



**LUANA VIANA COSTA E SILVA**

**TRATAMENTO AERÓBIO DE EFLUENTE SINTÉTICO DE LATICÍNIO USANDO  
REATORES INOCULADOS COM FUNGOS *Aspergillus niger* AN 400**

**FORTALEZA – CEARÁ**

**2010**



**LUANA VIANA COSTA E SILVA**

**TRATAMENTO AERÓBIO DE EFLUENTE SINTÉTICO DE LATICÍNIO USANDO  
REATORES INOCULADOS COM FUNGOS *Aspergillus niger* AN 400**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal do Ceará como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia e Gestão Ambiental.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Glória Maria Marinho Silva

**FORTALEZA – CEARÁ**

**AGOSTO de 2010**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Instituto Federal do Ceará - IFCE  
Sistema de Bibliotecas - SIBI  
Ficha catalográfica elaborada pelo SIBI/IFCE, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S586t Silva, Luana Viana Costa e.  
Tratamento Aeróbio de efluente sintético de laticínio usando reatores inoculados com fungos aspergillus niger AN 400 / Luana Viana Costa e Silva. - 2010.  
116 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal do Ceará, Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental, Campus Fortaleza, 2010.  
Orientação: Profa. Dra. Glória Maria Marinho Silva.
1. Gestão ambiental - Dissertação. 2. Tratamento Aeróbio - Reatores em Batelada. 3. Água Residuária Sintética - Laticínio. I. Título.

CDD 628

---

**LUANA VIANA COSTA E SILVA**

**TRATAMENTO AERÓBIO DE EFLUENTE SINTÉTICO DE LATICÍNIO USANDO  
REATORES INOCULADOS COM FUNGOS *Aspergillus niger* AN 400**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal do Ceará como requisito para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia e Gestão Ambiental.

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

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profª. Dra. GLÓRIA MARIA MARINHO SILVA (Orientador)  
Instituto Federal do Ceará - IFCE

---

Prof. Dr. RINALDO DOS SANTOS ARAÚJO  
Instituto Federal do Ceará - IFCE

---

Prof. Dr. ANDRÉ LUÍS CALADO ARAÚJO  
Instituto Federal do Rio Grande do Norte - IFRN

*À minha família.*

"Os poderosos podem matar uma, duas ou três rosas,  
mas nunca deterão a primavera inteira".  
Che Guevara

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.

Aos meus pais Luiz e Noemi, os coadjuvantes da minha caminhada acadêmica pelo carinho, dedicação e exemplos de vida.

Às minhas irmãs Renata e Camila, pela amizade de toda a vida.

Ao grande amor da minha vida Thales, que sempre junto de mim, com muita paciência e amor, compartilhou de todas as alegrias e tristezas dessa longa jornada de estudo e trabalho.

Ao meu filho Cauã, que muitas vezes precisou compreender os dias de ausência física e que sempre me reabastece com sua alegria e afeto.

Às minhas avós, tias e tios, primos e primas, enfim, a família Lopes Pereira e Fontenelle, pelas orações incansáveis.

À família Martins Fernandes, principalmente à minha sogra Daisy, que me dão apoio incondicional.

À família Sá Leitão, pela torcida.

À professora Mabel Calina pela prontidão nos momentos mais difíceis do mestrado. Suas palavras me mostraram a luz no fim do túnel. Seus ensinamentos me trouxeram perseverança nos dias em que mais precisava.

Às minhas amigas, principalmente Ticiane e Pinagé, pelo conforto espiritual nos momentos de desabafo.

À minha orientadora e professora Glória Maria Marinho Silva por sua dedicação profissional e por seus essenciais direcionamentos educacionais.

Ao professor Rinaldo, pelo empenho na elaboração do estudo da cinética.

À professora Kelly Rodrigues pelo espaço concedido no Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM).

Aos professores integrantes do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental, principalmente a professora Nájila e ao professor Adeildo, pela sabedoria e humildade na transmissão de seus conhecimentos.

A Garibalde e a todos que o auxiliaram, pela ajuda na confecção do reator.

A Marcus Vinícius, por sua paciência e prontidão, e a todos os integrantes do LATAM que conviveram comigo por esse período, principalmente aqueles que me ajudaram diretamente nos experimentos, Isabel, Lucas, Luanna, Lorena, Kamylla e João Paulo.

Aos colegas de mestrado pelos momentos de estudo e trocas de conhecimentos.

À banca da qualificação, pelas valiosas sugestões.

À CAPES pela bolsa concedida.

## RESUMO

---

Os efluentes de laticínios são caracterizados pela elevada concentração de matéria orgânica, na forma de carboidratos, proteínas e gorduras, que, se não removida adequadamente, podem causar sérios problemas ambientais. Neste intuito, o presente trabalho estudou a remoção de matéria orgânica e nutrientes de efluente sintético de laticínio disposto, em primeira fase, em reatores em batelada e, em segunda fase, em reator de fluxo contínuo e ascendente. Na fase em batelada, o sistema foi composto por dois reatores controle, dois apenas inoculados com *Aspergillus niger* AN 400 e dois inoculados com a mesma espécie e com adição de sacarose, sendo PET e espuma de poliuretano o suporte de imobilização, em cada tipo de montagem. Esta etapa foi realizada em quatro ciclos de 7 dias, totalizando 28 dias de operação. O reator contínuo funcionou durante 106 dias, inoculado com o fungo e preenchido com PET triturado como material suporte. Os resultados da batelada mostraram eficiência quanto a remoção de DQO, atingindo o máximo de 71,7% e 64,8% para o RFe e o RFp, respectivamente, no 4º ciclo, e o mínimo de 23,4% e 20,4% para o RFp e o RFSp no 2º ciclo. Atingiram remoções satisfatórias quanto a nitrato e ortofosfato, entretanto em relação à amônia, verificou-se aumento nas concentrações efluente desta variável. O tratamento em fluxo contínuo apresentou remoção global de 75% quanto à DQO em TDH de 8 h, resultados pouco promissores em relação à remoção de ortofosfato e amônia, todavia, em relação a nitrato, conseguiu remoção média de 68%.

**Palavras-Chaves:** *Aspergillus niger*; DQO; nutrientes; batelada; fluxo contínuo.

---

## ABSTRACT

---

The dairy effluents are characterized by high concentration of organic matter in the form of carbohydrates, proteins and fats, which, if not removed properly, can cause serious environmental problems. To this end, this paper studied the removal of organic matter and nutrients from synthetic wastewater dairy provisions in the first phase in batch reactors and in the second phase, in continuous flow reactor and up. In the batch phase, the system was composed of two control reactors, two only inoculated with *Aspergillus niger* AN 400 and two inoculated with the same species and with the addition of sucrose, being PET and polyurethane the support for immobilization, in each type assembly. This step was performed in four periods of 7 days, totaling 28 days of operation. The reactor operated continuously for 106 days, inoculated with the fungus and filled with crushed PET as material support. The results of the batch showed efficiency on COD reduction, reaching a maximum of 71.7% and 64.8% for the RFe and RFP, respectively, in the 4th cycle, and a minimum of 23.4% and 20.4% for the RFP and RFSp the 2nd cycle. Removals achieved satisfactory as nitrate and orthophosphate, but in relation to ammonia, there was an increase in effluent concentrations of this variable. The treatment presented in streaming global removal of 75% for the COD at HRT of 8 h, some promising results regarding the removal of orthophosphate and ammonia, however, for nitrate, achieved average removal of 68%.

**Keywords:** *Aspergillus niger*, COD, nutrients, batch, continuous flow.

---

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1</b> - Processos de beneficiamento do leite.	5
<b>Figura 2</b> - Destinação das águas pluviais e servidas nos laticínios visitados em MG.	10
<b>Figura 3</b> - Disposição esquemática dos reatores em batelada.	36
<b>Figura 4</b> - Fotografia do reator contínuo.	38
<b>Figura 5</b> - Variação da concentração de DQO no 1º ciclo dos reatores em batelada.	43
<b>Figura 6</b> - Variação da concentração de DQO no 2º ciclo dos reatores em batelada.	45
<b>Figura 7</b> - Variação da concentração de DQO no 3º ciclo dos reatores em batelada.	48
<b>Figura 8</b> - Variação da concentração de DQO no 4º ciclo dos reatores em batelada.	50
<b>Figura 9</b> - Valores de pH dos reatores com espuma no 1º ciclo.	53
<b>Figura 10</b> - Valores de pH dos reatores com PET no 1º ciclo.	54
<b>Figura 11</b> - Valores de pH dos reatores com espuma no 2º ciclo.	55
<b>Figura 12</b> - Valores de pH dos reatores com PET no 2º ciclo.	56
<b>Figura 13</b> - Valores de pH dos reatores com espuma no 3º ciclo.	57
<b>Figura 14</b> - Valores de pH dos reatores com PET no 3º ciclo.	58
<b>Figura 15</b> - Valores de pH dos reatores com espuma no 4º ciclo.	59
<b>Figura 16</b> - Valores de pH dos reatores com PET no 4º ciclo.	60
<b>Figura 17</b> - Médias dos valores de pH nos quatro ciclos dos reatores em batelada.	60
<b>Figura 18</b> - Remoção de DQO.	70
<b>Figura 19</b> - Fotografia de “pontos mortos”.	71
<b>Figura 20</b> - Valores dos pH.	73
<b>Figura 21</b> - Variação da concentração de nitrato.	76
<b>Figura 22</b> - Porcentagens de remoção de nitrato.	77
<b>Figura 23</b> - Variação da concentração de amônia.	78
<b>Figura 24</b> - Comparação entre as concentrações de nitrato e amônia efluentes.	80
<b>Figura 25</b> - Variação da concentração de ortofosfato.	81
<b>Figura 26</b> - Reator contínuo antes e depois do escurecimento.	83

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> - Principais efluentes líquidos da indústria de laticínio.	9
<b>Tabela 2</b> - Parâmetros físico-químicos e padrões de lançamento do efluente.	12
<b>Tabela 3</b> - Tecnologias para tratamento de águas residuárias de laticínios.	14
<b>Tabela 4</b> - Macronutrientes e sua função no metabolismo fúngico.	18
<b>Tabela 5</b> - Micronutrientes requeridos pelos fungos, suas fontes e funções.	19
<b>Tabela 6</b> - <i>Aspergillus niger</i> na remoção de compostos poluentes.	22
<b>Tabela 7</b> - Exemplos de materiais suporte.	31
<b>Tabela 8</b> - Composição da água sintética de laticínio.	33
<b>Tabela 9</b> - Descrição das siglas empregadas nos reatores em batelada.	36
<b>Tabela 10</b> - Variáveis determinadas e métodos utilizados.	41
<b>Tabela 11</b> - Caracterização da água residuária sintética da batelada.	42
<b>Tabela 12</b> - Valores de remoção de DQO e da constante cinética de primeira ordem na degradação de efluente de laticínio (1º ciclo) por <i>Aspergillus niger</i> AN 400 a 27°C e TR de 96 h.	44
<b>Tabela 13</b> - Valores de remoção de DQO e da constante cinética de primeira ordem na degradação de efluente de laticínio (2º ciclo) por <i>Aspergillus niger</i> AN 400 a 27°C e TR de 96 h.	47
<b>Tabela 14</b> - Valores de remoção de DQO e da constante cinética de primeira ordem na degradação de efluente de laticínio (3º ciclo) por <i>Aspergillus niger</i> AN 400 a 27°C e TR de 72 h.	49
<b>Tabela 15</b> - Valores de remoção de DQO e da constante cinética de primeira ordem na degradação de efluente de laticínio (4º ciclo) por <i>Aspergillus niger</i> AN 400 a 27°C e TR de 72 h.	52
<b>Tabela 16</b> - Concentrações de amônia nos ciclos dos reatores com espuma.	62
<b>Tabela 17</b> - Concentrações de nitrato nos ciclos dos reatores com espuma.	62
<b>Tabela 18</b> - Concentrações de amônia nos ciclos dos reatores com PET.	63
<b>Tabela 19</b> - Concentrações de nitrato nos ciclos dos reatores com PET.	63
<b>Tabela 20</b> - Concentrações de ortofosfato nos ciclos dos reatores com espuma.	66
<b>Tabela 21</b> - Concentrações de ortofosfato nos ciclos dos reatores com PET.	66
<b>Tabela 22</b> - Caracterização da água sintética de laticínio do contínuo.	68

**LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS**

APHA	Standard methods for the examination of water and wastewater
BPR	Remoção biológica de fósforo
CAPEG	Cooperativa Agropecuária Guarany Ltda
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
COT	Carbono orgânico total
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DQO	Demanda química de oxigênio
ETE	Estação de tratamento de esgoto
IFCE	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará
<i>K</i>	Constante de velocidade
LATAM	Laboratório de tecnologia ambiental
LCC	Líquido da castanha de caju
OD	Oxigênio dissolvido
PET	Polietileno Teraftalato
pH	Potencial hidrogeniônico
RAFA	Reator anaeróbio de fluxo ascendente
RBF	Reator Biológico com fungos
RC	Reatores controles
RF	Reatores fúngicos
RFS	Reatores fúngicos com sacarose
RFSS	Reatores fúngicos sem sacarose
RHFC's	Reatores híbridos de fluxo contínuo

RHBS's	Reator híbrido em batelada sequencial
RLFSB	Reatores de leito fluidizado sequencial em batelada
RSB	Reatores sequencial por batelada
SBR	Reatores em batelada
SEBRAE	Serviço de Apoio a Micro e Pequenas Empresas
TDH	Tempo de detenção hidráulica
TR	Tempo de reação
UASB	Upflow anaerobic sludge blanket
UFC	Unidades formadoras de colônias

**SUMÁRIO**

<b>RESUMO</b>	vii
<b>ABSTRACT</b>	viii
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	ix
<b>LISTA DE TABELAS</b>	x
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS</b>	xi
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2 OBJETIVOS</b>	3
<b>2.1 Geral</b>	3
<b>2.2 Específicos</b>	3
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	4
<b>3.1 Indústria de Laticínios</b>	4
<b>3.2 Fungos</b>	16
<b>3.3 Reatores Biológicos</b>	24
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b>	33
<b>4.1 Composição da Água Residuária Sintética de Laticínio</b>	33
<b>4.2 Inoculação do Fungo</b>	34
<b>4.3 Reatores em Batelada Sequencial</b>	35
<b>4.4 Reatores de Fluxo Contínuo e Ascendente</b>	37
<b>4.5 Método de Análise do Crescimento Microbiano</b>	40
<b>4.6 Análise das Variáveis do Processo</b>	41
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	42
<b>5.1 Tratamento Aeróbio nos Reatores em Batelada</b>	42
<b>5.2 Reator de Fluxo Contínuo</b>	68
<b>5.3 Análise do Crescimento Microbiano</b>	82
<b>6 CONCLUSÕES</b>	85
<b>7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b>	86
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	87

## 1 INTRODUÇÃO

As águas residuárias industriais de laticínios são despejos líquidos que contêm quantidades variadas de matéria-prima diluída representada por compostos protéicos, carboidratos, materiais sólidos flutuantes (principalmente graxas), produtos químicos ácidos e alcalinos, detergentes, desinfetantes, lubrificantes (BRAILE E CAVALCANTI, 1993) e eventualmente organismos patogênicos (CATÃO *et al.* 2000). Efluentes contendo elevados teores de lipídeos, como os provenientes de laticínios, causam grandes danos ao meio ambiente, como a formação de filmes de óleo nas superfícies d'água, que impedem a difusão de oxigênio do ar e promovem a mortandade da vida aquática (CAMPOS *et al.* 2004). Águas residuárias de laticínios contêm níveis mais elevados de nutrientes e DBO do que os resíduos urbanos (GEARY E MOORE, 1999), sendo a matéria orgânica considerada o principal agente poluidor desses efluentes.

A geração de enormes volumes de efluentes e a operação de estações de tratamento mal projetadas ou não compatíveis com o porte da empresa pode ocasionar além de prejuízos (SILVA, 2006), danos ambientais irreversíveis. Devido à necessidade cada vez maior de preservar nossos recursos naturais e, conseqüentemente o homem, buscam-se tecnologias que minimizem os impactos causados pela presença desses compostos no meio ambiente.

O biotratamento de efluentes surge, portanto, como uma forma de minimizar o potencial de degradação, principalmente, das águas residuárias industriais, inclusive as de produtos lácteos. Estudos recentes mostram a importância dos fungos nesta missão por atuarem em processos de transformação dos resíduos orgânicos (SAMPAIO *et al.* 2004).

Os fungos produzem enzimas extracelulares que quebram moléculas complexas, como as encontradas em gorduras animais, e as tornam mais facilmente assimiláveis ao seu metabolismo (PINHEIRO, 2007). As transformações que ocorrem no metabolismo interior fúngico, reguladas por vários tipos de enzimas, e a possibilidade de mudança das vias metabólicas, conferem aos fungos um metabolismo muito flexível, o que os deixam aptos para a assimilação de uma grande quantidade de substâncias, inclusive compostos nitrogenados e fosfatados (JENNINGNS, 1995). De acordo com Griffin (1994) os fungos são importantes como primeiro agente de decaimento nos ciclos do carbono e de alguns nutrientes como nitrogênio e fósforo.

Além disso, segundo Rodrigues (2006), as capacidades dos fungos em suportar mudanças bruscas na concentração de matéria orgânica, de tolerar grandes variações de pH e de temperatura, e de se adequar a variações e escassez de umidade e de oxigênio são

indicadores da viabilidade do processo de tratamento com reatores fúngicos. Contudo, afirma, também, que pouco ainda se sabe a respeito das atividades metabólicas desses microorganismos quando empregados em processos de tratamento biológico de águas residuárias, o que torna necessário o aprofundamento do estudo dessa nova tecnologia.

Assim, no intuito de buscar a aplicação do conceito de desenvolvimento sustentável e preservar os recursos hídricos, novas tecnologias para o tratamento das águas residuárias industriais vêm sendo estudadas.

Na presente pesquisa, estudou-se a capacidade do fungo *Aspergillus niger* AN 400 de remover matéria orgânica e nutriente de água residuária sintética de laticínio em reatores em batelada e em fluxo contínuo e ascendente usando espumas de poliuretano e PET como suporte.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Avaliar a eficiência do tratamento biológico de efluente sintético de laticínio em reatores aeróbios inoculados com esporos fúngicos da espécie *Aspergillus niger* AN 400, imobilizados em espuma de poliuretano e PET triturado.

### 2.2 Específicos

- Analisar o desenvolvimento da espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 frente à composição do meio e às condições operacionais dos sistemas em batelada e contínuo.
- Verificar o desempenho do *Aspergillus niger* AN 400 na remoção de matéria orgânica, em termos de DQO e nutrientes nos reatores em batelada e em fluxo contínuo e ascendente.
- Determinar a influência da sacarose como fonte exógena primária de carbono, no tocante à remoção de matéria orgânica no reator operado em batelada.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Indústria de Laticínios

##### *A história do consumo de leite.*

A descoberta do leite pelo *Homo sapiens* ocorreu, provavelmente, segundo TETRAPARK (2006), com as cabras, fato testemunhado em desenhos rupestres, datados de 20.000 a.C., nos quais as cabras são representadas como animais frequentemente caçados. Contudo, o primeiro registro histórico e concreto da utilização do leite como alimento foi uma peça descoberta em Tell Ubaid, atual Iraque, datada de 3.100 a.C., conhecida como Friso dos ordenhadores, na qual podem ser constatadas tanto a ordenha como a filtragem do leite.

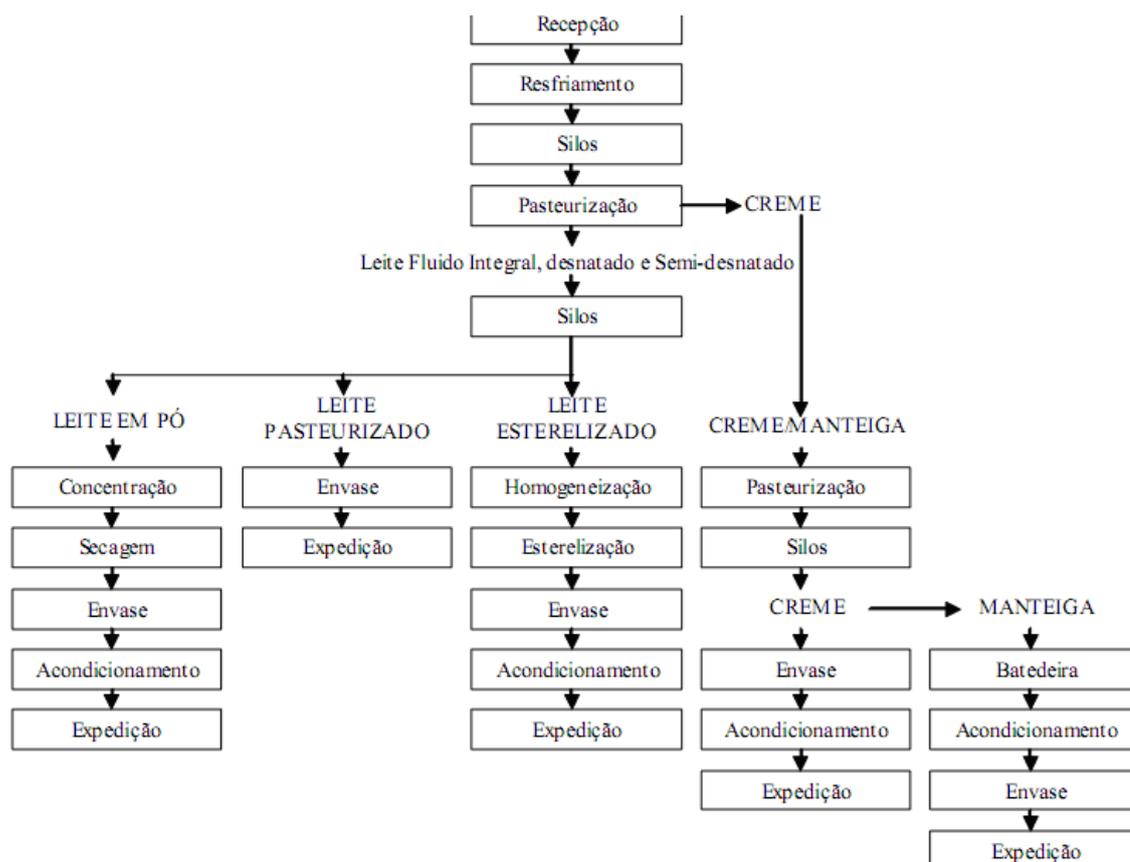
O leite fluido passou a ser consumido, em âmbito familiar, com as invasões bárbaras e a queda do império romano ocidental, por volta do século V, embora, devido às péssimas condições de higiene, não fosse consumido fora do local de produção. Foram os mosteiros, os responsáveis pela manutenção e aprimoramento das técnicas de criação de gado leiteiro e pela manufatura de queijos. Em 1267, na região de Doubs, na França, nasceram os primeiros “fruitieres” (antigas cooperativas de laticínios), que produziam queijos enormes. Em 1866, conheceu-se a produção de margarina, composta de banha de boi fundida e emulsionada por uma mistura de água e caseína de leite (TETRAPARK, 2006).

Com a industrialização e urbanização rápida de regiões da Europa e dos EUA, em 1859, o leite de vaca foi, pela primeira vez, pasteurizado e, em 1886, esterilizado (CRESPIN, 1992; GREINER, 1998). A lata de metal foi inventada, conforme Vinagre *et al.* (2001), em meados de 1900 e, em 1911, foi obtido o leite em pó, dando início a era do aleitamento artificial.

