobic degradation of papermill sludge in a two-phase digester containing rumen microorganisms and colonized polyurethane foam. *Biotechnology Letters*. v. 10, n. 1, p. 61-66, 1988.

GODJEVARGOVA, T. et al. Biodegradation of toxic organic components from industrial phenol production waste water by free and immobilized *Trichosporon cutaneum* R57. *Process Biochemistry*. v. 38 p. 915-920. 2003.

GONÇALVES, R. F. et al. In: CHERCHINARO (coordenador). **Pós Tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios**. PROSAB 2 – Programa de Pesquisas em Saneamento Básico. 1ª ed. Belo Horizonte, 544 p – Capítulo 4. 2001.

GONZÁLEZ, J. S.; RIVERA, A.; BORJA, R. & SÁNCHEZ, E. **Influence of organic volumetric load rate, nutrient balance and alkalinity**: COD rate on the anaerobic sludge granulation an UASB reactor treating sugar cane molasses. *International Biodeterioration & Biodegradation*. v.41, p. 127-131, 1998.

GRIFFIN, D. H. **Fungal Physiology**. Wiley-Liss, New York. 458 p. 1994.

GUERRERO, L.; ALKALAY, D.; KERA, M. **Biodegradabilidad anaeróbia de los efluentes residuales de una fábrica de chocolates**. In: IV SEMINÁRIO-TALLER LATINO AMERICANO SOBRE TRATAMIENTO ANAEROBIO DE AGUAS RESIDUALES, Bucaramanga-Colômbia. Anais.Bucaramanga, noviembre, 1996.

GUIMARÃES, C. et al. Continuous decolorization of a sugar refinery wastewater on a modified rotating biological contactor with *Phanerochaete chrysosporium* immobilized on polyurethane foam disks. *Process Biochemistry*. v. 40, p. 535-540. 2005.

GUIOT, S. R.; PAUSS, A. & COSTERTON, J. W. **A structured model of the anaerobic granule consortium**. *Water Science and Technology*, v. 7. p. 1561-1567. 1992

HAMDI, M. & Garcia, J. L. Anaerobic digestion of olive mill wastewaters after detoxification by prior culture of *Aspergillus niger*. *Process Biochemistry*. v. 28, n. 3, p.155-159, 1993.

HASLAM, E.; LILLEY, T. H. **Natural astringency in foodstuffs: a molecular interpretation**. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 27, n. 1, p. 1-40, 1988.

HE, Q. et al. Biodegradability of tannin-containing wastewater from leather industry. *Biodegradation*. Disponível on line. 2006.

HOPPER, W. & MAHADEVAN, A. **Degradation of catechin by *Bradyrhizobium japonicum***. *Biodegradation*. Netherlands. v. 8, p. 159-165, 1997.

HUYSMAN, P.; van MEENEN, P.; van ASSCHE, P.; VERSTRAETE, W. **Factors affecting colonization of nonporous packing materials in model upflow methanoreactors**. *Biotechnology Letters*. v. 5, p. 643-648, 1983.

HWU, C. Biosorption of long-chain fatty acids in UASB treatment process. *Water Research*. v. 32, n.5, p. 1571-1579, 1998.

INCE, O. Performance of a two-phase anaerobic digestion system when treating dairy wastewater. *Water Research*. v. 32, n. 9, p. 2707-2713, 1998.

ISIDORI, M.; LAVORGNA, M.; NARDELLI, A. & PARRELLA, A. Chemical and toxic evaluation of a biological treatment for olive-oil mill wastewater using commercial microbial formulations. *Applied Microbiology and Biotechnology* .2004

JAWED, M. & TARE, V. Microbial composition assessment of anaerobic biomass through methanogenic activity tests. *Water SA*. v. 25, n.3, p. 345-350. 1999.

JIMÉNEZ, A. M., et al. Aerobic-anaerobic biodegradation of beet molasses alcoholic fermentation wastewater. *Process Biochemistry*. v. 38, p. 1275-1284. 2003.

JORDÃO, E. P. & PESSÔA, C. A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 3ª ed. ABES-RJ, 682p, 1995.

JOU, C. G.; HUANG, G. **A pilot study for oil refinery wastewater treatment using a fixed-film bioreactor**. *Advances in Environmental Research*. v. 7, p. 463-469. 2003.

KAPDAN, I. K. et al. Effect of environmental conditions on biological decolorization of textile dyestuff by *C. versicolor*. *Enzyme and Microbial Technology*. v. 26, p. 381- 387. 2000.