Atualmente, o leite é um alimento consumido em escala mundial, tanto para o consumo direto como para a produção de seus vários derivados.

##### *O processo de beneficiamento do leite.*

Segundo o Serviço de Apoio a Micro e Pequenas Empresas - SEBRAE (1999), os Laticínios (Indústrias de beneficiamento de Leite) produzem basicamente leite pasteurizado, queijos (prato, mussarela, minas frescal) e manteiga. Na Figura 1 é apresentado o fluxograma dos processos da indústria de laticínios.



**Figura 1 - Processos de beneficiamento do leite. Fonte: Adaptado de Brião (2007).**

Como etapas comuns a todos os processos, independentemente do produto final gerado, têm-se: Recepção e Pesagem; Retirada de Amostra; Filtragens (Primária e Secundária); Clarificação; Pasteurização; e Embalagem ou Envio para processamento de subprodutos, como o queijo e a manteiga. Em seguida, essas etapas são detalhadas, segundo SEBRAE (1999).

Recepção da matéria-prima e pesagem.

O leite, geralmente, chega à plataforma de recepção em latões específicos não climatizados onde são pesados e de onde se coletam amostras para análises laboratoriais, além de serem examinadas suas características organolépticas, ou seja, cor, aspecto e cheiro, pelo recepcionista. Caso detectem-se anormalidades, o leite é separado do restante.

Hoje, a tendência de armazenamento dessa matéria-prima, do produtor até a usina de beneficiamento, é em caminhões climatizados que recolhem o leite diretamente no produtor, que por sua vez, mantém o leite em tanques refrigerados, o que, devido à alta perecibilidade

dessa matéria-prima, mantém suas qualidades mais preservadas (neste caso tanto a pesagem quanto os exames básicos são feitos no local de coleta).

#### Filtragem primária.

A primeira filtragem consiste em peneirar o leite para retirar as impurezas visíveis a olho nu, antes de colocá-lo no tanque de recepção.

#### Filtragem secundária.

A segunda filtragem visa reter as impurezas menores, aparentemente invisíveis. O leite é filtrado por uma tela de malha finíssima e colocado na tubulação da bomba centrífuga de sucção.

#### Clarificação

Esta operação pode ser feita em máquina especial (filtro centrífugo), ou ainda através da desnatadeira-padronizadora, que clarifica o leite retirando as impurezas não retiradas na etapa anterior. A desnatadeira-padronizadora, além de clarificar o leite, padroniza-o com o teor de gordura necessário para a produção de leites Tipo C e B (caso não seja retirada nenhuma gordura o leite será Tipo A), queijos, leite 100% desnatado, etc.

#### Pasteurização

A pasteurização é o tratamento térmico do leite mediante temperatura inferior ao ponto de ebulição (71 a 75°C), durante um período determinado, e imediato resfriamento, promovendo, assim, um choque térmico. Nesta fase os microrganismos patogênicos contidos no leite são destruídos assim como quase toda a flora bacteriana presente, havendo um mínimo de mudanças em sua estrutura físico-química e propriedades organolépticas.

#### Embalagem

Consiste no acondicionamento do leite em saquinhos de polietileno (normalmente de 1 litro de capacidade) selados automaticamente ou em embalagens longa vida de mesma capacidade.

#### *Águas residuárias de indústrias de laticínios.*

O leite, segundo Behmer (1987) é uma emulsão de glóbulos graxos, estabilizada por substâncias orgânicas albuminóides num soro que contém em solução, açúcar (lactose), matérias protéicas, sais minerais e orgânicos e pequenas quantidades de vários produtos como a lecitina, uréia, aminoácidos, ácidos cítrico, láctico, acético, álcool, lactocromo, vitaminas e

enzimas. Apresenta cor branca, ligeiramente amarelada, odor suave, gosto adocicado e é fonte de proteínas e minerais, sendo essencial à manutenção da vida dos mamíferos.

De acordo com Santos (2009) este produto é muito sensível a ação de vários micro-organismos, sendo, por isso, excelente meio de cultura.

Braile e Cavalcanti (1993) afirmaram que as águas residuárias industriais de laticínios são despejos líquidos que contêm quantidades variadas dessa matéria-prima diluída (consideradas perdas), sendo a matéria orgânica considerada o principal agente poluidor desses efluentes.

Processos geradores dos principais efluentes líquidos nas indústrias de laticínios.

Giordano (2005) afirmou que os efluentes industriais de laticínios são oriundos das diversas etapas de lavagens de pisos e equipamentos que arrastam resíduos de leite e seus derivados incluindo também produtos de limpeza. A qualidade dos efluentes varia em função dos produtos industrializados (resfriamento e ensacamento, fabricação de queijos, iogurtes, manteiga, requeijão, leite em pó, entre outros), capacidade de produção, “lay-out” industrial, tecnologia utilizada para a higienização das instalações e qualidade do leite utilizado. De acordo com Machado *et al.* (2002), o volume de água residuária gerado nas diferentes etapas deste tipo de indústria está na faixa de 1 a 1,5 vezes o volume de leite beneficiado.

No momento da recepção do leite, segundo Fontenele (2006), a parte externa das carretas que chegam às indústrias é lavada superficialmente. Após o descarregamento do leite, a limpeza interna do tanque é efetuada da seguinte maneira:

- a) Enxágue com água potável a 40°C;
- b) Limpeza com solução alcalina (NaOH 1%, a 75°C);
- c) Enxágue com água potável à temperatura ambiente;

Uma mesma carreta ou caminhão deve ter seu tanque limpo, também, uma vez por semana, com solução alcalina (HNO<sub>3</sub>) a 1% e a 75°C. Após essa limpeza, deve-se fazer enxágue com água à temperatura ambiente, novamente.

A limpeza dos tanques e silos de armazenamento de leite segue os mesmos passos acima descritos, gerando efluente similar.

Há ainda o processo de limpeza e desinfecção de utensílios, tubulações e equipamentos, que é o mesmo já descrito para a lavagem dos tanques das carretas. Nele ocorre a geração de um efluente líquido constituído de água misturada a determinados

produtos químicos, leite, polpa de frutas (usada na fabricação de iogurte quando for o caso), resíduos de bebidas lácteas, em geral, e pedaços de produtos sólidos de derivados do leite.

Além dos efluentes de limpeza há de se considerar aqueles oriundos dos sistemas de produção. Quando há produção de queijo e/ou manteiga, por exemplo, aumenta-se o volume de efluentes e, por conseguinte, sua qualidade piora muito (FONTENELE, 2006).

Conforme Matos (2005), no processamento do queijo, o leite desnatado ou puro é submetido a um processo de coagulação com a adição de determinadas enzimas. Após estar coagulado, a emulsão é quebrada, obtendo-se uma parte sólida (coágulo) e uma parte líquida (soro), esta se constituindo no resíduo que causa maior preocupação pela significativa carga orgânica que detém.

Na produção de manteiga é retirado o creme por meio de centrifugação. O creme fermentado ou maturado é encaminhado para ser batido em equipamento apropriado (batedeira), processo que persiste até que seja feita toda a separação do chamado leitelho – líquido que se separa do creme, que, quando puro, tem uma composição aproximada à composição do leite desnatado (MINAS AMBIENTE, 2002).

Segundo Fontenele (2006) o leitelho é, portanto, um subproduto do processo de fabricação da manteiga. No processo de batimento há uma eliminação natural de parte do leitelho por dispositivo da própria batedeira. Esse leitelho cai no chão e é posteriormente lavado, formando um efluente.

Já na fabricação de iogurte são feitas adições de polpas de frutas, essências, açúcar, leite em pó, entre outros, que devem gerar águas residuárias com carga orgânica ainda mais elevada (MATOS, 2005).

Em resumo, são mostrados na Tabela 1, os principais efluentes líquidos gerados nas diversas indústrias de laticínios.

**Tabela 1 – Principais efluentes líquidos da indústria de laticínio.**

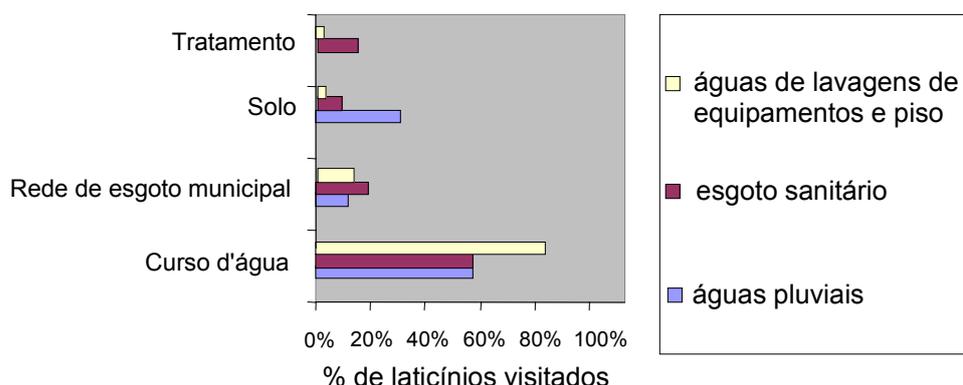
<b>Tipo de efluente</b>	<b>Processo gerador</b>
Soro	Fabricação do queijo
Leitelho e água	Fabricação de manteiga
Mistura de água, leite e sólidos derivados do leite	Limpeza e desinfecção de utensílios, tubulações, equipamentos, tanques das carretas e pisos.

Fonte: Fontenele (2006).

Verificou-se, portanto, que em praticamente todos os procedimentos operacionais de um laticínio há perdas, seja naturais e/ou eventuais, que acabam nos pisos. Sendo estes pisos

lavados diariamente, concluiu-se que essas indústrias geram efluente compostos de água misturada a esses derramamentos.

Esses efluentes possuem alta carga poluidora em termos de DQO (Demanda Química de Oxigênio) e por essa razão devem ser tratados antes de seu lançamento nos corpos receptores. Contudo, de acordo com Machado *et al.* (2001), a destinação final desses efluentes nem sempre é adequada, como o exemplo a seguir das indústrias de Minas Gerais (MG) representado na Figura 2.



**Figura 2 - Destinação das águas pluviais e servidas nos laticínios visitados em MG.**  
**Fonte: Machado *et al.* (2001).**

#### A problemática dos efluentes de laticínios.

A maioria dos efluentes industriais contém substâncias de difícil biodegradação como corantes e fenóis, por exemplo. No caso da indústria de laticínios, seu efluente não possui nenhum produto em particular, todavia, detém grande quantidade de gordura e matéria orgânica que, embora na maioria das vezes sejam biodegradáveis, se lançados em quantidade excessiva nos corpos receptores desencadeiam o chamado processo de eutrofização. Nesse caso, a matéria orgânica é biodegradada pelos micro-organismos presentes no meio aquático, o que ocasiona a diminuição da concentração do oxigênio dissolvido (OD), deteriorando, assim, a qualidade de vida aquática ou até mesmo inviabilizando-a.

O efluente líquido é considerado um dos principais responsáveis pela poluição causada pela indústria de laticínios. Águas residuais de laticínios contêm níveis de nutrientes e DBO mais elevados do que os resíduos urbanos (GEARY E MOORE, 1999). Conforme o SEBRAE de Minas Gerais (1998), os valores de DQO geralmente encontrados em efluentes

líquidos de indústrias de laticínios que não lançam soro em seus efluentes é cerca de 2.500 mg.L<sup>-1</sup>.

A matéria orgânica dos efluentes de laticínios é representada por compostos protéicos, gordurosos e carboidratos, materiais sólidos flutuantes (principalmente graxas), produtos químicos ácidos e alcalinos, detergentes, desinfetantes, lubrificantes (BRAILE E CAVALCANTI, 1993) e, conforme Catão *et al.* (2000), a eventual presença de organismos patogênicos. Estes últimos provêm da mistura dos esgotos industriais com os ditos sanitários ou do próprio leite cru de animais doentes ou contaminados e que resistem à pasteurização.

A DBO total está relacionada diretamente às perdas de leite (90 a 94% da DBO do efluente), e em alguns casos essas perdas podem chegar a 2% do volume total processado na indústria (WASTEWATER, 1999). As águas de lavagens, segundo Brião (2000), são compostas basicamente de leite (incluindo matéria-prima e seus derivados), o que refleti em um efluente com elevada DQO, DBO, óleos e graxas, nitrogênio, fósforo, entre outros.

Em muitos laticínios, de acordo com Kosikowski (1979) há adicionalmente o descarte do soro do queijo junto com os efluentes líquidos, sendo esse comportamento considerado um forte agravante devido ao elevado potencial poluidor desse componente (DBO entre 30.000 a 50.000 mg.O<sub>2</sub>/L). González (1996) concluiu que este subproduto lácteo possui composição química de 93 - 94% de água, 4,5 - 5,0% de lactose, 0,7 - 0,9% de proteínas solúveis, 0,6 - 1,0% de sais minerais, em média, além de quantidades significantes de outros componentes como vitaminas do grupo B. De acordo com Machado *et al.* (2002), uma indústria com produção média de 300.000 litros de soro por dia polui o equivalente a uma cidade com 150.000 habitantes.

Na indústria que produz manteiga encontramos o leitelho, produto da aglomeração mecânica da matéria gorda do leite, cujas características são: 90% de água, 4,4% de lactose, 3,5% de proteínas, 0,2% de gordura, 0,6% de ácido láctico e 0,7% de minerais. Este subproduto pode ser obtido pela acidificação total ou parcial do leite desnatado e pasteurizado, após receber um cultivo de bactérias lácticas selecionadas (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus lactis* ou a mistura de ambos, e outros). Ele conterà, no mínimo, 8,5% de sólidos do leite, excluída a gordura (MONTES, 1977).

Na Tabela 2 estão mostrados os valores de variáveis analisados por Dias *et al.* (2006) em um efluente de laticínio da Cooperativa Agropecuária Guarany Ltda (CAPEG) no Paraná e os respectivos limites para lançamentos em corpos d'água exigidos na Resolução 357/2005 do Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA.

**Tabela 2 - Parâmetros físico-químicos e padrões de lançamento do efluente.**

<b>Parâmetro</b>	<b>Efluente “bruto”</b>	<b>Limite</b>
pH	7,48	> 5 e < 9
Temperatura (°C)	19,0	> 40°C
Cloretos (mg / L Cl)	24,5	-
DBO <sub>5</sub> (mg / L O <sub>2</sub> )	1386,2	-
DQO (mg / L O <sub>2</sub> )	2568,8	-
Óleos e Graxas (mg / L)	340,5	100,0
Sólidos Totais (mg / L)	427,0	60,0
Sólidos Sedimentáveis (mg / L)	0,5	< 1,0

Fonte: Dias *et al.* (2006).

Segundo Dias *et al.* (2006), quanto ao parâmetro óleos e graxas, embora a legislação não imponha limite, seu percentual de eficiência precisa estar próximo de 100%. A não remoção destes pode alterar o pH do corpo receptor, desequilibrando-o. Nas estações de tratamento, conforme Vidal *et al.* (2000), os elevados teores de óleos e graxas nestes efluentes, da ordem de 200 a 2000 mg/L, causam vários problemas, pois as gorduras apresentam baixas taxas de biodegradabilidade.

Além desses parâmetros, os nutrientes presentes nos resíduos de laticínios podem causar também a eutrofização do corpo d'água em que são dispostos, por isso a necessidade de verificar os níveis de nitrogênio e fósforo no efluente tratado.

Além disso, afirma Campos *et al.* (2004), efluentes contendo elevados teores de lipídeos, como os provenientes de laticínios, se não tratados adequadamente, causam outros danos ao meio ambiente, como a formação de filmes de óleo nas superfícies aquáticas, o que impede a difusão do oxigênio atmosférico para o interior d'água e, com isso, pode provocar a mortandade da vida ali presente.

Conforme Moreira (2007) as características físico-químicas dos efluentes originados dos laticínios são números aproximados. Valores reais só podem ser obtidos através de monitoramento da própria empresa.

Com o objetivo de estudar o grau de poluição e a autodepuração do Ribeirão Piampu em MG, corpo d'água que recebe lançamentos de águas residuárias de esgoto doméstico e de laticínio, Machado *et al.* (2000) mediram alguns parâmetros físico-químicos relacionados à qualidade da água, tais como OD e DBO. Os resultados obtidos permitiram concluir que o Ribeirão Piampu está com a sua qualidade comprometida à medida que há um decréscimo na concentração de OD ao longo do seu percurso e valores máximos de DBO após o lançamento do efluente de laticínio. Notou-se que as duas variáveis estão associadas, pois a diminuição do

pH ocorreu em conjunto com o lançamento da carga orgânica, que para ser oxidada química e biologicamente utiliza o OD.

Além da qualidade do efluente outro problema comum às indústrias de laticínio é a geração de enormes volumes de águas residuárias. Veisseyre (1988) citou que para indústrias que produzem vários produtos lácteos, a cada litro de leite gerou-se de 7 a 11 litros de efluentes líquidos. Braile e Cavalcanti (1993) afirmaram que as maiores fontes de resíduos líquidos da indústria de laticínios estão geralmente contidas na área de elaboração e embalagem do produto final. Geralmente, as águas de lavagens correspondem ao mesmo volume de leite processado, ou melhor, onde se processam vários produtos têm-se um volume de despejos de 1,1 a 6,8 litros de água para cada litro de leite processado.

Brião e Tavares (2005) afirmaram em pesquisa que os setores para produção de laticínios apresentaram um potencial poluidor grande, concluindo que a produção de laticínios tanto na forma fluida quanto na forma de produtos secos apresentaram riscos ambientais, se não avaliados e tratados corretamente.

#### Tratamentos dos efluentes líquidos das indústrias de laticínios.

Nas indústrias de laticínios os efluentes líquidos podem ser tratados com tecnologias disponíveis para tratamento de esgotos domésticos, pelos mesmos processos físicos, químicos e biológicos em níveis preliminar, primário, secundário e terciário, embora o tratamento terciário de efluentes nas indústrias de laticínios ainda seja raro, no Brasil (FONTENELE, 2006).

Nos laticínios, como tratamento primário é utilizado o sistema de gradeamento, para reter os sólidos grosseiros, e os equipamentos de flotação ou caixas de gordura, a fim de separar as gorduras, em geral, do efluente. Para a remoção dos sólidos suspensos é utilizada a sedimentação. O sulfato de alumínio é empregado para ajudar na floculação e na precipitação, o que reduz a DQO em cerca de 90% (FERREIRA, 2007). Os filtros biológicos, valas de oxidação, lagoa de estabilização, irrigação e digestão anaeróbia também são sistemas usados nos laticínios (MORAIS, 2003).

Ferreira (2007) afirmou que a água residuária de laticínios tratada somente até a etapa secundária ainda não atende aos padrões de lançamento estabelecidos, por isso sugeriu que as indústrias de laticínios devem conter o tratamento terciário.

Segundo Brião *et al.* (2005), as técnicas de tratamento para este efluente geralmente estão associadas aos processos tradicionais que combinam tratamento físico (ou físico-químico) com tratamento biológico.

Os tratamentos biológicos de efluentes industriais, conforme Ramalho (1991), têm como objetivo remover a matéria orgânica dissolvida e em suspensão, através da transformação desta em sólidos sedimentáveis (flocos biológicos), ou gases.

Os processos de tratamento biológicos têm como princípio utilizar a matéria orgânica dissolvida ou em suspensão como substrato para micro-organismos tais como bactérias, fungos e protozoários, que a transformam em gases, água e novos micro-organismos. Os produtos formados devem ser mais estáveis, tendo os efluentes industriais tratados um aspecto mais claro, significativa redução da presença de micro-organismos e menor concentração de matéria orgânica. Os efluentes de laticínios tratados apresentam concentrações inferiores a 10 mg O<sub>2</sub> / L em relação a DQO. Isto demonstra a excelente biodegradabilidade desses efluentes, pois na indústria de laticínios pode-se obter DQO superiores a 7.000 mg O<sub>2</sub> / L no efluente bruto (GIORDANO, 2005).

Segundo Machado *et al.* (2001), os processos biológicos mais citados em literatura especializada e encontrados em estações de tratamento de indústrias de laticínio, em escala real, são: filtro anaeróbio, filtro biológico, lagoas de estabilização, lodos ativados convencional e reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo.

O processo de lodo ativado, conforme Santos (2009), consiste em manter no interior do tanque de aeração grande concentração de micro-organismos, o que é garantido através do retorno do lodo gerado. Este tipo de tratamento garante remoção de 73 a 99,3 % da DBO.

Além dessas tecnologias convencionais, outras vêm sendo estudadas, como as apresentadas na Tabela 3.

**Tabela 3 – Tecnologias para tratamento de águas residuárias de laticínios.**

<b>Tecnologia utilizada</b>	<b>Pesquisador (es) (a) (as)</b>
Processo de Infiltração	Panchoni <i>et al.</i> (2008)
Processo Foto-Fenton	Villa <i>et al.</i> (2007)
Ultrafiltração com Membranas	Brião (2007)
Hidrólise (pré-tratamento)	Mendes (2004)
Reator UASB	Campos <i>et al.</i> (2004)
Reator em Batelada Sequencial	Santos (2009)
Reator de Leito Fixo e Fluxo Ascendente	Sá (1997)
Reator de Leito Fixo e Fluxo Ascendente	Rodrigues (1999)

Panchoni *et al.* (2008) trabalhou com água residuária de laticínio de uma indústria que processava diariamente cerca de 3.000 L de leite como matéria-prima, tendo como produtos principais leite e iogurte. A cada 24 h, era descartada uma média de 9000 L de

efluente líquido. Este efluente passava por uma caixa de gordura com seis compartimentos de separação, sendo o efluente resultante descartado em uma área de pastagem com predominância da gramínea *Brachiaria decumbens*. Concluiu no final da pesquisa que este processo de infiltração tem sido eficiente por permitir a disposição sem necessidade ou risco de lançamento deste no curso d'água.

Segundo Villa *et al.* (2007) o processo Foto-Fenton é eficaz também para a remoção de uma ampla faixa de carga orgânica de efluentes de laticínios. Porém, a concentração de ferro no efluente não é suficiente para promover a mineralização, sendo necessária a adição de ferro solúvel. Na ausência de radiação solar a remoção de Carbono Orgânico Total - COT do efluente diminui, no entanto, remoções próximas de 50% podem ser atingidas (efluente original, COT 335 mg L<sup>-1</sup>), o que viabiliza sua utilização em ocorrências de derramamento de soro, ou seja, aplicação como uma etapa de pré-tratamento ou de tratamento emergencial, diminuindo assim a carga orgânica e evitando o intumescimento do lodo para dar prosseguimento ao processo biológico.

Brião (2007) avaliou duas membranas de ultrafiltração com diferentes tamanhos de poros para a recuperação de nutrientes do efluente de laticínios e reusou o mesmo. Os resultados demonstraram uma remoção de DQO próxima a 75% e remoção de proteínas na faixa de 97% e de gorduras na faixa de 91% a 93%.

Mendes (2004) trabalhou com o pré-tratamento de efluentes das indústrias de laticínios na hidrólise de lipídeos, empregando lipase de fonte animal (pâncreas de porco) disponível no mercado nacional, sobre a formação de gás metano por biodegradabilidade anaeróbia em diferentes concentrações de ácidos graxos. No entanto, de acordo com Ribeiro (2005), a aplicação de enzimas comerciais inviabiliza o processo de tratamento, em função dos altos custos apresentados.

Campos *et al.* (2004), ao estudar a eficiência de um reator UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket), em escala laboratorial, tratando efluente de laticínio sob diferentes cargas orgânicas, concluíram, neste caso específico, que o sistema apresentou eficiências relativamente baixas, reconhecendo a necessidade de instalação de unidades de polimento, afim de atender aos padrões de lançamento.

Santos (2009) em seu experimento com reator em batelada seqüencial concluiu que esse tipo de tratamento é de fácil operação, controle e apresenta um bom desempenho na remoção de DQO, nitrogênio amoniacal total e fósforo total que alcançou níveis de até 94%, 75% e 82% de remoção.

Sá (1997) estudou o poder de degradação do *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* e *Drechslera sp*, no tratamento de água residuária de laticínios, utilizando reator de leito fixo e fluxo ascendente, e obteve redução de DQO máxima de 84% para o Tempo de Detenção Hidráulica - TDH de 21 horas.

Rodrigues (1999) utilizou reator de fluxo contínuo no tratamento de efluente sintético de laticínios com fungos da espécie *Drechslera monocerans* e encontrou remoção de DQO de 88% com 5h de detenção hidráulica, concluindo que, provavelmente, maiores tempos de detenção hidráulica resultassem em eficiências melhores.

Devido às características essencialmente orgânicas das águas residuárias de laticínios e pelo fato da maior parte das indústrias se localizarem fora do perímetro urbano, ou seja, distante da rede coletora de esgotos municipais, König *et al.* (2000) afirmou que é obrigatório que as indústrias instalem, no próprio terreno, uma estação de tratamento de efluentes com a finalidade de controlar e minimizar as fontes de poluição como solução efetiva para assegurar a qualidade ambiental.

### 3.2 Fungos

#### *Características dos fungos.*

Os fungos são classificados como seres eucarióticos, dividindo-se em unicelulares (leveduras) e pluricelulares (filamentosos ou bolores), sendo a grande maioria das espécies aeróbias. Os filamentosos, segundo Papagianni (2004) apresentam estruturas tubulares denominadas hifas originadas de um único esporo reprodutivo. Estas espécies podem reproduzir-se em forma de “*pellets*” (quando as hifas formam esferas pequenas) ou de maneira filamentosa (quando as hifas permanecem dispersas no meio).

De acordo com Pinto *et al.* (2004) pouco se sabe a respeito dos mecanismos de alongamento, ramificação e fragmentação das hifas, contudo, tem-se conhecimento que a maneira de crescimento e a quantidade de células viáveis no meio de cultura se relacionam com a excreção pelos micro-organismos dos metabólitos primários e secundários.

O tipo de crescimento, de acordo com Pamboukian (1997) vai depender de diversos fatores como a espécie de fungo, a composição do meio, a presença ou ausência de agitação, variáveis, como OD e pH, e a quantidade de inóculo, ou seja, massa de micélio e concentração de esporos utilizada. Gêneros como *Aspergillus* e *Penicillium* podem, por exemplo, crescer sob forma de “*pellets*”. No caso do *Aspergillus* acontece devido à agregação

dos esporos no início da germinação, o que exige a presença de nutrientes (como oxigênio, carbono e nitrogênio) e condições físicas apropriadas (temperatura e umidade).

Na fase de germinação, segundo Nielsen (1992) há o aumento do volume dos esporos, que são a forma inicial e final dos fungos filamentosos e o estado de latência do micro-organismo (período onde há ausência de síntese de material celular e reduzida atividade metabólica).

Em relação ao meio de crescimento fúngico ideal, segundo Bitton (1994) deve apresentar valores de pH ácidos (em torno de 5). Contudo, de acordo com Griffin (1994), estes organismos dispõem de uma faixa de pH ideal para crescimento maior, variável entre 4 e 6, o que vai depender da espécie podendo, então, assumir valores mais específicos.

Durante o crescimento dos fungos a partir do consumo do substrato, são produzidos diversos compostos, dentre eles: álcoois e ácidos orgânicos. As principais variáveis que exercem influência sobre a produção dos ácidos orgânicos são pH do meio, aeração adequada e presença de uma fonte de carbono de assimilação rápida que deve estar presente em concentração elevada. Além destas variáveis, os níveis de fosfato e nitrato e a presença de metais traços também influenciam na produção de ácidos orgânicos (WITTEVEEN, 1993).

Os fungos, nutricionalmente são heterotróficos e exigem micro e macronutrientes, ou seja, nutrientes cuja concentração seja igual ou inferior a  $10^{-6}$  mol/L e em torno de  $10^{-3}$  mol/L, respectivamente (GRIFFIN, 1994). Na Tabela 4 são apresentados alguns macronutrientes requisitados pelos fungos e suas funções em seu metabolismo.

**Tabela 4 - Macronutrientes e sua função no metabolismo fúngico.**

<b>Elemento</b>	<b>Fonte</b>	<b>Função</b>
Enxofre	$K_2SO_4$	Síntese de aminoácidos e vitaminas.
Fósforo	$KH_2PO_4$	Síntese de ácidos nucleicos, transferência de energia e metabolismo intermediário.
Nitrogênio	$NaNO_3$ , $NH_4Cl$	Síntese de aminoácidos, nucleotídeos e vitaminas.
Magnésio	$MgCl_2$	Atividade enzimática e síntese de ácidos nucleicos.
Potássio	$KCl$ , $K_2HPO_4$	Atividade enzimática e metabolismo de carboidratos.

Fonte: Rodrigues (2006) adaptado de Griffin (1994).

Carbono, oxigênio, hidrogênio e outros elementos também integram a lista de exigências macronutricionais dos fungos, sendo o carbono o principal, em conjunto com

hidrogênio, nitrogênio e oxigênio (GRIFFIN, 1994). Esposito e Azevedo (2004) explicaram que o carbono é o mais importante dentre os macronutrientes necessários, pois integra a composição elementar da biomassa dos fungos. Há muitos compostos de carbono que podem ser utilizados pelos fungos, como os hidratos de carbono (glicose, maltose, sacarose, frutose), mono, di e trissacarídeos, celulose, substâncias pécticas (polissacarídeos de alta massa molar componentes da parede celular de vegetais), dentre outros.

Há espécies capazes de usar compostos complexos com carbono, contudo existem outras mais exigentes. Segundo Prenafeta Boldú (2002), os fungos, em seu desenvolvimento, preferem os carboidratos simples como a glicose, todavia, sacarose, maltose e outras fontes mais complexas como celulose e amido podem ser oferecidas como fonte de carbono. Para isso, de acordo com Esposito e Azevedo (2004), os fungos detêm de vários meios para o uso dessas várias fontes de energia e carbono.

Em relação ao nitrogênio, expõem que este também é um importante macronutriente, pois integra aproximadamente 16% da massa seca dos fungos e duas estruturas macromoleculares importantes: as proteínas e os ácidos nucléicos. A capacidade de fixação de  $N_2$  pelos fungos ainda não foi comprovada, sendo o íon amônio a forma inorgânica de nitrogênio mais assimilada por estes micro-organismos. Uma grande parte dos fungos é capaz de assimilar essa forma de nitrogênio (como  $NH_3$  a pH alcalino) sob a forma de sais inorgânicos e orgânicos como sulfatos, cloretos carbonatos, fósforos, tartaratos e acetatos (ESPOSITO E AZEVEDO, 2004).

O suprimento de fósforo pode ser por meio de fosfato, sendo o hidrogeno fosfato de potássio ( $K_2HPO_4$ ) o sal mais utilizado (CARLILE e WATKINSON, 1994).

De acordo com Griffin (1994), o enxofre é, normalmente, fornecido através do sulfato, pois quase a totalidade dos fungos é hábil em assimilá-lo nessa composição.

Segundo Carlile e Watkinson (1994), os micronutrientes funcionam como co-fatores das enzimas fúngicas. Entretanto, deve-se ter bastante cuidado na escolha das concentrações destes elementos, pois em concentrações maiores do que as requeridas, ou seja, em quantidades superiores a  $10^{-6}$  a  $10^{-9}M$ , eles podem ser tóxicos. Na Tabela 5 estão apresentadas as fontes e funções dos micronutrientes no metabolismo dos fungos.

**Tabela 5 - Micronutrientes requeridos pelos fungos, suas fontes e funções.**

<b>Elemento</b>	<b>Fonte</b>	<b>Função</b>
Cobre	CuO <sub>4</sub>	Atividade enzimática
Ferro	FeCl <sub>3</sub> / FeSO <sub>4</sub>	Citocromos e Apoenzimas
Manganês	MnCl <sub>2</sub>	Atividade enzimática e Síntese de ácidos nucleicos
Molibdênio	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	Atividade enzimática e Metabolismo do nitrato
Zinco	ZnCl <sub>2</sub>	Atividade enzimática e metabolismo de ácidos orgânicos e outros intermediários

Fonte: Adaptação de Rodrigues (2006).

A presença da água também é importante para o desenvolvimento dos fungos, contudo, em ambientes secos os fungos acionam mecanismos de sobrevivência como o estado latente ou a produção de esporos. Quanto à temperatura, há crescimento fúngico em uma ampla faixa de limites entre 0°C e 62°C, portanto, existem espécies psicrófilas, mesófilas e termófilas (PELCZAR *et al.* 1996; TRABULSI *et al.* 1999).

Segundo Campos *et al.* (2004), a temperatura pode interferir na velocidade do metabolismo, no equilíbrio iônico e na solubilidade dos substratos. Deve-se manter, portanto, temperaturas que, em relação ao custo benefício, dêem melhores resultados.

Conforme Pinheiro (2007) os fungos produzem enzimas extracelulares capazes de quebrar moléculas complexas, como as encontradas em gorduras animais, e as tornar mais facilmente assimiláveis ao seu metabolismo.

As transformações que ocorrem no metabolismo interior dos fungos, regulado pela variedade de enzimas produzidas em seu interior, e a possibilidade de mudança das vias metabólicas, conferem a eles um metabolismo muito flexível, o que os deixa aptos para a degradação de uma grande variedade de substâncias, inclusive compostos nitrogenados e fosfatados (JENNINGNS, 1995).

Sangtjean e Schmidt (2002) afirmaram que fungos são capazes de utilizar nitrato e amônia em velocidades distintas, sendo que espécies como *Aspergillus niger* podem utilizar ao mesmo tempo as duas formas de nitrogênio, embora, conforme Ainsworth e Sussman (1966) consumam mais rapidamente o nitrogênio amoniacal, principalmente em meios alcalinos.

#### *Emprego dos fungos no tratamento de águas residuárias.*

Não é recente o emprego dos fungos na produção de gêneros alimentícios e antibióticos. Contudo, na degradação de poluentes, segundo Rodrigues (2006), iniciou-se nos

últimos trinta anos do século XX e um dos primeiros estudos divulgado foi com *Saccharomyces cerevisiae* para remoção de lindano e dieldrin por Voermman e Tammes, em 1969, seguido por Iyengar e Prabhakararao, em 1973, que analisaram a degradação do heptacloro por fungos do gênero *Aspergillus*. Entretanto, foram nas últimas décadas que as pesquisas sobre biorremoção fúngica aumentaram.

Segundo Griffin (1994) a utilização dos fungos como biorremediadores de poluentes vem crescendo, por serem decompositores primários importantes em diversos ciclos, como o do carbono e do nitrogênio, e atuarem na degradação de diversas substâncias.

Conforme Damasceno (2007), os fungos são potentes agentes no tratamento de substâncias complexas devido à produção de grande quantidade de enzimas (por exemplo, proteases, celulasas, ligninases e lactases) cujas ações transformam os organopoluentes em compostos mais acessíveis a biodegradação. Além da capacidade do gênero em suportar variações no meio, como mudanças repentinas na concentração de matéria orgânica, significativas variações de pH e temperatura, e variações, ou até mesmo ausência, de umidade e oxigênio.

Os fungos removem os poluentes, de acordo com Rodrigues (2006), pelo processo de biossorção, o qual possui duas etapas diferentes: adsorção (remoção passiva) e assimilação (remoção ativa). A primeira fase da biossorção, a adsorção, ao contrário da assimilação, não depende do metabolismo do micro-organismo, segundo Del Rio (2004). Conforme Ainsworth e Sussman (1966) a assimilação acontece por meio de reações em cadeia. Neste caso, os fungos produzem diversos compostos intermediários e cada reação é catalisada por enzimas específicas elaboradas, normalmente, no interior da célula. Essas enzimas obedecem a processos controlados para formação de produtos que podem ser usados total ou parcialmente pelo micro-organismo.

Não apenas tem sido estudado tratamento de águas residuárias com uso de biomassa viva, mas também de biomassa morta, o que, conforme Sekhar *et al.* (1998), possui as vantagens de reduzir tanto os problemas de toxicidades quanto a necessidade de adicionar nutrientes ao meio. Neste caso, contudo, o poluente é apenas adsorvido na biomassa por forças de adsorção químicas e físicas. Não acontecendo, portanto, a verdadeira degradação, segundo Rodrigues (2006), o poluente adsorvido deve ser recuperado e posteriormente reutilizado, pois, caso contrário o problema não terá sido solucionado.

Nos reatores, o emprego de fungos filamentosos favorece a degradação, pois a ramificação de seu micélio beneficia o mecanismo da decomposição, uma vez que com a

penetração da hifa no meio o contato das enzimas com o substrato pode ser melhor em função da maior relação superfície-célula (WALLSTROM *et al.* 2002).

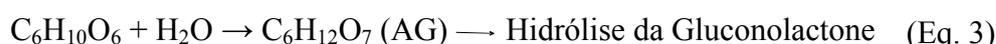
Segundo Íntegra Gieseke *et al.* (2002) *apud* Gebara *et al.* (2004), outro fator que também favorece o processo de biodegradação é a imobilização das células fúngicas, devido também ao maior tempo de contato do micro-organismo com o poluente.

#### *Aspergillus no tratamento de águas residuárias.*

O gênero *Aspergillus*, segundo Rao e Viraraghavan (2002), foi descrito pela primeira vez em 1729 e possui 11 grupos identificados e classificados em patogênicos e não-patogênicos. De acordo com Melzer (2007), a espécie *Aspergillus niger*, dentre os fungos filamentosos utilizados para fins biotecnológicos, é um dos mais importantes. Em fermentações industriais tem sido usado a mais de 80 anos por sua capacidade de acumular e secretar grandes quantidades de proteínas e metabólitos secundários, tais como ácidos orgânicos.

A espécie *Aspergillus niger*, segundo Filho *et al.* (2007), por sua capacidade de colonizar inúmeros substratos, pode ser observada em inúmeros tipos de habitat em todo o mundo. Esta característica, aliada ao fato desse micro-organismo ser considerado seguro para a saúde humana, ou seja, não-patogênico, de acordo com Schuster *et al.* (2002), possibilita sua produção, cultivo e utilização mais fáceis em escala laboratorial.

De acordo com Znad *et al.* (2003), o *Aspergillus niger* necessita de uma grande quantidade de oxigênio para converter a glicose ( $C_6H_{12}O_6$ ) a ácido glucônico pois, para essa espécie, esse processo ocorre pela fermentação aeróbia. Tal biotransformação se refere a uma simples reação de desidrogenação, ou melhor, a hidrólise da gluconolactone que gera o ácido glucônico e o  $H_2O_2$ . Este é decomposto em água e oxigênio pela catalase, enzima presente em células vivas. O crescimento celular do *Aspergillus niger* é descrito nas equações abaixo.



O oxigênio é, portanto, um dos principais substratos da bioconversão da glicose em ácido glucônico. O *Aspergillus niger* utiliza o oxigênio molecular para oxidar a glicose bem

como para a respiração celular. Geralmente, o oxigênio é fornecido na forma de ar (ZNAD *et al.* 2003).

Muitas pesquisas na área ambiental obtiveram resultados promissores com essa espécie. Conforme Tabela 6, vários trabalhos que empregaram o gênero *Aspergillus*:

**Tabela 6 - *Aspergillus* na remoção de compostos poluentes.**

<b>Pesquisador (a)</b>	<b>Tipo de reator</b>	<b>Espécie</b>	<b>Composto</b>
Sá (1997)	Batelada e Contínuo	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. flavus</i> e <i>Drechslera sp</i>	Laticínio
Sampaio (2001)	Batelada e Contínuo	<i>Aspergillus niger</i>	Castanha de caju
Rodrigues (2006)	Batelada e Contínuo.	<i>Aspergillus niger</i>	Fenol
Andrade <i>et al.</i> (2007)	Batelada	<i>Aspergillus niger</i>	Fenol
Vidal <i>et al.</i> (2008)	Contínuo	<i>Aspergillus niger</i>	Corante
Santaella <i>et al.</i> (2009)	Contínuo	<i>Aspergillus niger</i>	Fenol
Marinho <i>et al.</i> (2009)	Contínuo	<i>Aspergillus niger</i> AN400	Pesticida
Félix (2009)	Batelada	<i>Aspergillus ornatus</i>	Fenol

Fonte: Adaptado de Silva (2009).

Sá (1997) trabalhou em duas etapas, operação em batelada e operação em fluxo contínuo, para o tratamento de água residuária de uma indústria de laticínios. Utilizando um reator de leito fixo e fluxo ascendente, inoculado com as espécies *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* e *Drechslera sp*, obteve remoções de DQO de 82%, 84%, 81%, 74% e 49% nos TDHs de 31h, 21h, 11h, 5h e 2h, respectivamente. Óleos e graxas foram removidos com eficiência de 90% no TH de 5 horas. O experimento em batelada mostrou remoção de 69% de compostos causadores de DQO, não sendo verificada remoção sistemática dos nutrientes, nitrito, nitrato e ortofosfato, e sim uma tendência à síntese de amônia. Concluiu, portanto, que o processo contínuo para tratamento do efluente da indústria de laticínio foi a melhor opção.

Sampaio (2001) trabalhou com inóculos fúngicos dos gêneros *Aspergillus* e *Cladosporium* em reator aeróbio, no polimento de efluente de reator UASB, este tratando água residuária proveniente de indústria de beneficiamento de castanha de caju. Este tipo de efluente possui compostos aromáticos oriundos do LCC (líquido da castanha de caju) e apresenta DQO média de 1144 mg/L, o que o torna em potente agente poluidor. O reator com inóculos fúngicos mostrou-se viável no pós-tratamento do efluente do UASB, alcançando eficiências de remoção de compostos causadores de DQO de 84%, 74% e 61% para os TDHs de 4h, 2h e 1h, respectivamente.

Rodrigues (2006) empregou a espécie *Aspergillus niger* AN 400, na remoção de fenol de água residuária sintética em reatores em batelada e contínuo de leito fixo e ascendente, avaliando a influência da glicose como co-substrato em ambas as configurações. Nos reatores em batelada, o uso da glicose favoreceu maiores reduções de fenol, no último dia, quando a concentração do composto poluente era de 1 ppm. No reator contínuo de leito fixo e ascendente com meio suporte de manta de polipropileno e adição de glicose, a remoção do fenol foi de 100% na maior parte do período. No reator contínuo de leito fixo e ascendente com espuma de poliuretano e glicose no meio, a maior remoção ocorreu no 10º dia de operação com eficiência de 78% em relação aos demais dias.

Andrade *et al.* (2007) utilizaram a mesma espécie para remoção de fenol de água residuária de uma indústria de beneficiamento de castanha de caju, na concentração de  $2 \times 10^6$  esporos / mL. O experimento em batelada foi operado durante 15 dias, a fim de verificar a remoção do fenol na concentração inicial de 10 mg/L, acima do padrão de lançamento de efluentes industriais (máximo de 0,5 mg / L de fenóis). Verificaram que no 10º dia de experimento, a remoção de fenol foi de 100% em todos os reatores estudados.

Vidal *et al.* (2008), também estudaram o *Aspergillus niger* AN 400, inoculado em reatores contínuos a fim de verificar a remoção do corante Vermelho do Congo, na concentração 0,25 g/L, matéria orgânica e nutrientes. Avaliou-se a influência da sacarose (0,5 g/L), como co-substrato, com TDH de 8 horas. Foi obtido percentual médio de remoção para matéria orgânica (em termos de DQO) dissolvida de 70,5%, na fase com adição de sacarose, e na ausência da mesma, esse percentual subiu para 81,4%. A autora concluiu, então, que esse resultado indicou que a fonte exógena de carbono não exerceu resultados muito significativos. A eficiência (%) de remoção do corante também foi melhor quando a sacarose foi retirada do meio sintético, com percentual de 95%.

Santaella *et al.* (2009), empregaram *Aspergillus niger* AN 400 na remoção de fenóis totais, DQO e nutrientes de água residuária derivada da cadeia de processamento da refinaria de petróleo da Petrobrás localizada em Fortaleza no Ceara, usando reator de escoamento contínuo durante 152 dias, com diferentes TDH: 4 horas, 8 horas e 12 horas. Os valores obtidos para a remoção de DQO bruta foram de 71%, 67% e 73%, respectivamente, nos TDH de 4 h, 8 h e 12 h.

Marinho *et al.* (2009) avaliaram a degradação de atrazina presente em um efluente sintético em reator de leito fixo e biomassa imobilizada, com inóculo de *Aspergillus niger* AN400, com TDH de 8 horas. Foi observada remoção de atrazina de 79% no 5º dia de reação,

demonstrando a potencialidade do uso de reator de leito fixo com fungo no tratamento de águas contaminadas com o pesticida. Concluiu que a comunidade microbiana formada, com predomínio da espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400, mostrou-se viável ao tratamento biológico para remoção de atrazina.

*Aspergillus ornatus* inoculado em reatores biológicos em batelada foi estudado durante 6 dias por Félix (2009) na remoção de fenóis de água residuária sintética, na concentração de 0,25g/L. Avaliou Reatores Fúngicos com Sacarose (RFS) em concentrações de I=0,5 g/L; II= 1 g/L e III = 5 g/L e também sua ausência no meio sintético nos chamados Reatores Fúngicos sem Sacarose (RFSS). Nos RFSI, houve remoção de 0,49 mg/L, nos RFSII a remoção foi de 0,31 mg/L, para RFSIII de 0,17 mg/L, e nos reatores sem sacarose de 0,55 mg/L. De acordo com a autora o fungo *Aspergillus ornatus*, sem nenhum substrato primário, conseguiu atingir bom percentual de remoção de fenol, porém, nos reatores com concentrações de 1,0 g/L e 5,0 g/L de sacarose, o percentual de remoção de fenol foi maior.

### 3.3 Reatores Biológicos

#### *Reator em batelada*

Entre os processos utilizados para o tratamento de efluentes industriais, afirma Garcia *et al.* (2009), estão os descontínuos ou em batelada os quais têm se mostrado bastante eficientes no biotratamento de águas residuárias.

Pereira (2010) afirma que o reator em batelada não admite entrada nem saída de reagentes ou produtos durante o período de reação, ou seja, todos os reagentes são introduzidos no reator de uma única vez, e, após esse tempo, é descarregado da mesma maneira, em um único momento. Variáveis como temperatura e concentração não dependem da posição dentro do reator, variam com o tempo. Geralmente é utilizado em pequena escala, teste de novos processos ainda não totalmente desenvolvidos, fabricação de produtos de alto custo e em sistemas difíceis de converter em operações contínuas.

De acordo com Dionisi *et al.* (2001), algumas das características desse tipo de sistema podem ser descritas como: alta velocidade, bom controle de volume e remoção de nutrientes, como nitrogênio e fósforo.

Operações em batelada permitem ainda a obtenção de altas conversões, deixando o reagente no reator por períodos de tempo maiores. Quando o requerimento de conversão é baixo, o sistema em batelada possui custo menor do que o contínuo, sendo preferível quando

no teste de novos produtos. A limpeza do reator é mais fácil e sua operação é flexível, podendo-se obter produtos diferentes em um mesmo reator. Contudo, como todo sistema, possui desvantagens como o alto custo de mão-de-obra, devido ao tempo perdido durante as etapas da batelada: alimentação, esvaziamento e limpeza (o chamado “tempo morto”), o que pode até deixar o processo inviável (PEREIRA, 2010).