KATO, M. T. et al. **Configurações de Reatores Anaeróbios**. In: Campos, J. R. (coord.). *Tratamento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo*, ABES, Projeto PROSAB, Rio de Janeiro, p. 53-99. 1999.

KLINKOW, N.; OLEKSY-FRENZEL, J.; JEKEL, M. Toxicity-directed fractionation of organics compounds in tannery wastewater with regard to their molecular weight and polarity. *Water Research*. v. 32, n. 9, p. 2583-2592, 1998.

KYRIACOU, A. et al. Combined bioremediation and advanced oxidation of green table olive processing wastewater. *Process Biochemistry*. v. 40, p. 1401-1408. 2005.

LEITÃO, R. C. (2004). **Robustness of UASB reactors treating sewage under tropical conditions**. Tese de Doutorado. Wageningen University, Wageningen, Holanda. 168p.

LEKHA, P. K.; LONSANE, B. K. **Production and application of tannin acyl hydrolase: state of the art**. *Advances in Applied Microbiology*, v. 44, p. 215-260, 1997.

LEMA, J. M. Curso de digestão anaeróbia aplicada a resíduos sólidos e líquidos. Recife-PE. Março, 1997.

LETTINGA, G. et al. Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment especially anaerobic treatment. *Biotechnology and Bioengineering*. v. 22, n. 4, p. 699-734, 1980.

LETTINGA, G. & RINZEMA, A. **Anaerobic treatment of sulfate containing wastewater**. *Bioenvironmental System*. 1985.

LETTINGA, G. **Sustainable Integrated Biological Wastewater Treatment**. Water Sci. Tech. v. 33, p. 85-98, 1996.

LÓPEZ-FIUZA, J. et al. **Anaerobic treatment of natural tannin extracts in UASB reactors**. Water Science and Technology. v. 48, n. 6, p. 157-163, 2003.

LOWRY, O.H.; ROSEMBROUH, N.J.; FARR, A.L.(1947). **Protein measurement with folin fenol reagent**. Journal of Biological Chemistry, 170, 23, 265-270.

MARINS, M. D. M.; URURAHY, A. F. P.; PEREIRA JR, N. **Boletim Técnico Petrobras**, Rio de Janeiro, 41 (3/4): 125-132, jul./dez. 2003.

McLEOD, M. N. **Plant tannins**: their role in forage quality. Nutrition Abstract Reviews, v. 44, p. 803-815, 1974.

McSWEENEY, C. S.; PALMER, B.; MCNEILL, D. M.; KRUISE, D. O. **Microbial interactions with tannins**: nutritional consequences for ruminants. Animal Feed Science and Technology, v. 91, p. 83-93, 2001.

MEDEIROS, G. J. D. Eficiência de dois sistemas UASB-RBF empregando diferentes meios suporte, para o tratamento de efluentes da indústria de castanha do caju. 2003. 90 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003

MENDONÇA, M. C. M.; KATO, M. T.; FLORENCIO, L. **Caracterização e tratabilidade de resíduos líquidos gerados em terminais de armazenamento de derivados de petróleo**. In 22º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, Santa Catarina. 2003.

METCALF & EDDY. **Wastewater Engineering**: Treatment and Reuse. Metcalf & Eddy Inc. pp.1819. 2003.

MGANA, S.M (2003). **Towards Sustainable and Robust On-Site Domestic Wastewater Treatment for All Citizens**. Tese de doutorado. Wageningen University, Wageningen, Holanda. 95p.



MIELGO, I. et al. Biodegradation of a polymeric dye in a pulsed bed bioreactor by immobilised *Phanerochaete chrysosporium*. *Water Research*. v. 36, p. 1896-1901. 2002.

MILLER, G. L. **Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars**. *Analytical Chemistry*, Washington, n. 31, p.2 26-248, 1959.

MINGSHU, L. et al. **Biodegradation of gallotannins and ellagitannins**. *Journal of basic Microbiology*. v. 46, n. 1, p. 68-84, 2006.

MIRANDA, M. P. et al. **Color elimination from molasses wastewater by *Aspergillus niger***. *Bioresource Technology*. v. 57, p. 229-235. 1996.

MITTMANN. **Tratamento Anaeróbio-Aeróbio para efluentes de curtume de acabamento**. Dissertação Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Junho, 1999. Porto Alegre. 1999.

MOLLA, A. H.; FAKHRU'L-RAZI, A.; ABD-AZIZ, S.; HANFI, M. M.; ROYCHOUDHURY, P. K.; ALAM, M. Z. **A potential resource for bioconversion of domestic wastewater sludge**. *Bioresource Technology*, v. 85, p. 263–272, 2002

MONDAL, K. C.; PATI, B. R. Studies on the extracellular tannase from newly isolated *Bacillus licheniformis* KBR 6. *Journal of Basic Microbiology*, v. 4, p. 223-232, 2000.