Conforme Mesquita *et al.* (2006), o reator seqüencial por batelada (RSB) é uma variação do sistema convencional de lodos ativados, no qual as diversas etapas do tratamento acontecem no interior de um mesmo tanque.

### *Reator de fluxo contínuo*

Mesmo considerando o Brasil um país detentor de uma grande extensão territorial, atualmente, em seus grandes centros urbano, as áreas disponíveis estão cada vez mais escassas e distantes para instalação de plantas convencionais de tratamento de esgoto as quais demandam, em geral, grandes áreas. Portanto, a busca por tecnologias inovadoras que integrem eficiência e baixa ocupação de solo torna-se interessante. Nos reatores aeróbios de leito fixo com biomassa aderida podemos conseguir operar com concentração elevada de biomassa e tempos de detenção hidráulica baixos. Conseqüentemente há a possibilidade de confecção de equipamentos que ao mesmo tempo são compactos e capazes de converter grande quantidade de matéria orgânica (GEBARA *et al.* 2004).

Filtros biológicos têm sido utilizados amplamente para o tratamento de esgotos domésticos, porém é também frequente sua utilização em escala industrial, onde tem apresentado um grau médio de eficiência de remoção de DBO em efluentes de laticínios, de 55 a 65%, segundo Braile e Cavalcanti (1993). Possuem, ainda, bom grau de nitrificação, se utilizados em baixas taxas, de acordo com Poester e Leitão (1989), podendo, com isso, apresentar bons resultados em efluentes contaminados organicamente.

O tratamento de efluentes através de reatores aeróbios de fluxo contínuo apresenta-se como boa alternativa para os problemas gerados por esse resíduo líquido. Esse tratamento baseia-se na degradação da matéria orgânica complexa por meio de micro-organismo específico. As principais vantagens de se utilizar esse tipo de tratamento são os reduzidos requisitos de área, a boa redução da matéria orgânica, a resistência a choques de carga, a flexibilidade operacional e o baixo custo quando comparados com os métodos físico-químicos. Contudo, exige maior consumo de energia elétrica e constante supervisão (Von SPERLING, 1997).

As bactérias e os fungos são micro-organismos dominantes em reatores biológicos e a maioria dos biofilmes possui quantidade significativa deles, embora os fungos apresentem crescimento mais lento do que as bactérias (GARCÍA-PENA *et al.* 2001). Isso se deve, de acordo com Wallstrom *et al.* (2002), porque os fungos possuem a vantagem de se ramificarem muito rápido no meio onde se encontram e, através das enzimas secretadas, são capazes de tolerar maiores concentrações de substâncias tóxicas.

Em relação ao crescimento fúngico em culturas no regime contínuo, se o suprimento nutricional for mantido constante, ocorrerá manutenção de crescimento exponencial e descarte de produtos excretados, bem como de biomassa morta (GRIFFIN, 1994).

O uso de fungos em reatores visando o tratamento dos mais diferentes tipos de águas residuárias vem crescendo e despontando como nova alternativa de tecnologia para o tratamento biológico.

Sá (1997) estudou, em escala laboratorial, o poder de decomposição das espécies *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* e *Drechslera sp*, em água residuária de laticínio em dois tipos de operação: batelada e fluxo contínuo (reator de leito fixo e ascendente). Ao comparar os dois sistemas, verificou que o contínuo obteve melhor eficiência.

Sampaio *et al.* (2004) em seu trabalho sobre a biodegradação de água residuária da indústria de beneficiamento de castanha de caju estudou um sistema contínuo em escala laboratorial, constituído por um reator UASB seguido por um Reator Biológico com Fungos (RBF) variando o TDH. Com o objetivo de verificar seu desempenho, verificou a remoção de DQO, nitrato, amônia e ortofosfato. O sistema apresentou excelente desempenho na remoção de DQO e nitrato, porém teve a eficiência de remoção de amônia e ortofosfato diminuída, devido a oscilações nas taxas de síntese e remoção nos reatores para essas variáveis.

Contudo, ainda há poucos dados a respeito das vias metabólicas dos micro-organismos quando empregados nesse tipo de tecnologia se compararmos com a quantidade de estudos referentes a outros tipos de tratamentos, o que torna necessário o estudo aprofundado desse novo tipo de sistema.

#### *A imobilização e os biofilmes.*

A imobilização de células, de acordo com Covizzi *et al.* (2007), constitui numa técnica útil para aumentar a produção de metabólitos pelos micro-organismos, a qual pode ser empregada com sucesso tanto na síntese química quanto em processos de biorremediação ambiental. O aumento do número de publicações em periódicos internacionais utilizando

células de micro-organismo imobilizadas como biocatalizadores nos mais variados processos biotecnológicos, em mais de 200%, no período de 1995 até o ano de 2007, demonstra a importância do uso de biomassa aderida.

A imobilização, de acordo com Couto *et al.* (2004), é importante em vários processos biológicos, como no tratamento de águas residuárias, e é considerada um estado natural dos micro-organismos, já que a maioria dos fungos tende a aderir às superfícies.

Segundo Wallstommet *et al.* (2002), os biofilmes podem ser descritos como micro-organismos cobertos por uma matriz composta de substâncias poliméricas extracelulares, altamente hidratadas, com um percentual alto de água, de 85% a 98%. Conforme Rodrigues (2006), essas substâncias excretadas pelos próprios micro-organismos possuem propriedades adesivas o que facilita a imobilização do biofilme.

A ramificação do micélio auxilia os fungos filamentosos na colonização de substratos, especialmente os sólidos, pois a penetração da hifa pode levar a um mecanismo complementar na quebra da ligação química do composto e propiciar maior contato enzimático com o substrato, devido à elevada relação superfície/célula (WALLSTROM *et al.* 2002). Em superfícies porosas, segundo Petre *et al.* (1999), ocorre a penetração da hifa dentro dos poros, ligando o micro-organismo ao meio suporte.

De acordo com Bryers (1988), o processo de constituição de biofilmes envolve um conjunto de processos físicos, químicos e biológicos, como a adsorção de moléculas orgânicas sobre uma superfície, o movimento de células para a superfície, a adesão de microrganismos à superfície e, posteriormente, à primeira camada de células, o acúmulo de biofilme resultante do crescimento de micro-organismos e, por último, o desprendimento do biofilme.

A formação de biofilmes por fungos, em geral, dá-se início com a adesão de esporos a uma superfície. Ambos, micro-organismo e superfície, devem apresentar potenciais negativos para gerar repulsão eletrostática. Contudo, a presença de proteínas hidrofóbicas (hidrofobinas) no esporo provoca sua aderência à superfície o que dá início a germinação (VILLENA e GUTIÉRREZ-CORREA, 2003). Petre *et al.* (1999) afirmaram que fungos filamentosos apresentam enorme afinidade tanto por superfícies inorgânicas quanto orgânicas.

Os fungos podem aderir às superfícies de maneira induzida ou natural. Na aderência induzida (ou artificial), conforme Couto *et al.* (2004), os micro-organismos são retidos fisicamente, ou seja, sua fixação se dá nos interstícios de algum material fibroso ou poroso com a ajuda de um gel ou membrana. A principal desvantagem dessa técnica, de acordo com Petre *et al.* (1999), é a impossibilidade de imobilizar todas as células viáveis do

microrganismo, pois é um mecanismo que depende de fatores como a composição da parede celular, a idade da célula, a especificidade morfo-genética do micro-organismo e as propriedades físico-químicas da matriz de imobilização com a porosidade do material, o hidrogênio e as condições nutricionais do meio. Conforme Arica *et al.* (2001), os meios suportes mais usados para a técnica artificial de mobilização são polímeros naturais como alginato, quitosina, quitina e celulose.

Couto *et al.* (2004) diz que na forma natural a imobilização às superfícies ou a outros organismos acontece por meio de ligação química. Na imobilização natural, os materiais utilizados com mais frequência são espumas sintéticas de poliuretano e de nylon (Couto *et al.* (2004), além de mantas geotêxteis de poliamida e telas de poliéster (VILLENA e GUTIÉRREZ-CORREA, 2003; SAMPAIO, 2005).

Conforme Freitas Neto (2007) o maior problema enfrentado por quem opera sistemas imobilizados é o desconhecimento de mecanismos eficazes para controle da espessura do biofilme, o que pode implicar em limitações à transferência de massa e à obstrução do leito (colmatação do sistema) o que gera diminuição da eficiência do tratamento e, conseqüentemente, eventuais remoções da biomassa em excesso, conforme observado em Rodrigues (2006), ou, até mesmo, a retirada parcial ou total do meio suporte.

Jou e Huang (2003) *apud* Wanderley (2007) citam como vantagens da utilização de reatores com biomassa aderida frente aos de biomassa dispersa a simplicidade de operação, a capacidade de suporte de choques de carga orgânica, a baixa produção de sólidos e o baixo gasto de energia na operação. As técnicas de imobilização, de acordo com Papagianni e Matthey (2004), levam ao aumento significativo na produção de enzimas, além de diminuir problemas com formas morfológicas produzidas, porque acabam os riscos de autólise central, ocasionada pela limitação da passagem de oxigênio e glicose o que reflete em melhor remoção de matéria orgânica, obtendo-se efluente final de qualidade superior. Segundo Steffan *et al.* (2005), a imobilização é, portanto, uma técnica eficiente que permite a célula microbiana se proteger de ambientes desfavoráveis.

O crescimento aderido apresenta um grande potencial para remoção de compostos orgânicos e nutrientes, como nitrogênio e fósforo. Sua estrutura heterogênea possibilita sua utilização tanto no processo anaeróbio quanto no aeróbio, podendo ser exposto a estas duas condições alternadamente, como é necessário para a ocorrência da biorremoção do fósforo (GIESEKE *et al.* 2002).

Além disso, a formação de biofilmes aderidos a meios suportes proporciona o predomínio da espécie inoculada sobre as demais culturas livres em suspensão, favorecendo a formação de microambientes especiais, pela interação entre as espécies, e garantindo estabilidade das colônias (ALVES, 1999).

Park *et al.* (2006) observaram que a taxa de descoloração de efluentes coloridos com células imobilizadas de *Funalia trogii*, permaneceu estável por sucessivos experimentos durante o período de 10 dias.

Um dos motivos principais para essa alta estabilidade que a imobilização proporciona, segundo Speece (1996), está no fato desse sistema ser mais capaz de reter biomassa e, assim, propiciar maiores razões entre o tempo de retenção celular e o tempo de residência hidráulico ( $\theta_c / \theta_h$ ), o que reduz a tendência de arraste dos micro-organismos para fora do sistema.

Contudo, conforme Freire (2000), o processo de imobilização é extremamente complexo e, muitas vezes, dentro de cada etapa, ainda persistem aspectos não elucidados.

#### *Características dos meios suportes.*

De acordo com Alves (1999), em reatores, a formação do biofilme deve ser predominante sobre culturas livres em suspensão, o que torna o uso de meios suportes inertes essencial, pois estes têm a função de garantir a fixação da biomassa no reator, proporcionando aumento do tempo de retenção das células e, conseqüentemente, da eficiência do sistema de tratamento.

O método de adsorção, segundo Covizzi *et al.* (2007), é usado por sua simplicidade, baixo custo, fácil manipulação e grande variedade de suportes. Há um potencial de equilíbrio entre as células adsorvidas e livres, dependendo do crescimento microbiano e da densidade de células no suporte. A Equação 5, simula este equilíbrio entre as células livres ( $C_{\text{livres}}$ ), a adesão ao suporte (S) e as células imobilizadas ( $C_{\text{imobilizadas}}$ ).



Apilánéz *et al.* (1998) afirmam que diferentes materiais suportes podem proporcionar características totalmente distintas à adesão de biomassa e ao comportamento hidrodinâmico dos reatores, fatores essenciais para que o sistema tenha um bom desempenho.

A eficácia do suporte no processo de imobilização celular, segundo Covizzi *et al.* (2007), pode ser avaliada pela capacidade do suporte em abrigar a maior quantidade possível de células viáveis, sem limitar a transferência de massa entre o microrganismo e o meio.

A eficiência máxima a ser obtida, conforme Freire *et al.* (2004), é dependente do tipo de material usado, onde geralmente se destaca o carvão ativado, além de vidro, cerâmica, espuma de poliuretano, PVC, argilas, areia, alumina, e outros.

A escolha do material suporte deve ser muito criteriosa. Em estudo de três materiais suporte, Freire *et al.* (2004) avaliaram, inicialmente, os materiais (carvão ativado, basalto e alumina) em relação às suas principais características físicas (porosidade, área total de poros, diâmetro médio de poro, forma geométrica, densidade da partícula e densidade aparente) e depois, um a um, foram colocados dentro de um reator de leito fluidizado para avaliação do comportamento hidrodinâmico dos mesmos. Por último, um ensaio foi realizado para verificar seus potenciais de aderência de biomassa.

No que diz respeito ao caráter dinâmico, o carvão ativado apresentou o melhor desempenho. Isso significa, dentre outras vantagens, economia de energia, menor possibilidade de arraste de biomassa e maior tempo de vida útil dos equipamentos, que ficarão submetidos a menores pressões. Sua capacidade de adesão de biomassa foi quatro vezes maior que a da partícula de alumina. O basalto, por sua vez, apresentou resultados inferiores tanto nos testes hidrodinâmicos quanto nos de aderência, mostrando ser um material ruim para ser empregado como meio suporte. Concluíram, então, que o carvão ativado é um excelente material para ser utilizado em processos biológicos, principalmente em reatores de leito fluidizado, porque conseguem bons resultados físicos e biológicos e, também, que outras características podem ser analisadas, como o seu potencial hidrofóbico e hidrolítico, a capacidade de adsorção, a permeabilidade, a geometria, dentre outros.

Dependendo do objetivo da imobilização microbiológica, do seu tipo e do microrganismo inoculado, escolhe-se o material de suporte. A produção de pululana pelo fungo *Aureobasidium pullulans*, segundo West e Strohfus (2001), por exemplo, apresentou maior rendimento quando foi utilizada espuma de poliuretano como material suporte, em comparação com cubos de ágar ou de alginato de cálcio, devido às limitações na transferência de massa causadas pelos últimos.

Há alguns materiais, mais específicos, como pedaços de maçã, por exemplo, que, conforme Kourkoutas *et al.* (2001), são empregados para imobilizar *Saccharomyces cerevisiae* em processos de vinificação, mostrando-se como uma alternativa de baixo custo e

compatível com o aroma e sabor dos vinhos. Ocorre, também, de acordo com Gerin *et al.* (1997), o emprego de peneiras de aço inoxidável na imobilização de *P. chrysosporium*, visando à produção de peroxidases, e de peças de cerâmicas como suporte para imobilizar *Candida tropicalis* no tratamento de resíduos ricos em carboidratos procedentes de indústrias alimentícias.

Exemplos de materiais suporte utilizados para imobilização em tratamento de águas residuária são expostos na Tabela 7.

**Tabela 7 - Exemplos de materiais suportes.**

<b>Meio suporte</b>	<b>Pesquisador</b>
Espuma de poliuretano	Silva (2009)
Fita plástica, espuma de poliuretano, cascas de ostras, argila em pelets, plástico reciclado e redes de nylon	Souto (2007)
PVC e PET	Bortolotto (2004)
Fibras de polipropileno	Díaz <i>et al.</i> (2001)

Silva (2009) estudou a biodegradabilidade do corante Vermelho do Congo em meio aquoso sintético pela espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 em reatores em batelada dispersa e imobilizada em espuma de poliuretano. Na fase em que a espécie foi imobilizada nas espumas de poliuretano houve aumento no percentual de eficiência. Como justificativa dessa melhora de eficiência, afirmou que a formação de biofilme aderido à superfície do suporte predominou sobre culturas livres em suspensão, havendo a criação de micro-ambientes especiais pela interação entre as espécies, o que favoreceu o conjunto como um todo e garantiu grande estabilidade às colônias.

Souto (2007) analisou a redução da matéria orgânica e nitrogenada de esgoto doméstico utilizando reatores, do tipo lodo ativado, híbridos de fluxo contínuos (RHFC's) e um reator híbrido em bateladas seqüenciais (RHBS). Os RHFC's foram operados em três etapas, sendo que na etapa 1 utilizaram-se três materiais suporte diferentes confinados separadamente em redes de nylon: fita plástica, espuma de poliuretano e cascas de ostras. Na etapa 2, os materiais suporte eram argila em pelets e plástico reciclado e na 3ª etapa, redes de nylon fixadas em armação de madeira. Os reatores apresentaram eficiências médias entre 66% e 79% na remoção da DQO<sub>T</sub> e na nitrificação entre 41% e 68%.

Bortolotto *et al.* (2005) descreveram o comportamento de um reator de leito fluidizado seqüencial em batelada (RLFSB), em escala piloto, usando como material suporte

o PET e o PVC, possuindo densidades de  $1322 \text{ Kg/m}^3$  e  $1329 \text{ Kg/m}^3$  e diâmetro médio de 2,53 mm e 4,02 mm, respectivamente, no tratamento de esgoto urbano, visando a remoção da matéria carbonácea e nitrogenada. O reator com PET foi operado em ciclos de 24 horas, com coleta apenas nas primeiras 12 horas; sendo o com PVC em ciclos de 12 horas. O reator apresentou remoção de amônia e DQO de 98% e 79%, respectivamente, para o PET e de 99% e 87%, respectivamente, para o PVC.

Díaz *et al.* (2001) empregaram um consórcio de bactérias halotolerantes no tratamento de águas salinas contaminadas por derramamento de óleo. As células imobilizadas em fibras de polipropileno mostraram-se mais eficientes e mais estáveis diante de incrementos de salinidade, apresentando maior viabilidade celular e desempenho em altas concentrações de NaCl (180 g/L).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em duas etapas: a primeira com reatores em batelada e a segunda com um reator do tipo fluxo contínuo e ascendente, ambos inoculados com esporos de *Aspergillus niger* AN 400, sendo usados fragmentos de PET como meio suporte em ambas as configurações, e espuma de poliuretano, somente no regime em batelada.

### 4.1 Composição da Água Residuária Sintética de Laticínio

A água residuária, fonte de macro e micronutrientes, utilizada em ambos os sistemas de tratamento nesta proporção, simulou efluente de indústria de laticínio. A composição, apresentada na Tabela 8, foi adaptada de Healy *et al.* (2006).

**Tabela 8 – Composição da água sintética de laticínio. Massa para 20 L.**

Nome do componente	Fórmula	Massa (g)
Leite em pó integral	-	28,800
Uréia	(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO	5,400
Cloreto de amônio	NH <sub>4</sub> Cl	11,666
Fosfato de sódio monobásico - monoidratado	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O	18,000
Carbonato de potássio	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	12,000
Hidrogenocarbonato de sódio	NaHCO <sub>3</sub>	31,200
Sulfato de magnésio heptaidratado	MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	12,000
Sulfato ferroso heptaidratado	FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,480
Sulfato de manganês monoidratado	MnSO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O	0,480
Cloreto de cálcio diidratado	CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0,720

Fonte: Adaptada de Healy *et al.* (2006).

As substâncias foram todas misturadas à água coletada diretamente da torneira, na qual se adicionou 0,1 g/L de sacarose, para ambos os sistemas, e 0,05 g/L do antibiótico cloranfenicol, somente no reator contínuo.

No início da operação do sistema contínuo, devido ao entupimento da tubulação, a proporção entre os reagentes e a água foi reduzida pela metade. Além disso, antes da operação o NaHCO<sub>3</sub>, o NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> . H<sub>2</sub>O e o NH<sub>4</sub>Cl foram eliminados 10 dias, 7 dias e no início da operação, respectivamente.

## 4.2 Inoculação do Fungo

A espécie *Aspergillus niger* AN 400 foi escolhida, pois, com base em referências de literatura, esta linhagem tem sido empregada com êxito no tratamento dos mais variados efluentes contendo desde produtos lácteos até substâncias persistentes, como Sá (1992), Kapoor e Viraraghavan (1998), Sampaio (2005), Andrade *et al.* (2007), Félix (2009) e Silva (2009).

Nesta pesquisa, o inóculo *Aspergillus niger* AN 400 foi cedido originalmente pelo Laboratório de Tecnologia Ambiental – LATAM do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - IFCE, na forma de suspensão de esporos. A partir da concentração resultante da suspensão mãe de esporos ( $4,33 \times 10^{10}$ ) foi calculado o volume a ser inoculado nos reatores que correspondesse à concentração de  $2 \times 10^7$  esporos  $\cdot \text{mL}^{-1}$ . O cálculo desse volume foi efetuado de acordo com a Equação 6.

$$\text{Esporos} \cdot \text{mL}^{-1} = \frac{2 \times 10^7 \text{ esporos} \cdot \text{mL}^{-1} \times 1000 \text{ mL}}{4,33 \times 10^{10}} \quad (\text{Eq. 6})$$

Após a disposição da água residuária e do material suporte nos reatores, inoculou-se com pipeta automática, próximo ao bico de Bunsen, a fim de evitar contaminação pelo meio, um volume aproximado de 460  $\mu\text{L}$  dos esporos de *Aspergillus niger* AN 400, na concentração de  $2 \times 10^7$  esporos  $\cdot \text{mL}^{-1}$ .

## 4.3 Reatores em Batelada Sequencial

### *Materiais suportes*

Os reatores em batelada foram instalados no Laboratório de Tecnologia Ambiental – LATAM do IFCE, a uma temperatura aproximada de 27 °C. Em suas montagens utilizaram-se dois materiais sintéticos como suporte: cubos de espuma e fragmentos de PET.

Os cubos de espuma de poliuretano, medindo 2,0 cm de aresta, foram utilizados, após serem lavados em água corrente, autoclavados para esterilização e secos em estufa. Em geral, 30 cubos apresentavam peso médio de 3,12 g.

Os pedaços de PET foram triturados até aproximadamente 4,0 cm<sup>2</sup> em equipamento industrial. Em geral, 49,23 g foi o peso equivalente a uma média de 100 pedaços de PET

triturado. Finalmente os fragmentos de PET foram descontaminados com ácido clorídrico P.A. e secos.

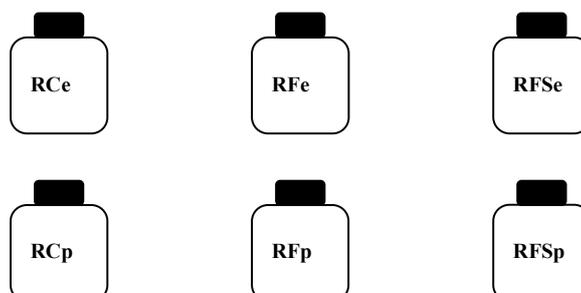
Ambos os materiais suportes, depois de pesados, foram acomodados, separadamente, em redes de polietileno e colocados no interior dos reatores de trabalho.

### *Montagem e operação dos reatores*

O ensaio foi realizado em um período de 20 dias, sendo dividido em 4 ciclos de 5 dias. Os reatores utilizados constituíram-se em recipientes de vidro com volume útil de 1500 mL, para o primeiro ciclo, e 3000 mL para os demais, sendo o volume reacional de 1000 mL e 1500 mL, respectivamente. Experimentalmente, utilizaram-se seis reatores, operados em regime de batelada, vedados por meio de tampas plásticas específicas, nas quais foi feito um pequeno orifício para a entrada do ar proveniente do aerador artificial (vazão de ar de 150 L/h). Antes de montar os reatores, os mesmos foram descontaminados com ácido clorídrico P.A.

Todos os reatores continham água residuária de laticínio de igual composição, além de terem sido aerados continuamente por minicompressores de ar. O oxigênio foi difundido no meio líquido através de pedras porosas.