MONTEGGIA, L. O. **Proposta de metodologia para avaliação do parâmetro “atividade metanogênica específica”**. In: 19º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. Foz do Iguaçu-PR. Anais. Foz do Iguaçu. 1997.

MORENO, G.; CRUZ, A.; BUITRÓN, G. **Influence of So/Wo ratio on anaerobic activity test**. *Water Science and Technology*. v. 40, n. 8, p. 169-176, 1999.

MUELLER-HARVEY, I.; REED, J. D. Identification of phenolic-compounds and their relationships to invitro digestibility of sorghum leaves from bird-resistant and non

bird-resistant varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 60, n. 2, p. 179-196, 1992.

MYRVIK, Q. N. & WEISER, R. S. **Fundamentals of medical bacteriology and mycology**. 2th.Edition. 220p. 1988.

NAGARATHNAMMA, R.; BAJPAI, P. Descolorization and detoxification of extraction-stage effluent from chlorine bleaching of kraft pulp by *Rhizopus oryzae*. *Applied and Environmental Microbiology*. v. 65, n. 3, p. 1018-1082, 1999.

NELSON, K. E. et al. **Chemical and biological assays to evaluate bacterial inhibition by tannins**. *Journal of Chemical Ecology*. Ithaca. New York. v. 23, n. 4, p. 1175-1194, 1997.

OLIVEIRA, E. C. et al. **Degradação de fenóis por leveduras presentes em águas residuárias de refinarias de petróleo**. In: Mário Takayuki Kato. (Org.). *Gestão e tratamento de resíduos líquidos gerados na cadeia produtiva do petróleo - 1a. Coletânea de Trabalhos Técnicos*. Recife: Editora Universitária da UFPE, 2006, p. 133-148.

OSAWA, R.; KUROISO, K.; GOTO, S.; SHIMIZU, A. **Isolation of tannin-degrading Lactobacilli from humans and fermented foods**. *Applied Environmental Microbiology*, v. 66, n. 7, p. 3093-3097, 2000.

PARALES, R. E. & HADDOCK, J. D. **Biocatalytic degradation of pollutants**. *Current Opinion Biotechnology*., v. 15, n. 4, p. 374-379, ago. 2004.

PENNA, J. A. **Estudo da metodologia do teste de atividade metanogênica específica**. São Carlos, 1994. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

PINTO, G. A. S.; LEITE, S. G. F.; TERZI, S. C.; COURI, S. **Selection of tannaseproducing *Aspergillus niger* strains**. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 32, p. 24-26, 2001.

PINTO, G. A. S. **Rotas tecnológicas para o aproveitamento e valorização da casca de coco verde**. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical. Formulário de proposta de projeto de pesquisa. Fortaleza. 2003a.

PINTO, G. A. S. **Produção de tanase por *Aspergillus niger***. Rio de Janeiro, 2003. 208 p. Tese (Doutorado - Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos), Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2003b.

PITARCH, A.; SÁNCHEZ, M.; NOMBELA, C.; GIL, C. Sequential fractionation and two dimensional gel analysis unravels the complexity of the dimorphic fungus *Candida albicans* cell wall proteome. *Molecular Cells Proteomics.*, v. 1, p. 967, 2002.

POERSCH, P. B.; KOETZ, P. R. Sistema de determinação da atividade metanogênica específica de lodos anaeróbios. *Agrociência.* v. 4, n. 3, p. 161-165. 1998.

PORTO, M. T. R. Estudo de um Filtro Biológico Percolador Utilizado para o Pós-Tratamento de Efluentes de um Reator UASB, com Ênfase da Altura do Meio Suporte sobre a Estabilidade do Sistema. 2002. 129f. Dissertação (Mestrado da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte. 2002.

RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; CAMARGO, E. F. M.; ZAIAT, M.; BORZANI, W. **Feasibility of a stirred anaerobic sequencing batch reactor containing immobilized biomass for wastewater treatment.** *Bioresource Technology.* v. 75, n. 2, p. 127-132, 2000.

REEMTSMA, T. & JEKEL, M. Dissolved organics in tannery wastewaters and their alteration by a combined anaerobic and aerobic treatment. *Water Research.* v. 31, n.5, p. 1035-1046, 1997.

RINZEMA, A.; ALPHENUAR, A. & LETTINGA, G. Anaerobic digestion of long-chain fatty acids in UASB and expanded granular sludge bed reactors. *Process Biochemistry.* v.2 8, p. 527-537, 1993.

ROCHA, M. A. G. **Estudos da Atividade Metanogênica de Lodos e da Biodegradabilidade Anaeróbia de Efluentes de Indústrias de Bebidas.** Recife: 2003. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Pós-graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Pernambuco.

RODRIGUES, K. A. **Tratamento biológico de água residuária sintética de laticínios por decomposição fúngica.** 1999. 113 f. Dissertação (Mestrado em

Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 1999.

RODRIGUES, K. A. **Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética**. Tese de doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos – EESC-USP. pp.125, 2006.

ROSA, M. F. et al. **Utilização da casca do coco verde como substrato agrícola**. Embrapa Agroindústria Tropical. p. 24 (Embrapa Agroindústria Tropical. Documento, 52). 2002.

SÁ, I. M. B. **Biotratamento da água residuária de uma indústria de laticínios por ação de fungos decompositores**. 1997. 93 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 1997.

SAMPAIO, G. M. M. S. **Biotratamento de água residuária industrial através de reator UASB seguido por um filtro biológico com fungos**. 2001. 130 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

SAMPAIO, M. M. S. et al. **Pós-tratamento de efluente de um reator UASB através de um reator biológico com fungos**. Engenharia sanitária e ambiental. v. 9, n. 1, p. 73- 81. 2004.

SÁNCHEZ, E.; BORJA, R.; WEILAND, P.; TRAVIESO, L.; MARTÍN, A. Effect of substrate concentration and temperature on the anaerobic digestion of piggery waste in a tropical climate. *Process Biochemistry*. V. 37, p. 483–489, 2001.

SANTAELLA, S. T. **Remoção de cor causada pela presença de substâncias húmicas em águas, empregando tratamento biológico**. 1993. 161 f. Tese (Doutorado em Saneamento Ambiental e Hidráulica) – Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, São Carlos. 1993.

SANTAELLA, S. T. et al. **Remoção de fenol em reatores biológicos com fungos (RBF) utilizando meio suporte e água residuária sintética**. 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Campo Grande-MT. 2005.

SANTOS, A. S. P. **Avaliação de Desempenho de um Filtro Biológico Percolador em Diferentes Meios Suporte Plásticos**. 2005. 81f. (Dissertação de Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE. 2005.

SANTOS, E. M. A. Otimização do Tempo de Detenção de um Sistema UASB seguido de um Filtro Biológico com fungos para tratar efluentes de Indústria de Castanha de Caju. 2001. 129 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

SANTOS, V. L.; LINARDI, V. R. **Biodegradation of phenol by a filamentous fungi isolated from industrial effluents** – identification and degradation potencial. *Process Biochemistry*. v. 39, p. 1001-1006. 2004.

SCALBERT, A. **Antimicrobial properties of tannins**. *Phytochemistry*, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991.

SEGHEZZO et. al. A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. *Bioresource Technology*. v. 65, p. 175-190, 1998.

SELITRENNIKOFF, C. P. **Antifungal Proteins**. *Applied Environment Microbiologic*, v. 67, p. 2883, 2001.

SILVEIRA, I. C. T. & MONTEGGIA, I. O. Caracterização da biomassa metanogênica presente em reatores alimentados por efluentes de baixa carga orgânica através de teste de atividade. VI Oficina e Seminário Latino-Americano de Digestão Anaeróbia. Nov. 2000, Pernambuco.

SOTO, M. et al. **Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up**. *Water Research*. Santiago de Compostela. Spain. v. 27, n. 8, p. 1361-1376, 1993.

SOUSA, O. L. et al. **Tratamento biológico de águas residuárias de indústria petroquímica através de reatores biológicos inoculados com "candida sp"**. In: Mário Takayuki Kato. (Org.). *Gestão e tratamento de resíduos líquidos gerados na cadeia produtiva do petróleo - 1a. Coletânea de Trabalhos Técnicos*. 1 ed. Recife: Editora universitária da UFPE, 2006, v. , p. 149-166.

SPEECE, R. E. **Anarobic biotecnology for industrial wastewaters.** **Vanderbilt University.** Published by Archae Press. United States of America. 1995.

SPEECE, R. E. **Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters.** ARCHAE PRESS.1996.

SPRINGER, A. M. **Industrial Environmental Control: Pulp and Paper Industry.** 2<sup>a</sup> ed. Atlanta, TAPPI PRESS. 1993.

TEIXEIRA, R. B. **Fermentação alcoólica utilizando o Líquido da Casca do Coco Verde como nutrientEs.** 2007. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.