Para os seis reatores operados, em quatro foi adicionado inóculo fúngico, sendo dois possuindo como material suporte os pedaços de PET e os outros empregando a espuma de poliuretano. Adicionou-se, ainda, sacarose como cossubstrato em dois dos quatro reatores inoculados. Os reatores foram montados em duplicata a fim de se conseguir maior precisão nos resultados. O meio não foi acidificado visto que a água residuária já apresentava pH adequado. Na Figura 3 é mostrada a configuração dos reatores em estudo e na Tabela 9 a descrição das siglas empregadas.



**Figura 3 - Disposição esquemática dos reatores em batelada.**

**Tabela 9 - Descrição das siglas empregadas nos reatores em batelada.**

<b>Reator</b>	<b>Descrição</b>
RCe	Reator Controle com espuma como suporte.
RCp	Reator Controle com PET triturado como suporte.
RFe	Reator com Fungos usando espuma como suporte.
RFp	Reator com Fungos usando PET triturado como suporte.
RFSe	Reator com Fungos e adição de Sacarose usando espuma como suporte.
RFSp	Reator com Fungos e adição de Sacarose usando PET triturado como suporte.

As alíquotas de água residuária foram retiradas a cada 24 h, ou seja, ao fim do 1º, 2º, 3º, 4º e 5º dias de operação, de maneira a monitorar o sistema. Ao término de cada ciclo a água residuária era trocada por outra de mesma composição.

#### *Modelagem da cinética de degradação*

O estudo da cinética de degradação dos reatores foi realizado por meio da modelagem linear de primeira ordem dos resultados obtidos nos reatores em batelada. A Equação 7 foi àquela utilizada neste estudo, em termos de DQO.

$$\ln (DQOf / DQOi) = - k \times t \quad (\text{Eq.7})$$

Onde: DQOf = DQO final; DQOi = DQO inicial; K = constante de velocidade; t = tempo.

#### **4.4 Reatores de Fluxo Contínuo e Ascendente.**

##### *Confecção do reator*

O reator contínuo foi confeccionado a partir de garrafas PET recicladas em formato tubular com diâmetro externo de 100 mm, espessura das paredes de 5,00 mm, altura de 1,00 m, volume total de 5,00 L e volume útil de 4,85 L. O sistema possuía entrada e saída para a água residuária na parte inferior e superior, respectivamente, a fim de possibilitar o fluxo no sentido ascendente, ou seja, a introdução da água residuária de baixo para cima. A aeração foi realizada por três minicompressores de ar (vazão de ar de 150 L/h) via mangueiras específicas acopladas a três entradas ao longo do reator.

Ao longo do eixo longitudinal dos reatores foram colocados três contentores de material suporte na forma de placas perfuradas de 10 cm adaptadas ao equipamento, possuindo no centro passagem para uma haste em inox, fixada por encaixe no fundo do reator.

A função desses contentores foi evitar o deslocamento do meio suporte e seu consequente arraste para fora do reator.

O reator foi instalado no LATAM – IFCE e operado em temperatura média de 28°C, em regime de escoamento contínuo. Na Figura 4 é mostrada a fotografia do reator em questão.



**Figura 4 – Fotografia do reator contínuo.**

#### *Material suporte*

Como materiais suportes foram utilizados fragmentos de PET de aproximadamente 4,0 cm<sup>2</sup> cortados em equipamento industrial apropriado. Colocou-se o material suporte em sacos de polietileno formando-se esferas de, aproximadamente, 50 g. O material foi deixado por 48 h dentro do reator aerado e tratado com bombeamento de ácido clorídrico 10% a fim de descontaminar o próprio reator, o meio suporte e as mangueiras. Passado o período de

descontaminação, esvaziou-se o reator e bombeou-se por 72 h água da torneira por todo o sistema, a fim de eliminar qualquer vestígio de ácido. Após o período de lavagem, esvaziou-o.

#### *Período de adaptação fúngica*

Após a verificação de seu perfeito funcionamento em termos de estanqueidade física e ajuste de vazão, o reator foi preparado para o período de adaptação do fungo. Primeiramente, o reator foi preenchido com o material suporte até cerca de 2/3 de sua capacidade total e 5000 mL da água residuária sintética de laticínio, contendo sacarose e cloranfenicol. Por último, inocularam-se os esporos de *Aspergillus niger* AN 400 deixando o reator sem aeração e escoamento, durante 24 horas, a fim de permitir um melhor desenvolvimento dos micélios. Posteriormente, o reator passou a ser aerado e permaneceu por mais cinco dias nessa condição, até o melhor estabelecimento do biofilme.

Após esse período, a água residuária passou a ser bombeada e trocada a cada 96 h, permanecendo desta maneira até o momento em que a remoção de DQO obteve uma linha de tendência oscilante, mas periódica. Nos 42 dias do período de adaptação do fungo, analisou-se apenas o pH e a DQO do meio. O pH do afluente foi mantido em faixa ácida (3,0 a 5,0), através da acidificação com ácido sulfúrico P.A., a fim de favorecer o crescimento de *Aspergillus niger* e minimizar a possibilidade de contaminação por espécies bacterianas.

Passados 15 dias do período de aclimação, o cloranfenicol não foi mais adicionado e após 37 dias eliminou-se, da composição da água residuária, o NaHCO<sub>3</sub> e reduziu-se a quantidade do NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O para 32 g, sendo este excluído da composição após mais 4 dias de tratamento.

#### *Relação C/N*

No início da operação do reator contínuo, observou-se o entupimento da tubulação do reator, o qual estava impedindo até o escoamento da água residuária. Optou-se por calcular a relação entre carbono e nitrogênio a fim de se buscar a solução do problema.

Calculou-se inicialmente, a massa molar de todas as substâncias fontes de carbono ou nitrogênio. Estabeleceram-se regras de três com a massa molar da substância e a massa do elemento para o qual se desejava calcular a porcentagem, no caso carbono ou nitrogênio, sendo depois somados os valores referentes a cada elemento, em separado. Por último, fez-se a proporção entre os dois elementos, para achar qual proporção estava estabelecida no reator.

Visto que a relação C/N estava 1,73, ou seja, havia mais fonte de carbono proporcionalmente ao outro elemento, optou-se por reduzir a quantidade dos reagentes pela metade, exceto a sacarose, e não acrescentar mais o  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , a fim de minimizar o crescimento excessivo dos micro-organismos que estava determinando até o entupimento da tubulação do reator. Com essa mudança, esperou-se que as fontes de carbono e nitrogênio se equilibrassem.

#### *Operação do reator*

Para o tratamento, o reator foi operado por 103 dias com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 8 horas. A fim de manter esse TDH, diariamente mediu-se a vazão do reator que deveria atingir 10 mL em 56 s.

Observou-se, diariamente, o volume de água residuária no recipiente de entrada, no intuito de evitar a sucção de ar, o que ocorria quando havia quantidade insuficiente do líquido a ser bombeado. Nessa condição, bolhas de ar entravam no interior da bomba provocando sua quebra ou falhas de operação.

Todos os dias, através de visualização ocular, analisavam-se o crescimento dos fungos e os fatores relacionados a este, ou seja, possíveis rotas preferenciais de crescimento, a difusão do oxigênio, o grau de colmatação do reator e possíveis vazamentos.

#### **4.5 Método de Análise do Crescimento Microbiano**

A fim de verificar se o micro-organismo inoculado estava presente e predominando no meio, no decorrer do experimento foram realizadas inspeções microbiológicas nos materiais suportes dos reatores, em bateladas e contínuo, seguindo a metodologia de Bastos (2008).

A biomassa aderida em amostras dos meios suportes foi removida e diluída em água destilada esterilizada ( $120^\circ\text{C}$  a 1 atm) a  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  e, em seguida, 1 mL de cada diluição foi colocada em placas de Petri contendo meio de cultura Sabouraud. As placas foram mantidas à temperatura ambiente ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ), durante o período de uma semana para verificação das colônias.

O crescimento dos microrganismos foi medido apenas visualmente. No caso do reator contínuo, a densidade foi obtida multiplicando-se a média das contagens das colônias por placa pela diluição utilizada, sendo o resultado expresso como Unidades Formadoras de Colônias UFC/mL.

#### 4.6 Análise das Variáveis do Processo

As variáveis determinadas durante a pesquisa envolveram o pH e os teores de nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ), amônia ( $\text{N-NH}_3$ ), ortofosfato ( $\text{P-PO}_4^{3-}$ ) e matéria orgânica, quantificados em amostras brutas. As variáveis foram determinadas segundo os métodos descritos em APHA (2005), exceto a quantificação de amônia, de Silva e Oliveira (2001), e nitrato, conforme Rodier (1975). O pH do meio também foi monitorado, a fim de verificar sua influência na degradação fúngica. Os métodos utilizados são mostrados na Tabela 10.

**Tabela 10 - Variáveis determinadas e métodos utilizados.**

<b>Variável</b>	<b>Método</b>
DQO	Espectrofotométrico (Digestão)
pH	Potenciométrico
Nitrato	Salicilato de Sódio
Amônia	Nesslerização direta
Ortofosfato	Ácido ascórbico

A eficiência em termos de remoção das variáveis foi calculada utilizando a Equação 8.

$$E = [(C_e - C_a) \times 100] / C_e \quad (\text{Eq. 8})$$

Onde: E = Eficiência de remoção (%),  $C_e$  = Concentração da variável no efluente (mg/L);  
 $C_a$  = Concentração da variável no afluente (mg/L).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Tratamento Aeróbio nos Reatores em Batelada

#### *Caracterização da água residuária*

Os resultados referentes à caracterização da água residuária sintética de laticínio são apresentados na Tabela 11.

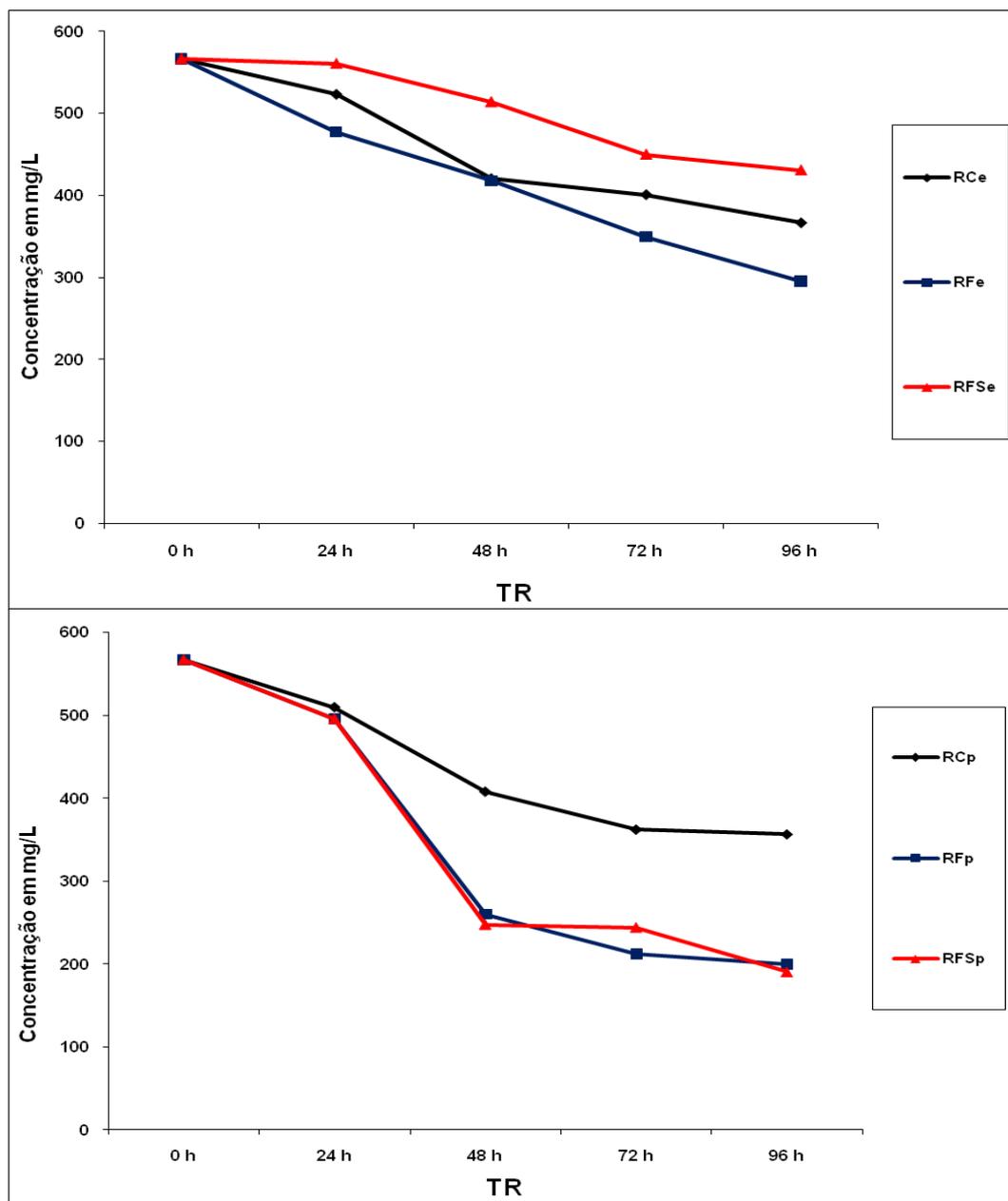
**Tabela 11 – Caracterização da água residuária sintética da batelada.**

<b>Parâmetro</b>	<b>Valor</b>
pH	7,38
DQO (mg O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	566,49
Nitrato (mg.L <sup>-1</sup> )	2,69
Amônia (mg.L <sup>-1</sup> )	21,80
Ortofosfato (mg.L <sup>-1</sup> )	2,68

Nas seções seguintes serão apresentados os estudos de remoção das diversas variáveis investigadas neste trabalho.

#### *Remoções de DQO*

Na Figura 5 estão as variações das concentrações de DQO no 1º ciclo dos reatores com espuma e daqueles com PET.



**Figura 5 – Variação da concentração de DQO no 1º ciclo dos reatores em batelada.**

Verificou-se pela Figura 5 que nesse ciclo o comportamento dos reatores, de ambas as configurações, foi semelhante, ocorrendo queda na concentração de DQO logo no TR de 24 h, remoção relacionada, provavelmente, à atividade microbológica de degradação.

Em geral, os reatores com espuma e adição de sacarose apresentaram maiores concentrações desta variável quando comparado com os demais, o que deve ter sido devido à presença do cossustrato que se comportou como substância interferente. Silva (2009), ao trabalhar com *Aspergillus niger* no tratamento em batelada de água residuária sintética contendo corante azo, observou também que a adição de uma fonte primária de carbono nos

reatores favoreceu o aumento da DQO na caracterização da água residuária, com concentração de 554 mg/L, ao contrario do etanol que resultou em meio cuja concentração inicial de DQO foi de 178 mg/L.

O fato dos reatores controles terem se comportado de maneira similar aos demais, embora com concentrações sempre maiores, revelou tendência de remoção, o que pôde ser associado à possível presença de micro-organismos contaminantes, visto que, teoricamente, essas alterações não deveriam ocorrer nesse tipo de reator.

Neste ciclo, observou-se que as concentrações nos reatores com PET como material suporte, quando comparados com aquelas dos reatores com espuma, sofreram maiores reduções na concentração de DQO. Isto pode estar associado ao fato de neste ciclo ter havido contaminação do meio com os resquícios do ácido clorídrico P.A. usado na descontaminação dos reatores. Os valores de pH, neste ciclo, ficaram abaixo de 1,0, ou seja, as condições do meio provavelmente inibiram o desenvolvimento de parte dos micro-organismos ou até mesmo provocaram sua lise celular, com a consequente diminuição da degradação da água residuária.

A Tabela 12 mostra os valores encontrados no estudo da cinética de degradação do 1º ciclo.

**Tabela 12 – Valores de remoção de DQO e da constante cinética de primeira ordem na degradação de efluente de laticínio (1º ciclo) por *Aspergillus niger* AN 400 a 27°C e TR de 96 h.**

Tipo de reator	Espuma poliuretânica			PET		
	% REMOÇÃO	K x 10 <sup>-2</sup> (h <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	% REMOÇÃO	K x 10 <sup>-2</sup> (h <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
RC	35,3	0,47	0,95	37,1	0,53	0,94
RF	47,8	0,67	1,00	64,8	1,22	0,91
RFS	24,0	0,32	0,94	66,4	1,20	0,90

RC: reator controle, RF: reator com fungo, RFS: reator com fungo e sacarose (0,1 g/L) como cossustrato, R<sup>2</sup>: coeficiente de correlação.

Conforme a Tabela 12 verificou-se que nos reatores com espuma, igualmente ao RCp, a taxa de remoção varia proporcionalmente à cinética de degradação dos micro-organismos, ou seja, degradou mais aquele reator cuja velocidade de remoção foi maior. Já os reatores inoculados e com PET se comportaram de maneira distinta. Nesses a proporcionalidade foi invertida, quando a taxa de remoção foi maior, a velocidade de

degradação foi menor, o que pode ter sido influenciado pela contaminação com HCl da descontaminação inicial sofrida por esses reatores ou até mesmo pelo tipo de material suporte que não proporcionou a adsorção que a espuma ofereceu. Verificou-se também que mesmo dobrando suas velocidades de degradação esses últimos reatores não atingiram taxas de remoções proporcionalmente maiores, o que demonstrou menor eficiência.

A Figura 6 mostra as variações das concentrações de DQO no 2º ciclo dos reatores com espuma e daqueles com PET.

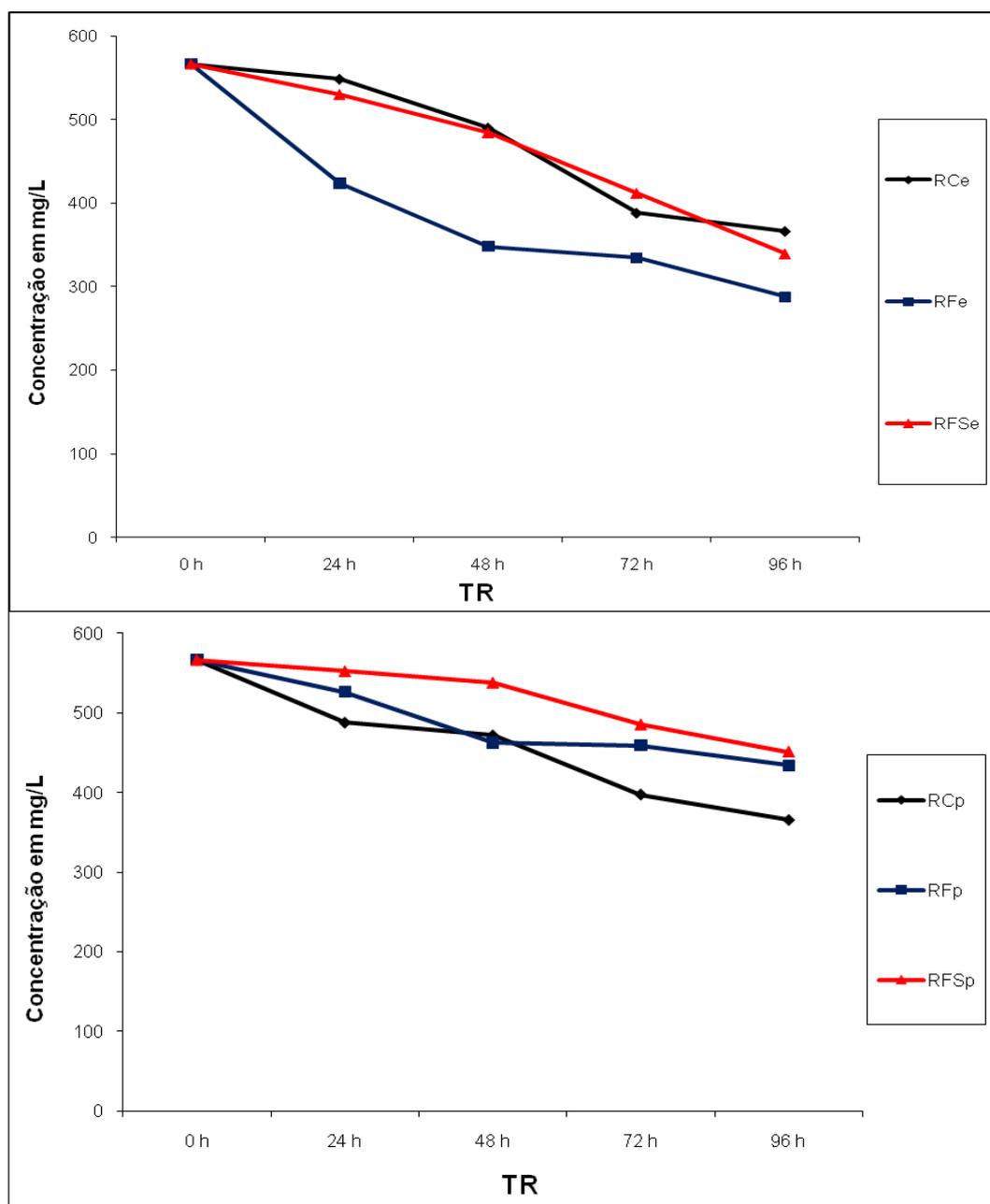


Figura 6 – Variação da concentração de DQO no 2º ciclo dos reatores em batelada.

Novamente, os RFS apresentaram concentrações maiores de DQO do que os RF. Como as análises realizadas nos ciclos de todos os reatores foram realizadas sem qualquer tipo de centrifugação ou filtração, provavelmente, a sacarose e/ou parte da biomassa foi somada aos resultados de concentração de DQO. Rodrigues (2006), utilizando biorreatores com fungos na remoção de fenol de água residuária sintética, obteve remoções médias de matéria orgânica no efluente bruto dos reatores de  $88\% \pm 5$  enquanto que no filtrado foram de  $93\% \pm 4$  e  $92\% \pm 6$ . Isso foi associado à presença de fragmentos do biofilme nos efluentes não filtrados.

Neste ciclo, os reatores com PET apresentaram concentrações maiores do que aqueles com espuma, embora tenham apresentado valores menores aos iniciais. Este aumento pode estar associado à adsorção que possivelmente ocorreu na espuma e não ocorreu no PET, mascarando assim a real degradação dos reatores. Neste ciclo, provavelmente não houve tempo suficiente para um bom estabelecimento do biofilme no PET, visto as características deste material não terem permitido adsorção similar àquela da espuma, o que dificultou a degradação do meio. Além disso, parte dos micro-organismos inoculados no 1º ciclo do experimento pode ter sido carreada com a água residuária desprezada no ciclo inicial, devido à facilidade com que este material suporte se soltava da rede de polietileno que o acomodava. A suposta perda parcial dos micro-organismos deve ter ocasionado esse período de alta na concentração de DQO presenciado.

Outro fator que pode estar envolvido com esse aumento de DQO foi o fato deste ciclo ter funcionado como período de readaptação dos micro-organismos sobreviventes do 1º ciclo, o qual sofreu contaminação por HCl remanescente, visto que no ciclo passado o meio permaneceu com acidez muito elevada e no 2º ciclo, com a troca da água residuária, os valores de pH já oscilavam na faixa dos demais.

A Tabela 13 mostra o estudo da cinética de degradação do 2º ciclo.

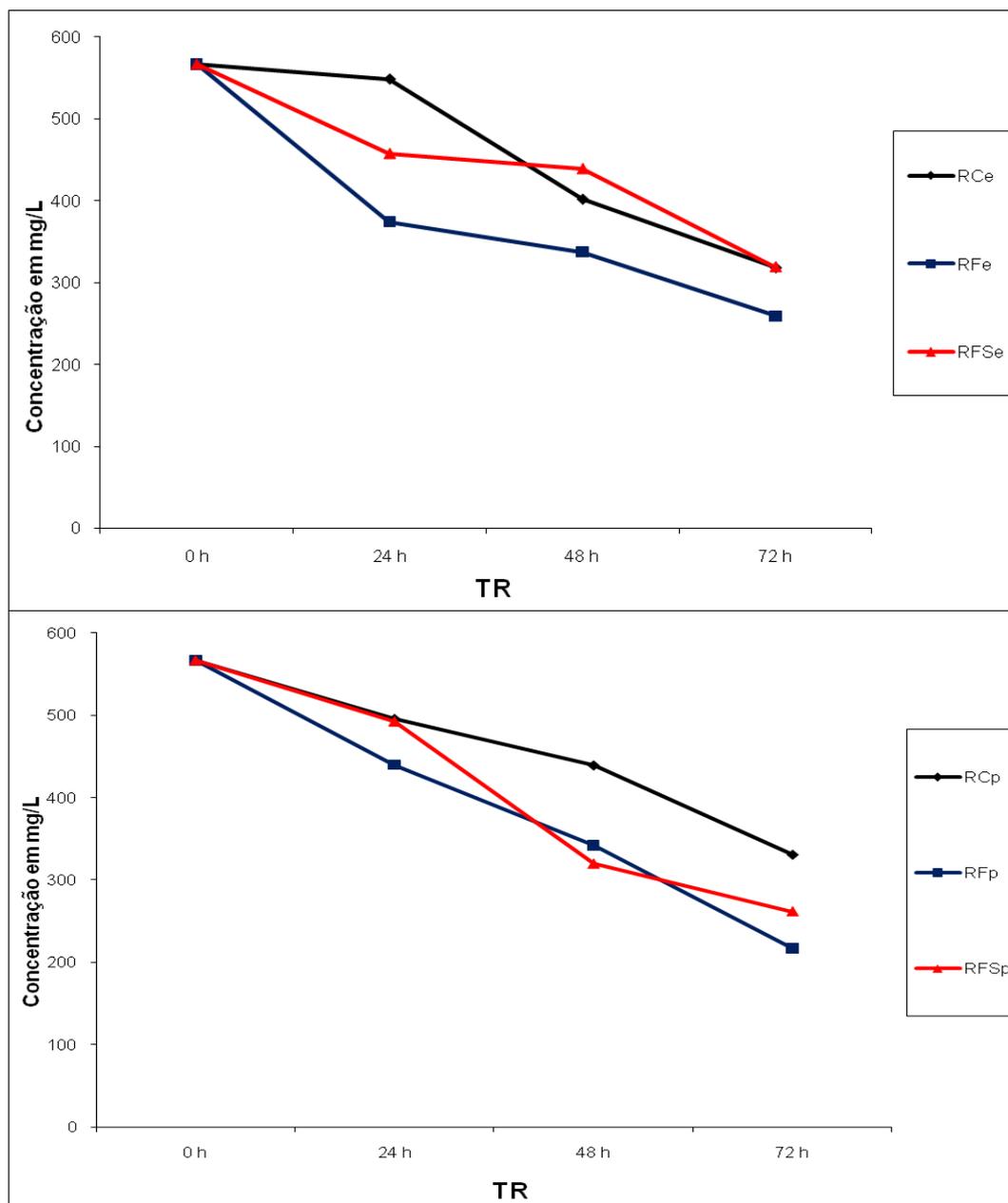
**Tabela 13 – Valores de remoção de DQO e da constante cinética de primeira ordem na degradação de efluente de laticínio (2º ciclo) por *Aspergillus niger* AN 400 a 27°C e TR de 96 h.**

Tipo de reator	Espuma poliuretânica			PET		
	% REMOÇÃO	$K \times 10^{-2} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	$R^2$	% REMOÇÃO	$K \times 10^{-2} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	$R^2$
RC	35,3	0,51	0,94	35,5	0,45	0,97
RF	49,2	0,66	0,93	23,4	0,28	0,93
RFS	40,1	0,53	0,95	20,4	0,24	0,93

RC: reator controle, RF: reator com fungo, RFS: reator com fungo e sacarose (0,1 g/L) como cossustrato,  $R^2$ : coeficiente de correlação.

Ao observar a Tabela 13, constatou-se que a taxa de remoção continuou a variar proporcionalmente à velocidade de degradação dos reatores. No RFp e no RFSp, em comparação com o comportamento deste no 1º ciclo, as constantes cinéticas reduziram, em média, quatro vezes ao passo que as porcentagens de remoção apenas três, o que refletiu a melhor eficiência do sistema. Esse comportamento pode ter sido influenciado pela contaminação com HCl sofrida por esses reatores no 1º ciclo. Verificou-se uma maior facilidade de degradação pelos micro-organismos nos reatores com PET do 2º ciclo que, mesmo apresentando taxas de remoção inferiores àsquelas do ciclo passado, conseguiram-nas com velocidades proporcionalmente menores.

Na Figura 7 podemos visualizar as variações das concentrações de DQO no 3º ciclo dos reatores com espuma e daqueles com PET.



**Figura 7 – Variação da concentração de DQO no 3º ciclo dos reatores em batelada.**

Os reatores com sacarose, em consonância com os resultados apresentados nos ciclos anteriores, revelaram-se nesse ciclo menos eficientes quanto à remoção de DQO do que os RF. De acordo com Ikeda *et al.* (2006), a fonte de carbono, ao ser utilizada pelo *Aspergillus niger* na síntese de biomassa, produz metabólitos que podem ser acumulados no interior das células ou excretados. Nesse caso, devido ao excesso da sacarose, pode ter ocorrido a soma desses metabólitos aos valores de DQO encontrados nos reatores com acréscimo deste cossustrato, mascarando assim sua eficiência.

Novamente os reatores que mostraram maiores eficiências na remoção de DQO foram os RFe e RFp. Este momento específico e os resultados dos demais ciclos, principalmente no TR de 96 h, comprovaram a melhor adaptação dos micro-organismos inoculados sem adição da sacarose.

A Tabela 14 mostra o estudo da cinética de degradação do 3º ciclo.

**Tabela 14 – Valores de remoção de DQO e da constante cinética de primeira ordem na degradação de efluente de laticínio (3º ciclo) por *Aspergillus niger* AN 400 a 27°C e TR de 72 h.**

Tipo de reator	Espuma poliuretânica			PET		
	% REMOÇÃO	$K \times 10^{-2} (h^{-1})$	$R^2$	% REMOÇÃO	$K \times 10^{-2} (h^{-1})$	$R^2$
RC	43,8	0,85	0,93	41,6	0,72	0,96
RF	54,3	1,02	0,95	61,7	1,30	0,98
RFS	43,7	0,73	0,92	53,8	1,15	0,96

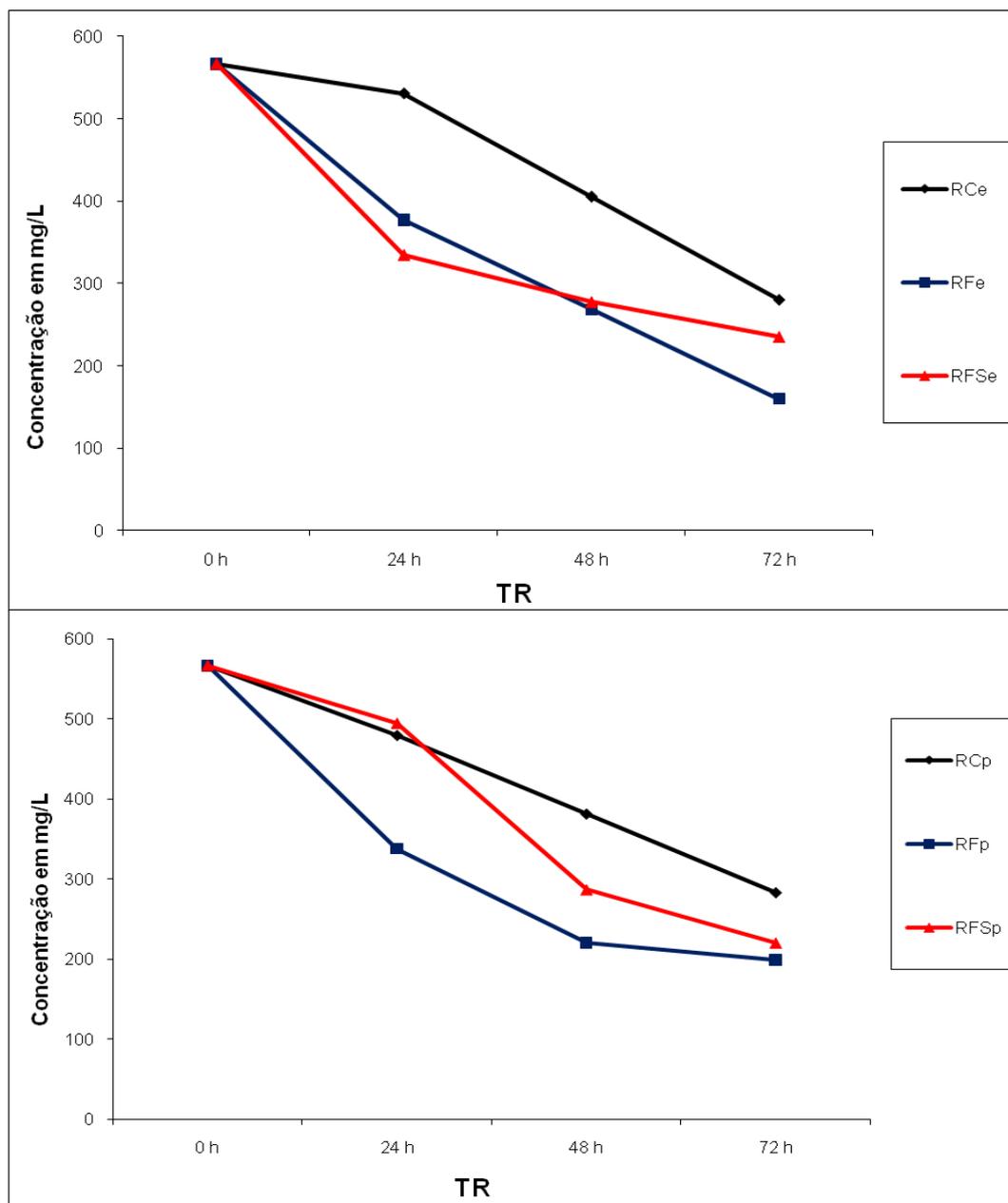
RC: reator controle, RF: reator com fungo, RFS: reator com fungo e sacarose (0,1 g/L) como cossustrato,  $R^2$ : coeficiente de correlação.

A partir desse ciclo, como as taxas de remoção no TR de 72 h já eram satisfatórias, o TR de 96 h foi desconsiderado, pois a tecnologia demonstrou otimização ao atingir mais rapidamente remoções similares.

De acordo com a Tabela 14, verificaram-se que para os reatores inoculados e com PET alcançarem as taxas apresentadas, os mesmos tiveram que atingir velocidades de degradação muito maiores àquelas dos com espuma. Por exemplo, no RFp a taxa de cinética foi maior embora a porcentagem de remoção tenha atingido valores proporcionalmente menores, ou seja, aqueles com PET precisaram de uma velocidade de degradação maior para atingir remoções similares, o que demonstrou perda de eficiência.

Em relação aos reatores com PET, estes conseguiram remover maiores quantidades de DQO, embora com velocidades proporcionalmente maiores do que aquelas do ciclo passado nos mesmos reatores.

A Figura 8 mostra as variações das concentrações de DQO no 4º ciclo dos reatores com espuma e daqueles com PET.



**Figura 8 – Variação da concentração de DQO no 4º ciclo dos reatores em batelada.**

Percebeu-se que as concentrações no TR de 72 h foram, em geral, as menores do experimento, provavelmente reflexo de uma biomassa mais adaptada ao meio, posto o sistema já estava no último ciclo.

O reator com presença da sacarose, em geral, apresentou valores acima daqueles encontrados nos demais, o que pressupõe que aconteceu o mesmo ocorrido na maioria dos TR dos ciclos passados: a sacarose mascarou a eficácia dos RFS ao passo que a mesma deve ter juntado-se à matéria orgânica presente na água residuária e proporcionado resultados maiores de concentração de DQO ou até mesmo inibido os micro-organismos. Leitão *et al.* (2006)

trabalharam com a degradação de fenol com uma cepa de *Penicillium chrysogenum* halotolerante, enriquecida com glicose na concentração de 3%, observaram inibição do consumo de fenol presente em meio sintético.

Cereti *et al.* (2004), assim como neste trabalho, também utilizaram *Aspergillus niger* como inóculo, porém, em um reator “arlift” para tratamento de água residuária de fábrica de azeite de oliva, com matéria orgânica na concentração de 36000 mg.DQO.L A operação ocorreu no regime de batelada repetida, sendo que a cada 48 h, parte do líquido era removido (90%) e o reator realimentado, perfazendo um total de 5 ciclos. A capacidade dos fungos em remover os poluentes do meio aumentou com o tempo e a maior remoção de matéria orgânica (64%), medida em DQO, ocorreu no quarto ciclo, também.

Verificou-se pela Figura 8, picos nas concentrações do RFSp. Como as análises de DQO foram das amostras brutas, ou seja, sem centrifugação ou filtração, a massa de fungos despreendida ocasional e parcialmente provavelmente aumentou a concentração dessa variável somando-se aos resultados finais, nesta pesquisa. Portanto, em geral, esses reatores apresentaram concentrações mais elevadas contendo inclusive picos ocasionais de DQO.

Segundo Melo *et al.* (2009), por ser composta por dois diferentes monossacarídeos, a sacarose supostamente deveria conferir maior energia ao micro-organismo e, conseqüentemente, uma melhor eficiência de remoção sobre os demais cossustratos. Contudo, de acordo com Melo *et al.* (2009) e Jennings (1995), o excesso de substrato causa inibição, o que sugeriu que as remoções inferiores alcançadas nos RFS, em praticamente todos os ciclos, possam ser assim justificadas.

Todavia, Rodrigues (2006) obteve remoções de DQO de 27% sem o uso do substrato primário e 100% com a sua utilização. Segundo a autora, a adição de glicose estimula o crescimento dos fungos na fase inicial de desenvolvimento e acarreta condições melhores de crescimento, o que promove, mais rapidamente, a adaptação desses micro-organismos aos compostos do meio, resultando em maior crescimento de biomassa e, conseqüentemente, melhores eficiências de remoção.

O uso da glicose nos reatores com fungos de Silva (2009) proporcionou a obtenção de maiores eficiências de remoções da concentração de DQO bruta (91%), no 10º dia, coincidindo ainda com uma enorme remoção de corante (94%).

Dessa maneira, conforme Wanderley (2007), a obtenção de boa eficiência no tratamento pelo uso da glicose deve ter relação, dentre outros fatores, com a espécie utilizada bem como com o tipo de efluente.

A Tabela 15 mostra o estudo da cinética de degradação do 4º ciclo.

**Tabela 15 – Valores de remoção de DQO e da constante cinética de primeira ordem na degradação de efluente de laticínio (4º ciclo) por *Aspergillus niger* AN 400 a 27°C e TR de 72 h.**

Tipo de reator	Espuma poliuretânica			PET		
	% REMOÇÃO	K x 10 <sup>-2</sup> (h <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	% REMOÇÃO	K x 10 <sup>-2</sup> (h <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
RC	50,5	0,99	0,92	49,9	0,96	0,98
RF	71,7	1,72	0,99	64,8	1,48	0,93
RFS	58,5	1,18	0,91	61,1	1,41	0,95

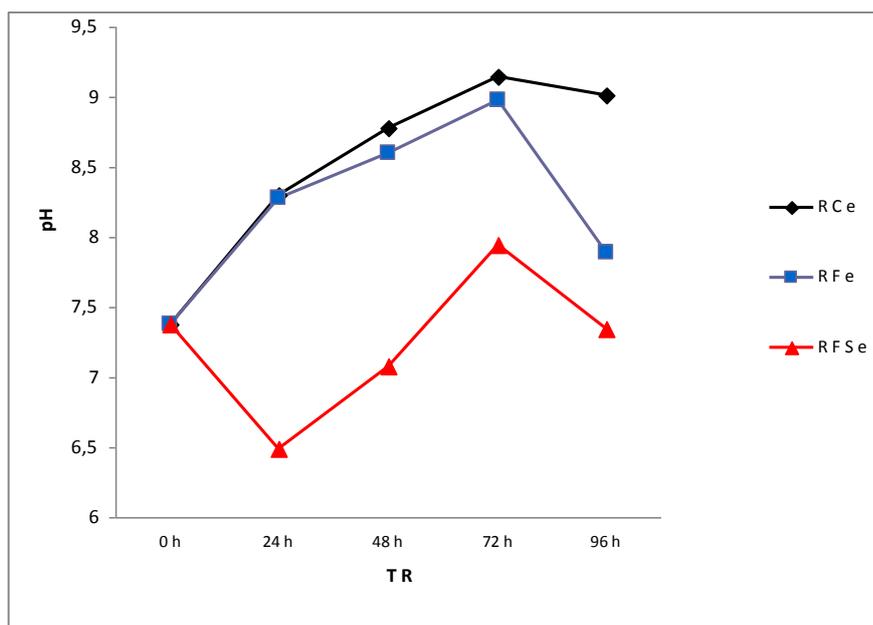
RC: reator controle, RF: reator com fungo, RFS: reator com fungo AN 400 e sacarose (0,1 g/L) como co substrato, R<sup>2</sup>: coeficiente de correlação.

Percebeu-se que todos os reatores seguiram as tendências de variação do 3º ciclo, aumentando a porcentagem de degradação quando sua velocidade também crescia, além de permanecerem com níveis de eficiências similares entre si, o que demonstrou uma maior estabilidade operacional.

#### *Variações de pH*

Conforme Peirano (1995), as águas residuárias de indústrias de produtos lácteos apresentam, geralmente, natureza neutra ou pouco alcalina com tendência a se tornarem rapidamente ácidas, devido à fermentação da lactose. Dessa maneira, e a fim de preservar as condições naturais da água residuária, a acidificação artificial do efluente não foi realizada deixando, assim, o pH inicial próximo a neutralidade, o que diminuiu, também, os custos de operação.

Na Figura 9 são apresentados os valores de pH no 1º ciclo dos reatores com espuma.



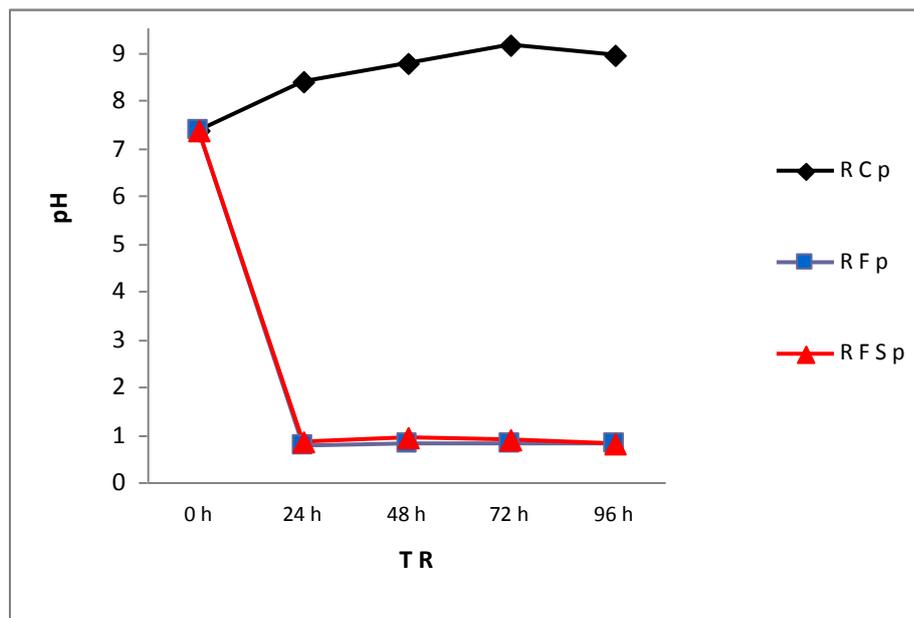
**Figura 9 – Valores de pH dos reatores com espuma no 1º ciclo.**

De acordo com a Figura 9, percebeu-se que o RC e o RFe seguiram a tendência de aumento do pH. Todavia, no TR de 96 h, todos, inclusive o RFS, baixaram o pH.

O pH do reator com sacarose inicialmente baixou, contudo, no TR de 48 h e 72 h a tendência foi de elevação do pH, embora no TR de 96 h este voltou a cair para 7,35.

A queda nos valores de pH no TR de 96 h deste ciclo foi relacionado com a melhoria da atividade microbiológica visto que, de acordo com Rodrigues (2006) na degradação da água residuária há a liberação de ácidos orgânicos que proporcionam o decréscimo do pH do meio.

Na Figura 10 estão apresentados os valores de pH no 1º ciclo dos reatores com PET.

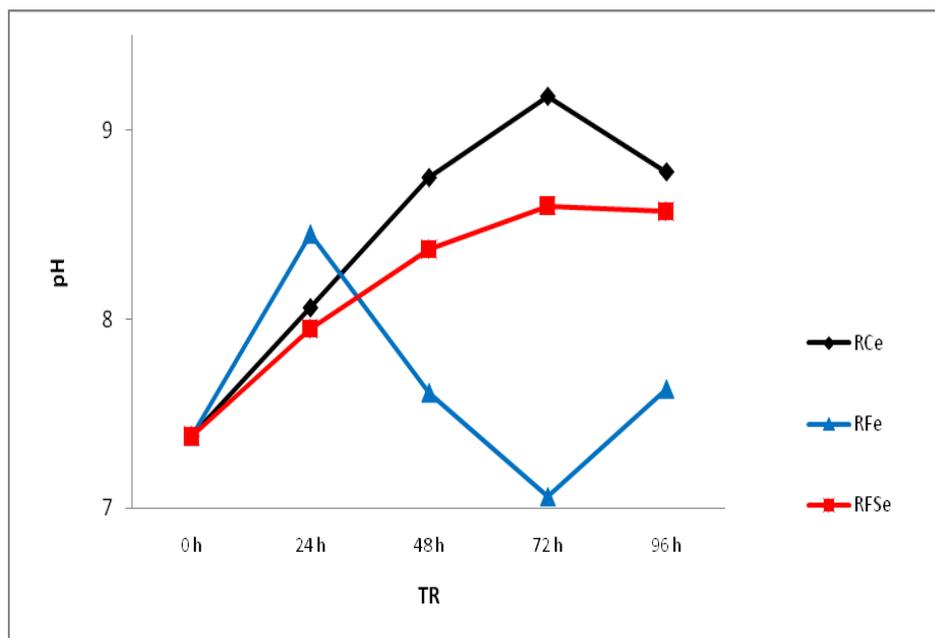


**Figura 10 – Valores de pH dos reatores com PET no 1º ciclo.**

Notou-se pela Figura 10 que, neste ciclo, os reatores que receberam o PET sofreram um decréscimo substancial em seus valores de pH, permanecendo a partir do TR de 24 h em faixa bastante ácida, com valores entre 0,78 e 0,93. Este comportamento pôde ser relacionado com a presença de ácido clorídrico P.A. remanescente da descontaminação do material suporte.