TIRAVANTI, G.; PETRUZZELLI, D. & PASSINO, R. **Pretreatment of tannery wastewaters by an íon exchange process for Cr(III) removal and recovery.** Water Science and Technology. v. 36, n. 2-3, p. 197-207, 1997.

TORKIAN, A. et al. The effect of organic loading rate on the performance of UASB reactor treating slaughterhouse effluent. Resources, Conservation and Recycling. v.40, n.1, p.1-13, 2003.

TUITE, J. **Plant pathological methods.** Lafayette, Indiana (USA). Burgess Publishing Company,239p, 1969.

van HANDEEL, A. C. & LETTINGA, G. **Tratamento anaeróbio de esgotos: um manual para regiões de clima quente.** Campina Grande: Epgraf, 239p, 1994.

van HANDEEL, A. C. & MARAIS, G. **O Comportamento do sistema de lodo ativado.** Campina Grande: Epgraf, 488p, 2000.

VARESCHE, M. B.; ZAIAT, M.; VIEIRA, L. G. T.; VAZOLLER, R. F.; FORESTI, E. **Microbial colonization of polyurethane foam matrices in horizontal-flow anaerobic immobilized-sludge reactor.** Applied Microbiology Biotechnology. v. 48, p. 534-538, 1997.

VASSILEV, et al. Olive mill waste water treatment by immobilized cells of *Aspergillus niger* and its enrichment with soluble phosphate. *Process Biochemistry*. v. 32, n. 7, p. 617-620. 1997.

VAZOLLER, R. F. **Microbiologia de processos biológicos de tratamento**. IV Curso de Tratamento Biológico de Resíduos. Florianópolis. 1999.

VIDAL, G. et al. Anaerobic Biodegradability and Toxicity of Wastewaters from Chlorine and Total Chlorine-free Bleaching of Eucalyptus Kraft Pulps. *Water Research*. v. 31, n.10, p. 2487-2494, 1997.

VIDAL, G. et al. Molecular weight distribution of *Pinus radiata* kraft mill wastewater treated by anaerobic digestion. *Bioresource Technology*. v. 77, n. 2, p. 183-191, 2001.

VIDAL, G. & DIEZ, M. C. **Methanogenic toxicity and continuous anaerobic treatment of wood processing effluents**. *Journal of Environmental Management*. Concepción. Chile. v. 74, p. 317-325, 2005.

VIEIRA, L.G.T., Fazolo A., Zaiat, M., Foresti, E. (2001). Desenvolvimento de reator de leito fixo para remoção de nitrogênio de esgoto sanitário pré-tratado em reator anaeróbio. In: *Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios*. C.A.L. Cherchinaro (Coordenador). Coletânea de trabalhos técnicos vol.1, p.135-142.

VIEIRA, M. J. & MELO, L. F. Intrinsic Kinetics of biofilms formed under turbulent flow and low substrate concentrations. *Bioprocess Engineering*. n. 20, p. 369-375, 1999.

VIJAYARAGHAVAN, K.; MURTHY, D. V. S. **Effect of toxic substances in anaerobic treatment of tannery wastewater**. *Bioprocess Engineering*. Madras. India. v. 15, p. 351-355, 1997.

VIJAYARAGHAVAN, K.; RAMANUJAM, T. K. **Effect of chloride and condensable tannin in anaerobic degradation of tannery wastewaters**. *Bioprocess Engineering*. Madras. India. v. 20, p. 499-503, 1999.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos** – volume 1. 3<sup>a</sup> ed. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. UFMG. Belo Horizonte. 2005.

WIEGANT, W. M. et al. **Full scale experience with tannery water management: an integrate approach.** Water Science and Tecnology. v. 39, n.5, p. 169-176, 1999.

WIRTZ, R. A. & DAGUE, R. R. Laboratory studies on enhancement of granulation in the anaerobic sequencing batch reactor. Water Science Technology. v. 36, p. 279-286, 1997.

YAMADA, H.; ADACHI, O.; WATANABE, M.; SATO, N. **Studies of fungal tannase.** Part I. Formation, purification and catalytic properties of tannase of *Aspergillus flavus*. Agricultural and Biological Chemistry, v. 32, n. 9, p. 1070-1078, 1968.

YAMAGUCHI, M. M. (2003), **Seleção, produção e caracterização da enzima quitinase.** Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil

ZAIAT, M. (1996). **Desenvolvimento de Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF) para Tratamento de Águas Residuárias.** São Carlos. 157p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo

ZHANG, F. M. et al. Decolourization of cotton bleaching effluent with wood rotting fungus. Water Research. v. 33, n. 4, p. 919-928, 1999.7