O pH do RCp demonstrou, durante este ciclo, comportamento bastante similar ao RCe, visto não ter recebido o material suporte, elevando-se até o TR de 72 h e sofrendo um pequeno decréscimo no de 96 h. Conforme Facó e Santaella (2002), ao tratarem biologicamente um percolado de aterro sanitário em reatores em batelada inoculados com fungos, verificaram aumento similar do pH efluente, o que foi relacionado com a aeração artificial que pode alterar a alcalinidade no líquido com a dessorção do dióxido de carbono do meio.

Na Figura 11 estão apresentados os valores de pH no 2º ciclo dos reatores com espuma.

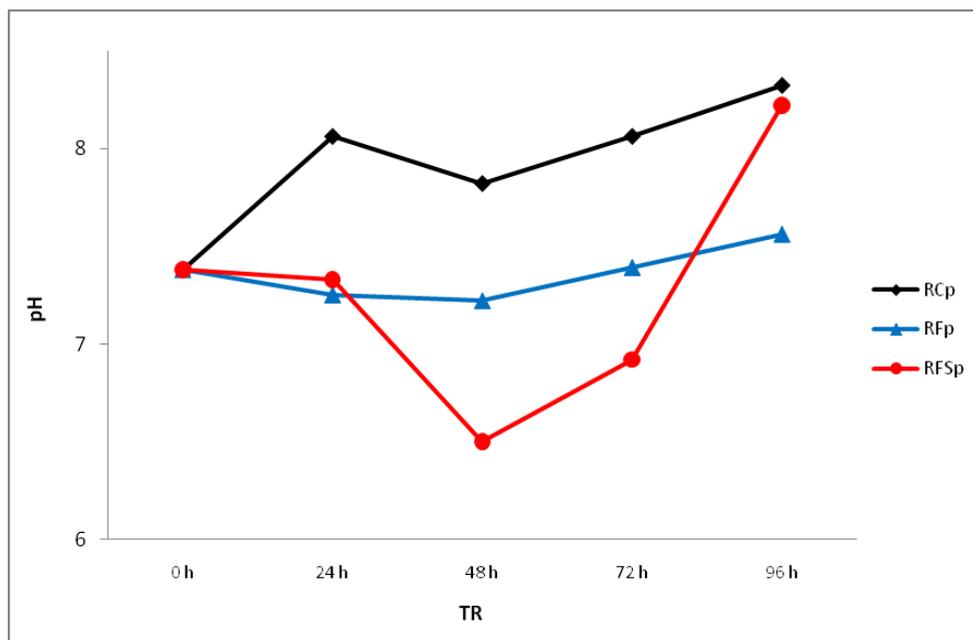


**Figura 11 – Valores de pH dos reatores com espuma no 2º ciclo.**

No TR de 24 h todos os reatores apresentaram pH acima daquele da caracterização. Contudo, no TR de 48 h, o pH do RFe não continuou subindo como os demais, sofrendo decréscimo, neste TR. Este comportamento pode se relacionar com a liberação de subprodutos e/ou metabólitos decorrentes da degradação do meio causadores de acidez, como os ácidos orgânicos, visto que, neste ciclo, esse reator apresentou melhores remoções de DQO, conforme Figura 6.

Os comportamentos apresentados pelo RCe e RFSe foram similares o que pode ter relação com a menor eficiência do reator com sacarose ou uma possível contaminação do RCe.

Na Figura 12 estão apresentados os valores de pH no 2º ciclo dos reatores com PET.

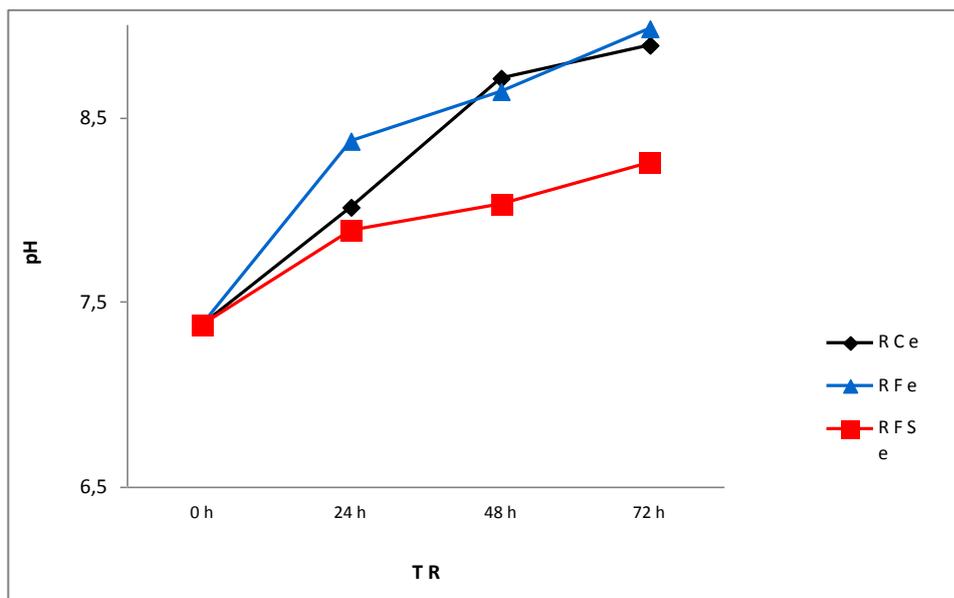


**Figura 12 – Valores de pH dos reatores com PET no 2º ciclo.**

Na Figura 12 observou-se que, com a troca da água residuária, o pH dos reatores que foram contaminados com HCl remanescente no 1º ciclo se restabeleceu e sofreu pequena oscilação no decorrer do ciclo, entre 6,5 e 8,32. Provavelmente, a água residuária desprezada no final do ciclo passado “lavou” o ácido ainda presente no meio, o que levou ao estabelecimento de novas condições para os micro-organismos sobreviventes.

Em geral, nos reatores inoculados, a mudança do pH neste ciclo foi similar, sofrendo queda em 48 h e em seguida elevação contínua até ultrapassar, no TR de 96 h, o pH inicial. Essa variação pode estar relacionada aos subprodutos da degradação do meio causadores da acidificação do meio, como os ácidos orgânicos. O RCp apresentou comportamento distinto permanecendo com pH acima do inicial em todos os TR.

Na Figura 13 estão apresentados os valores de pH no 3º ciclo dos reatores com espuma.

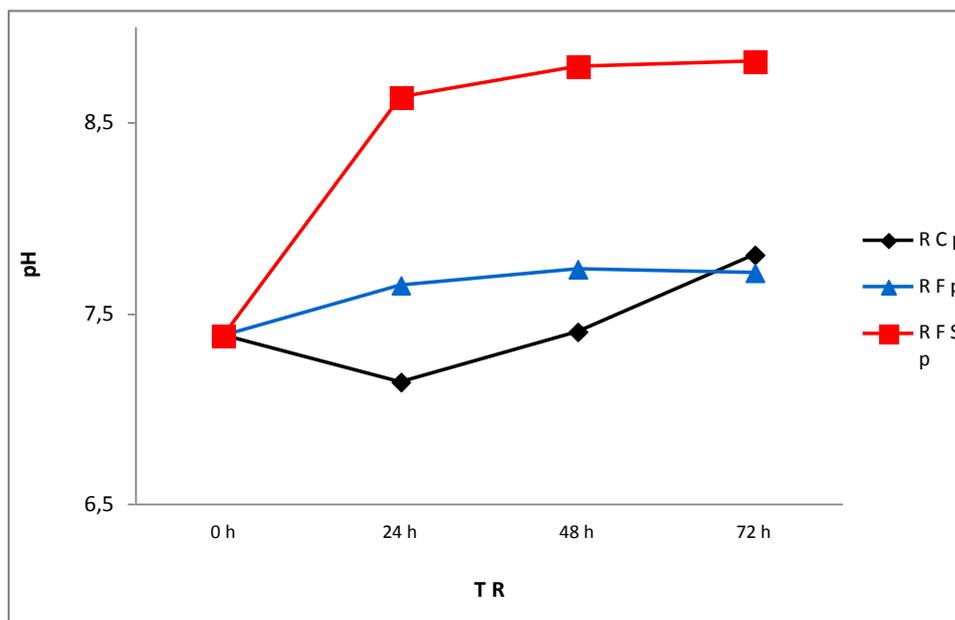


**Figura 13 – Valores de pH dos reatores com espuma no 3º ciclo.**

Neste ciclo, o comportamento do R Ce foi bastante similar aos dos reatores inoculados o que pode estar envolvido tanto com possíveis contaminações quanto com a aeração artificial do reator que favoreceu a dessorção do  $\text{CO}_2$  do meio.

Todos os reatores tenderam a variação semelhante, o que, cruzando com os dados da Figura 7, constatou-se que há relação entre a maior diminuição nas concentrações de DQO e esses valores de pH, evidenciando que neste ciclo os micro-organismos estão melhor adaptados.

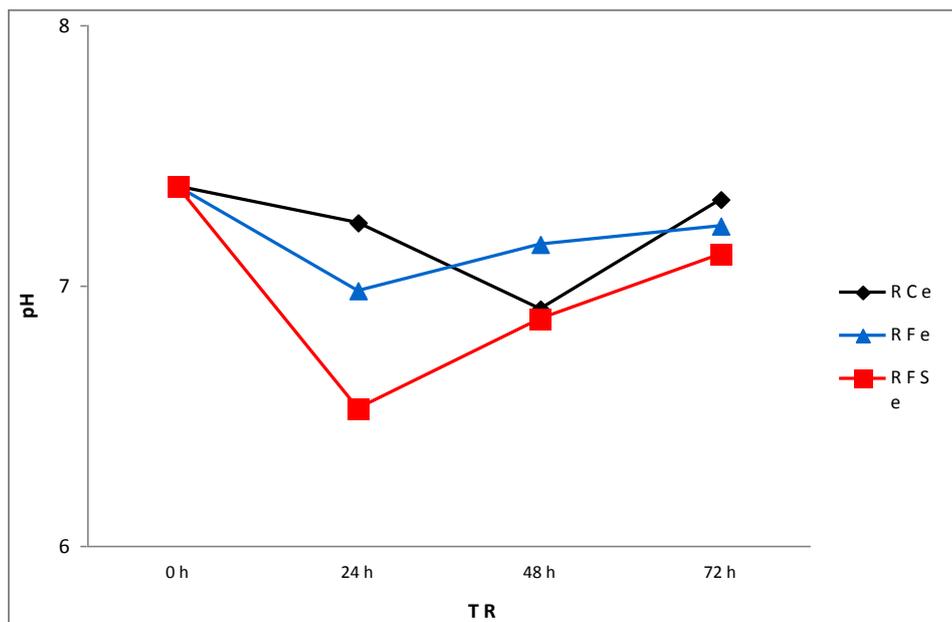
Os valores de pH no 3º ciclo dos reatores com PET estão apresentados na Figura 14.



**Figura 14 – Valores de pH dos reatores com PET no 3º ciclo.**

A variação dos pH dos reatores inoculados foi similar, sendo o TR de 72 h marcado pelo decréscimo nos valores o que pode ser associado à queda nos valores de DQO, de acordo com a Figura 7 que apresentou as concentrações desta variável. Os valores maiores de pH do RFSp podem ser associados com a menor eficiência apresentada por este reator, neste ciclo, o que levou a uma menor degradação da água residuária e a conseqüente diminuição da liberação de ácidos orgânicos.

Na Figura 15 estão apresentados os valores de pH no 4º ciclo dos reatores com espuma.

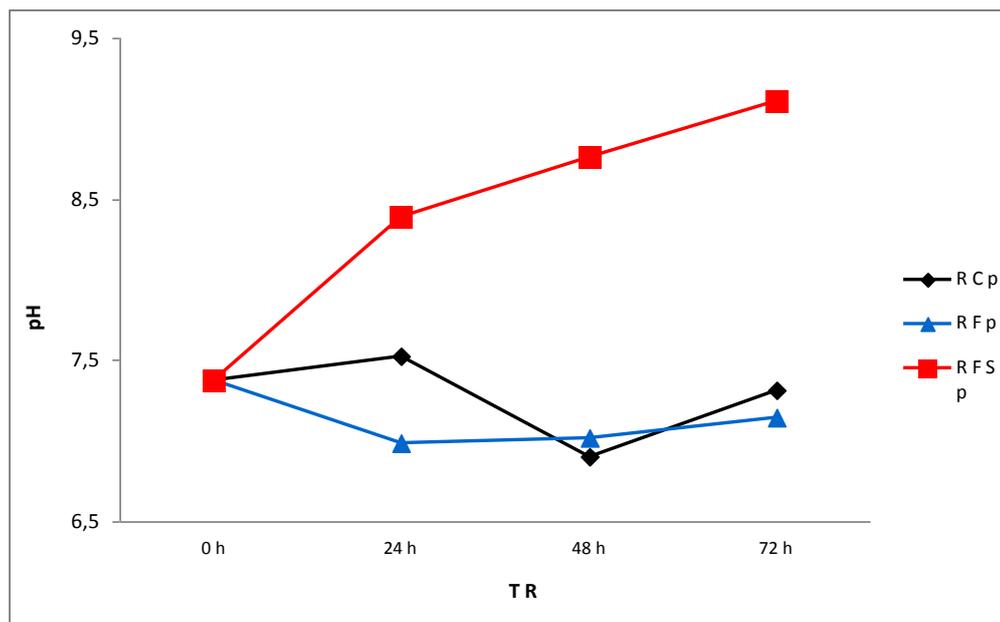


**Figura 15 – Valores de pH dos reatores com espuma no 4º ciclo.**

Percebeu-se que, salvo exceção, os reatores apresentaram valores de pH abaixo do da caracterização e variação oscilante e periódica, o que denotou uma melhor atividade microbiológica como esperado, visto que, por ser o último ciclo, os fungos já estavam mais bem adaptados até mesmo pelas menores concentrações de DQO encontradas, em geral, neste ciclo, principalmente no TR de 72 h (Figura 8).

Nesse período houve maior consumo de DQO e menores valores de pH, o que pode ser entendido pela liberação de ácidos orgânicos, como já explicado anteriormente. Constatou-se, assim, que esse realmente devia ser o TR em que os fungos estavam mais adaptados com as condições do sistema.

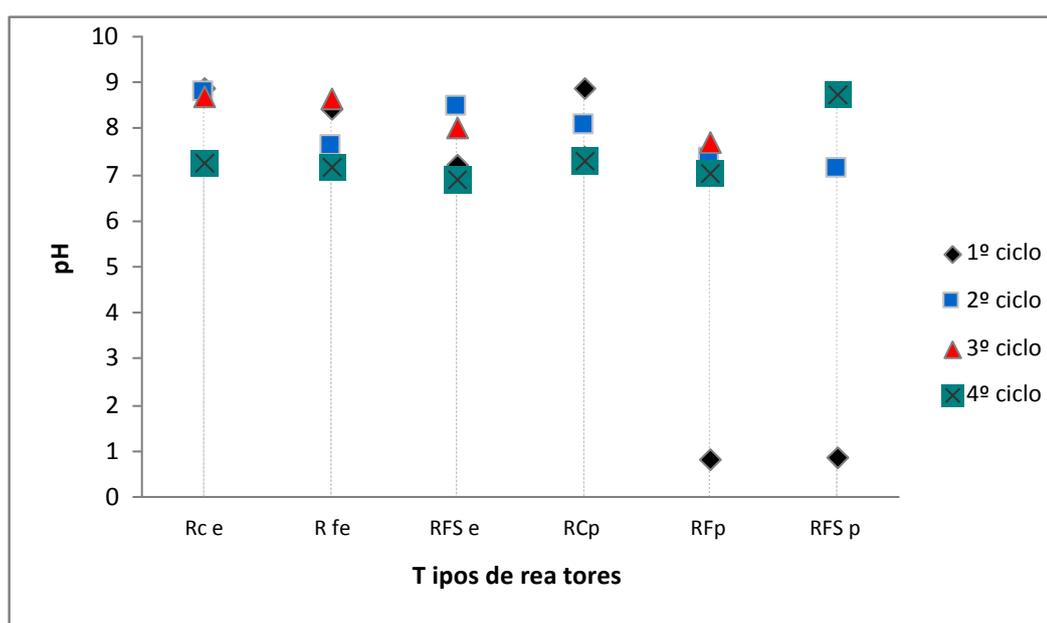
Na Figura 16 estão apresentados os valores de pH no 4º ciclo dos reatores com PET.



**Figura 16 – Valores de pH dos reatores com PET no 4º ciclo.**

O RFSp apresentou, durante todo o ciclo, valores de pH maiores do que o inicial, o que pode estar relacionado com a menor degradação do meio, quando comparado com o RFp, devido a presença exagerada de sacarose. Os demais reatores oscilaram entre aumento e diminuição do pH.

Na Figura 17 têm-se as médias dos valores de pH dos quatro ciclos estudados, de acordo com cada tipo de reator.



**Figura 17 – Médias dos valores de pH nos quatro ciclos dos reatores em batelada.**

Em todo o experimento os pH dos reatores atingiram valores entre 6,49 e 9,18, exceto no 1º ciclo daqueles com pet, o qual permaneceu extremamente ácido, abaixo de 1,0.

Nos reatores: RCe, RFe, RCp e RFp, o perfil de oscilação do pH foi similar, ou seja, o pH foi diminuindo no decorrer dos ciclos o que denotou melhoria da atividade microbiológica, visto que os fungos liberam ácidos orgânicos com a degradação da água residuária. O RFSp provavelmente se comportou de maneira diferente devido à quantidade de sacarose que deve ter inibido o metabolismo dos micro-organismos. Já no ciclo inicial, o RFp e o RFSp, diferiram no perfil de oscilação do pH possivelmente devido à contaminação pelo HCl da descontaminação.

O decaimento nos valores de pH em todos os ciclos pode estar relacionado com a produção de ácidos orgânicos provenientes da degradação dos compostos presentes na água residuária, visto que são nesses momentos que geralmente ocorreram maiores diminuições de DQO. De acordo com Rodrigues (2006), as principais variáveis que exercem influência sobre a produção desses ácidos orgânicos são o pH do meio, adequada aeração e presença de uma fonte de carbono de fácil assimilação que deve estar presente em concentração elevada, como foi verificado nesta pesquisa.

Percebeu-se que o fungo se desenvolveu e degradou a água residuária em pH de neutro a alcalino, tendo as vezes que suportar pH abaixo de 1,0. Esse desempenho pode ser justificado pelo fato do pH ótimo dos fungos estar entre 5, 6 e 7, sendo que a maioria das espécies ainda admite variações de pH mais abrangentes. Por exemplo, os filamentosos, como é o caso do *Aspergillus niger* AN400, podem desenvolver-se em ampla faixa, entre 1,5 e 11 (TRABULSI e ALTERTHUM, 2008).

#### *Remoções de amônia e nitrato*

As concentrações de amônia e nitrato, respectivamente, nos ciclos dos reatores com espuma, estão apresentadas nas Tabelas 16 e 17.

Tabela 16 – Concentrações de amônia nos ciclos dos reatores com espuma.

Ciclo	TR	RCe	RFe	RFSe	Ciclo	TR	RCe	RFe	RFSe
1°	0 h	21,79	21,79	21,79	3°	0 h	21,79	21,79	21,79
	24 h	5,40	9,02	11,83		24 h	34,08	24,75	9,50
	48 h	13,85	5,99	7,87		48 h	9,66	33,12	19,81
	72 h	46,62	31,30	12,73		72 h	5,97	22,62	9,42
	96 h	24,89	8,97	28,57					
2°	0 h	21,79	21,79	21,79	4°	0 h	21,79	21,79	21,79
	24 h	30,57	17,40	33,42		24 h	55,37	58,86	34,64
	48 h	25,59	24,32	30,02		48 h	21,27	2,93	29,73
	72 h	16,44	33,77	0,46		72 h	48,07	32,13	86,37
	96 h	4,98	*	3,68					

\* Valores insignificantes.

Tabela 17 – Concentrações de nitrato nos ciclos dos reatores com espuma.

Ciclo	TR	RCe	RFe	RFSe	Ciclo	TR	RCe	RFe	RFSe
1°	0 h	2,68	2,68	2,68	3°	0 h	2,68	2,68	2,68
	24 h	2,12	1,62	2,47		24 h	*	*	*
	48 h	0,60	1,25	0,47		48 h	*	*	*
	72 h	7,43	1,21	0,41		72 h	*	*	*
	96 h	*	*	*					
2°	0 h	2,68	2,68	2,68	4°	0 h	2,68	2,68	2,68
	24 h	4,20	0,92	0,42		24 h	*	*	*
	48 h	0,65	0,12	0,43		48 h	0,37	0,25	0,08
	72 h	0,66	0,15	0,48		72 h	0,31	0,15	0,39
	96 h	0,52	0,15	0,36					

\* Valores insignificantes.

Percebeu-se, pelas Tabelas 16 e 17, que em alguns momentos, principalmente no 1° e 2° ciclos, há remoção de amônia e nitrato simultânea, embora tenha sido evidente a melhor remoção de nitrato em todos os ciclos. Segundo Ainsworth e Sussman (1996), a espécie *Aspergillus niger* é capazes de assimilar essas duas variáveis simultaneamente, portanto é o que deve ter ocorrido nos reatores em questão.

Observou-se pela Figura 17 que os valores das concentrações de nitrato tenderam a diminuir, em todos os ciclos. Os períodos de menores remoções de nitrato, segundo Griffin (1994), podem estar associados à presença de íons amônio, visto que quando há no meio tanto o íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) como nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) não só ocorrerá o consumo preferencial pelos fungos de  $\text{NH}_4^+$  como também a redução de  $\text{NO}_3^-$  tende a ser reprimida.

No 3º e 4º ciclos, enquanto o sistema removeu o nitrato a quantidades pequenas e às vezes até insignificantes, as concentrações de amônia atingiram valores maiores que o inicial, salvo exceções.

Visto a natureza do efluente, a grande quantidade de amônia no efluente final pode indicar também a ocorrência do processo de amonificação que conforme Hosetti *et al.* (1985) envolve a transformação de compostos orgânicos de nitrogênio (principalmente proteínas) em formas inorgânicas (principalmente amônia), ou seja, a amônia é um subproduto da degradação da proteína.

Santaella (1999) tratando com fungos este mesmo tipo de efluente, verificou remoção média de amônia de quase 80% para o TDH de 4 h. Este resultado bem superior ao observado neste estudo pode ser explicado pelas concentrações afluentes de amônia que nunca ultrapassaram 5 mg.L<sup>-1</sup>, bem diferente das concentrações afluentes encontradas neste trabalho que atingiram 21,79 mg.L<sup>-1</sup>.

As concentrações de amônia e nitrato, respectivamente, nos ciclos dos reatores com PET, estão apresentadas nas Tabelas 18 e 19.

**Tabela 18 – Concentrações de amônia nos ciclos dos reatores com PET.**

<b>Ciclo</b>	<b>TR</b>	<b>RCp</b>	<b>RFp</b>	<b>RFSp</b>	<b>Ciclo</b>	<b>TR</b>	<b>RCp</b>	<b>RFp</b>	<b>RFSp</b>
1º	0 h	21,79	21,79	21,79	3º	0 h	21,79	21,79	21,79
	24 h	3,80	7,39	10,93		24 h	5,42	18,54	28,70
	48 h	0,32	0,98	0,77		48 h	27,02	9,02	38,05
	72 h	29,62	19,87	22,17		72 h	13,27	64,88	0,04
	96 h	19,30	7,91	11,91					
2º	0 h	21,79	21,79	21,79	4º	0 h	21,79	21,79	21,79
	24 h	16,61	13,19	31,97		24 h	66,28	78,78	51,97
	48 h	*	0,28	*		48 h	60,03	11,81	5,97
	72 h	16,70	20,58	22,01		72 h	49,58	88,64	23,60
	96 h	30,77	36,80	29,34					

\* Valores insignificantes.

Tabela 19 – Concentrações de nitrato nos ciclos dos reatores com PET.

Ciclo	TR	RCp	RFp	RFSp	Ciclo	TR	RCp	RFp	RFSp
1°	0 h	2,68	2,68	2,68	3°	0 h	2,68	2,68	2,68
	24 h	2,08	2,87	2,12		24 h	0,31	0,14	0,26
	48 h	*	*	*		48 h	1,43	0,68	1,26
	72 h	0,57	0,02	0,58		72 h	6,72	3,20	5,89
	96 h	0,45	0,05	0,39					
2°	0 h	2,68	2,68	2,68	4°	0 h	2,68	2,68	2,68
	24 h	*	*	*		24 h	*	*	*
	48 h	0,69	0,71	0,95		48 h	0,55	0,28	0,82
	72 h	0,06	0,08	2,52		72 h	0,32	0,25	0,41
	96 h	0,04	*	0,15					

\* Valores insignificantes.

Notou-se que neste experimento os micro-organismos iniciaram a degradação do meio pela remoção da amônia, preferencialmente à nitrato. A assimilação de amônia e nitrato pelos fungos, segundo Sangtjean e Schmidt (2002), ocorre em velocidades distintas, como no caso de espécies como *Aspergillus niger* que, de acordo com Ainsworth e Sussman (1996), possui a capacidade de consumir o nitrogênio amoniacal com maior velocidade do que o nitrato.

As concentrações de amônia dos reatores com PET, no TR de 96 h do 1° ciclo, foram as mais baixas de todo o experimento em batelada, embora as de nitrato fossem baixas também. Griffin (1994) explica que na conversão do nitrato a nitrito e este ao íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), este último é incorporado às moléculas orgânicas dos fungos, sendo metabolizado intracelularmente somente em pH celular entre 4 e 6, não ocorrendo seu uso em pH inferior a 4. Isso se deve ao fato da membrana celular fúngica ser permeável apenas para a forma reduzida ( $\text{NH}_3^-$ ), em pH alcalino, e não para o íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) (GRIFFIN, 1994; ESPOSITO e AZEVEDO, 2004). Como neste ciclo os valores do pH se encontravam bastante ácidos, a amônia possivelmente acumulada no interior dos fungos não foi liberada.

Nos TR de 72 h e 96 h do 2° ciclo houve o acúmulo de amônia enquanto os valores de nitrato permaneceram baixos, assumindo perfis de remoção inversamente proporcionais. No momento em que o nitrato foi retirado do meio, no 1° ciclo, ele deve ter sido transformado internamente em amônia, diminuindo assim a necessidade de consumir a amônia presente na água residuária nos demais ciclos, o que pode justificar o comportamento apresentado pelo reator, quando apresentou tendências de remoções opostas para as duas variáveis.

No 3º ciclo nos RF e RFS as concentrações de nitrato, a partir do TR de 48 h aumentaram, atingindo valores de até 5,89 mg.L<sup>-1</sup>. De acordo com Griffin (1994), os fungos reduzem nitrato à amônia na fase catabólica do seu metabolismo através da atividade das enzimas nitrato redutase e nitrito redutase. A nitrato redutase é induzida pela presença de nitrato no meio, mas reprimida pela presença de amônia, mesmo na presença de nitrato. Esse fenômeno pode ter ocorrido nos reatores em questão, visto que neste momento havia acúmulo de amônia, o que deve ter inibido a degradação do NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

No último ciclo as concentrações de amônia e nitrato variaram bastante em um curto intervalo de tempo. Segundo Li e Kane (2008) as oscilações de nitrato e amônia podem ser justificadas pelo armazenamento do excesso de nitrogênio nos vacúolos dos fungos, que diante da necessidade em manter o equilíbrio do pH no interior das células liberam para o meio amônia e H<sup>+</sup>, o que levou-nos a relacionar as concentrações de amônia com a tendência de diminuição do pH no 4º ciclo (Figura 16).

Sá (1997) utilizando as espécies fúngicas *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* e *Drechslera sp* para tratar água residuária de indústria de laticínios, observou variações em relação à remoção de amônia em seu experimento, com o aumento da concentração desta no efluente. As maiores remoções específicas na sua pesquisa foram: 21 h (90,0%), 11 h (70,0%), 5 h (68,0%), 2 h (75,0%). Segundo a autora, as oscilações dos valores deste nutriente podem ter sido geradas por mudanças fisiológicas dos fungos ou ainda pelo estabelecimento de novas populações microbianas, o que poderia justificar igualmente o acontecido neste experimento visto à presença de outros micro-organismos, detectados no final do tratamento pelo teste microbiológico.

Segundo Li e Kane (2008), na liberação de compostos nitrogenados armazenados no interior dos fungos na forma de aminoácidos para o meio, estes são transformados diretamente a NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, o que pode justificar os acúmulos de amônia, principalmente no 3º e 4º ciclos, onde a concentração de amônia chegou a 88,64 mg.L<sup>-1</sup>.

De acordo com Cochrane *apud* Sá (1997), durante o período de crescimento das espécies fúngicas, ocorre retorno de amônia das células para o exterior, indicando a permeabilidade das células dos fungos a este composto, o que pode justificar a maior concentração desta variável nos ciclos finais desta pesquisa. Enzimas, aminoácidos e outros compostos solúveis de nitrogênio também são liberados, sugerindo desta forma, a dificuldade existente em se definir etapas metabólicas no ecossistema criado em um reator, onde populações diferentes se sucedem e partes de micélios antigos são reabsorvidas ou eliminadas.

### Ortofosfato

Nas Tabelas 20 e 21 estão apresentadas as concentrações de ortofosfato nos reatores com espuma e PET, respectivamente.

**Tabela 20 – Concentrações de ortofosfato nos ciclos dos reatores com espuma.**

Ciclo	TR	RCe	RFe	RFS <sub>e</sub>	Ciclo	TR	RCe	RFe	RFS <sub>e</sub>
1°	0 h	4,56	4,56	4,56	3°	0 h	4,56	4,56	4,56
	24 h	0,72	*	*		24 h	2,22	2,25	2,46
	48 h	*	*	*		48 h	3,30	2,41	3,33
	72 h	6,50	3,71	*		72 h	*	*	2,35
	96 h	1,31	0,21	1,65					
2°	0 h	4,56	4,56	4,56	4°	0 h	4,56	4,56	4,56
	24 h	1,73	1,24	2,22		24 h	1,94	1,50	2,35
	48 h	0,91	1,66	1,43		48 h	4,90	4,28	6,90
	72 h	0,25	0,29	0,20		72 h	0,18	0,16	0,13
	96 h	1,50	2,61	2,27					

\* Valores insignificantes.

**Tabela 21 – Concentrações de ortofosfato nos ciclos dos reatores com PET.**

Ciclo	TR	RC <sub>p</sub>	RF <sub>p</sub>	RFS <sub>p</sub>	Ciclo	TR	RC <sub>p</sub>	RF <sub>p</sub>	RFS <sub>p</sub>
1°	0 h	4,56	4,56	4,56	3°	0 h	4,56	4,56	4,56
	24 h	0,51	*	4,53		24 h	2,12	2,34	2,18
	48 h	*	*	*		48 h	2,86	4,06	2,75
	72 h	0,72	0,31	0,24		72 h	1,74	*	3,81
	96 h	0,58	0,19	0,18					
2°	0 h	4,56	4,56	4,56	4°	0 h	4,56	4,56	4,56
	24 h	2,08	2,46	5,03		24 h	1,07	0,97	1,04
	48 h	2,89	2,38	3,06		48 h	4,80	4,62	5,33
	72 h	0,27	0,28	0,24		72 h	0,15	0,18	0,15
	96 h	3,66	5,48	5,53					

\* Valores insignificantes.

Verificou-se que no 1° ciclo dos reatores com PET os micro-organismos podem ter sido favorecidos pelo ácido presente, pois, comparando com as concentrações daqueles com espuma, estes reatores removeram maiores quantidades de ortofosfato.

Notaram-se, pela Tabela 21, que no TR de 96 h do 2° ciclo as concentrações de ortofosfato foram as mais altas quando comparadas com os demais ciclos, apresentando valores mais elevados do que aqueles do TR de 0 h. Isto deve ter ocorrido pelo fato de no 1° ciclo os micro-organismos desses reatores terem se adaptado ao meio ácido, sofrendo, no 2°

ciclo, com a mudança repentina das condições de acidez, que segundo os resultados foram propícias a remoção desta variável.

Conforme Lima *et al.* (2003), em geral, os fungos acumulam o polifosfato em sua fase estacionária e, segundo Shari'a *et al.* (2002), em determinadas condições de crescimento também, sendo devolvido em fases diferentes de crescimento, o que pode justificar os eventuais percentuais elevados encontrados, principalmente no 2º ciclo.

A partir do 3º ciclo, observaram-se decréscimos consideráveis nos dois tipos de reatores, com espuma e com pet, os quais se comportaram do mesmo modo, provavelmente, devido à melhor adaptação dos fungos à água residuária de estudo. Nesses últimos ciclos, a quantidade de ortofosfato diminuiu consideravelmente, excetuando-se os TR de 48 h, tempo este em que os reatores apresentaram valores acima daquele de entrada.

Giffoni (2000), Rodrigues (1999) e Sá (1997), empregando espécies fúngicas para tratar água residuária de laticínio, também observaram ciclos de consumo e síntese de ortofosfato. Os autores propuseram que este fato deve estar relacionado com os processos de quebra de proteína e morte de células antigas bem como com a quantidade de ortofosfato absorvida e acumulada internamente pelos micro-organismos, visto que há o aproveitamento preferencial pelos fungos do que está armazenado. O aumento na concentração desta variável no segundo ciclo pode ter ocorrido também em consequência destes fatores.

Callado e Foersti (2000) afirmaram que o processo de remoção biológica do ortofosfato é complexo devido ao fato da maioria das reações serem intracelulares, podendo, ainda, ser afetado por fatores ambientais, tipo de substrato e presença de nitratos. Portanto, as variações das taxas de remoção podem ser assim explicadas.

Segundo apresentado por Li e Kane (2008), a remoção biológica de ortofosfato se dá pela associação de zonas anaeróbias seguidas de zonas aeróbias, indicando que os fungos possivelmente armazenam em seu vacúolo quantidades de fósforo para, posteriormente, liberá-las.

Todavia, consoante Wang *et al.* (2007), a remoção biológica de fósforo (BPR) em um reator de batelada sequencial (SBR) pode ser conseguida sem fase anaeróbia, que era convencionalmente considerada como uma fase-chave para a BPR. Os autores obtiveram essa afirmação diante dos resultados experimentais de seu estudo do tratamento de águas residuárias municipais sintéticas, podendo esta constatação ser fundamentada também pelos índices de remoção desta variável conseguidos nesta pesquisa.

## 5.2 Reator de Fluxo Contínuo

*Caracterização da água residuária sintética de laticínio.*

A caracterização da água residuária foi realizada durante todo o experimento contínuo, antes da troca da mesma, sendo a acidificação da água residuária realizada somente após a medição do pH da caracterização. Os valores obtidos na caracterização do afluente, considerado como a água residuária que entrava no reator, estão apresentados na Tabela 22.

**Tabela 22 - Caracterização da água sintética de laticínio do contínuo.**

Variáveis	Valor mínimo	Valor máximo
pH	6,60	9,92
DQO (mg.L <sup>-1</sup> )	386,56	566,49
Amônia (mg.L <sup>-1</sup> )	1,94	17,42
Nitrato (mg.L <sup>-1</sup> )	0,13	3,29
Ortofosfato (mg.L <sup>-1</sup> )	0,28	0,33

A composição, como na batelada, foi adaptada de Healy *et al.* (2006). Contudo, com as modificações nas concentrações dos reagentes sofridas ao longo da fase de adaptação, verificou-se que todos os valores das variáveis sofreram alteração.

No caso específico do pH, o valor mínimo bem inferior ao máximo pode ter sido em função da eliminação do NaHCO<sub>3</sub>, reagente conhecido pelo seu potencial de alcalinização do meio.

Em relação à amônia, sua concentração variou de 17,42 mg/L, na batelada, para 1,94 mg/L, no contínuo, o que pode ser relacionado com a eliminação do NH<sub>4</sub>Cl no início da fase contínua. Contudo, antes da eliminação desse reagente químico, a concentração de amônia atingiu o valor máximo observado na Tabela 22.

A eliminação do NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> . H<sub>2</sub>O resultou em concentrações de ortofosfato bem menores àquelas encontradas na batelada, visto ser esse um composto fosfatado.

A eliminação do cloranfenicol, após 15 dias do início da adaptação fúngica, não resultou em contaminação por bactérias, conforme o teste microbiológico realizado no fim do trabalho, constatando-se que seu efeito não foi suficientemente significativo.

### *Relação C/N*

Observou-se, no decorrer do tratamento, o aumento excessivo da espessura do biofilme, o que poderia estar ocasionando a limitação da oxigenação dentro do reator, visto que estava até mesmo impedindo o escoamento do fluxo através do entupimento da tubulação de saída do reator.

García-Peña *et al.* (2001) comentaram que os fungos podem produzir seus filamentos em quantidade tão significativa que ocasiona a obstrução das entradas de ar do reator e até do meio suporte onde estão aderidos e afirmaram que o controle da fonte de carbono, tanto da concentração quanto do tipo disponível, é um mecanismo de controle desse crescimento microbiológico demasiado.

No meio havia, como fontes de carbono, leite, uréia, carbonato de potássio e hidrogenocarbonato de sódio, sendo fontes de nitrogênio, leite, uréia e cloreto de amônio. Portanto, foi realizada a relação C/N desconsiderando o leite como fonte desses elementos devido à dificuldade em se mensurar sua real composição, o que resultou em uma relação aproximada de 1,73.

Realizou-se, então, o balanceamento das concentrações dessas fontes, não adicionando mais o  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , desta vez considerando que o leite já fornecia grande quantidade de nitrogênio por meio da proteína. Além disso, limitou-se a quantidade dos macro e micronutrientes fornecidos, reduzindo pela metade a concentração de todos os componentes da água residuária, exceto sacarose. Essas ações geraram a diminuição do crescimento fúngico e o conseqüente decréscimo da colmatação do reator, melhorando, assim, suas condições de operação e manutenção.

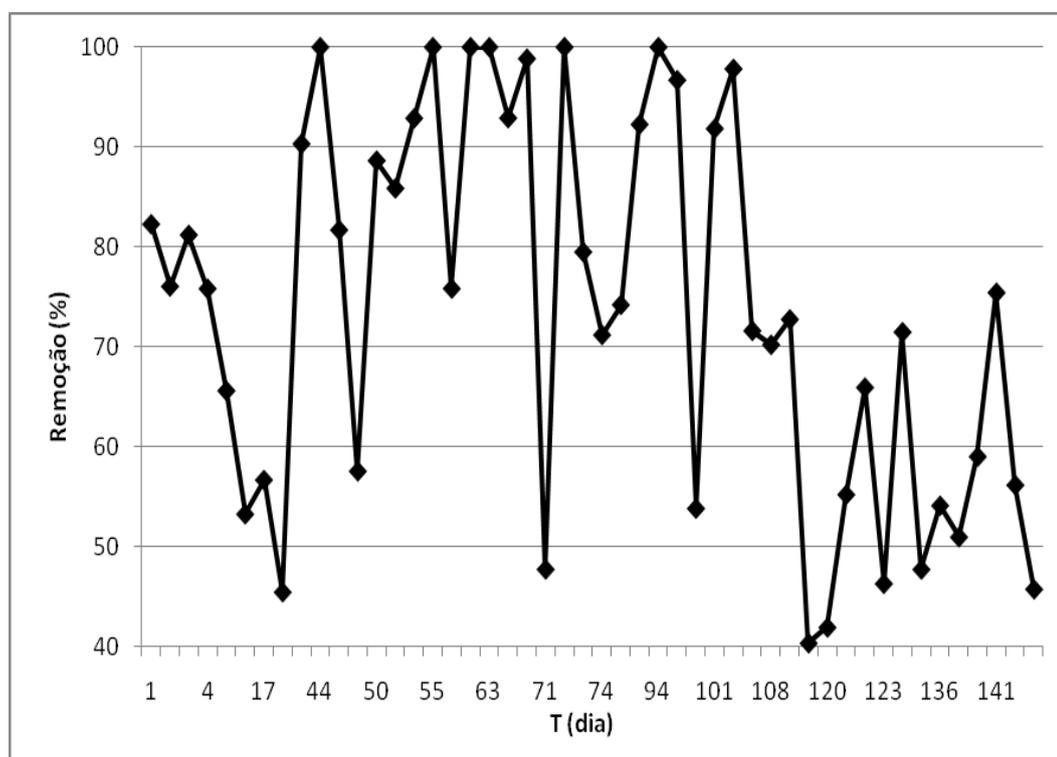
Conforme Rodrigues (2006) o meio com nitrogênio e carbono em proporções equivalentes permite menor produção de biomassa, sugerindo, assim, a importância da verificação desta relação. Esse controle do crescimento microbiano beneficia, principalmente, o aumento da atividade superficial do micélio e melhora a disponibilidade de oxigênio bem como a compactação do leito e conseqüente transferência de massa, proporcionando uma conversão do substrato mais eficiente, o que proporcionaria o aumento da eficiência do reator.

Segundo Carlile e Watkinson (1994), o balanço entre as fontes de nitrogênio e carbono presentes no meio deve ser verificado. Costa *et al.* (2004) ressaltou que o catabolismo das fontes de nitrogênio está associado ao anabolismo das fontes de carbono e que para o controle do crescimento exagerado dos fungos, devem ser evitados meios com limitação de carbono. De acordo com Rodrigues (2006), devem ser utilizados meios nos quais

a concentração de carbono seja superior a de nitrogênio, porém não tão grande que transforme o nitrogênio no elemento limitante do crescimento fungico.

### *Remoções de DQO*

Na Figura 18 têm-se as porcentagens de remoção de matéria orgânica, em termos de DQO bruta, ao longo dos dias do experimento contínuo.



**Figura 18 – Remoção de DQO.**

Como as análises de DQO foram feitas por meio de amostras brutas, ou seja, sem centrifugação ou filtração, alguns fatores devem ter se somado aos valores finais de DQO, o que pode ter resultado nas diminuições nas eficiências de remoção da concentração desta variável, mascarando assim a eficiência global do sistema.

Possivelmente, os picos ocasionais nas concentrações dessa variável relacionaram-se à liberação de metabólitos e/ou subprodutos gerados no reator principalmente àqueles provenientes da degradação das fontes de carbono, que, de acordo com Ikeda *et al.* (2006), ao ser utilizada pelo *Aspergillus niger* na síntese de biomassa, produz metabólitos que podem ser acumulados no interior das células ou excretados.

Em função da aeração artificial, que além de oxigenar o meio atua na homogeneização do líquido presente no interior do reator, houve desprendimento de biomassa. Wolff *et al.* (2000) avaliando o biofilme desenvolvido em reator de leito fluidizado no tratamento de esgoto sanitário verificou que no ensaio em que a produção de lodo biológico foi mais elevada, indica maior desprendimento de biofilme, e conseqüentemente, menor eficiência de remoção de DQO. Este fato foi observado principalmente na fase de adaptação quando, devido ao crescimento exacerbado dos micro-organismos verificou-se elevado grau de colmatação, o que provavelmente ocasionou “pontos mortos” no reator devido a não penetração, em alguns ambientes, de oxigênio e água residuária, fonte de macro e micronutrientes essenciais aos fungos, levando à diminuição progressiva da eficiência do reator. A Figura 19 mostra um desses pontos de dificuldade de transferência de massa.



**Figura 19 – Fotografia de “pontos mortos”.**

Segundo Griffin (1994), a presença de glicose promove encurtamento da fase lag e, com isso, o início mais rápido da fase log (aumento do número de células). Entretanto, neste estudo, a adição da sacarose deve ter sido em demasia, pois o resultado positivo esperado pela presença do cossubstrato pode ter se convertido em interferência negativa. Talvez por essa

razão, Santaella *et al.* (2005) propôs que o cossustrato deva ser adicionado somente no início do experimento, com o objetivo de apenas acelerar o crescimento inicial dos fungos.

Todavia, Rodrigues (2006) verificou em seu experimento que em efluentes que contém quantidades significativas de nitrogênio, como é o caso da água residuária de laticínio, quando o cossustrato não é adicionado ao meio, há crescimento fúngico em excesso. Portanto, devido a isso a sacarose foi o único componente a não ser reduzido ou eliminado.

Com as modificações na composição da água residuária, o reator aos poucos foi voltando ao equilíbrio de desenvolvimento microbiológico, o que ocasionou a melhora na remoção de DQO, como se observou na Figura 18.

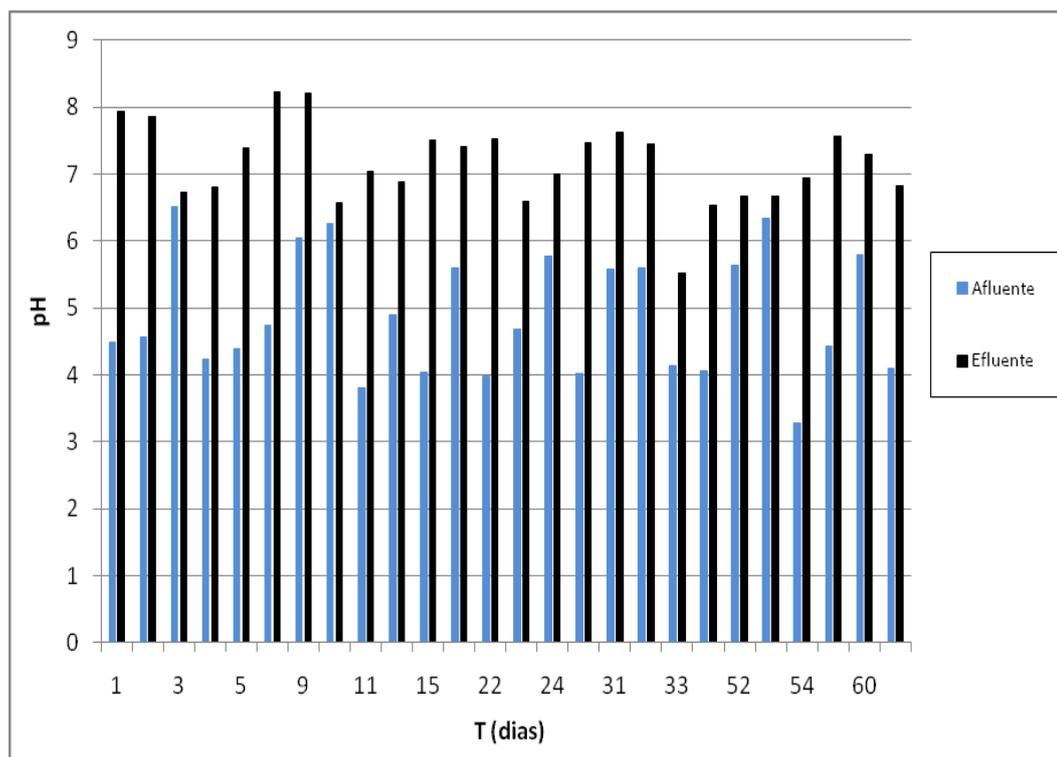
Observou-se, portanto, a necessidade de se encontrar uma proporção equilibrada do cossustrato para que não ocorresse nem a proliferação demasiada do biofilme nem a interferência do cossustrato nas análises.

Verificou-se que o reator variou entre momentos de aumento e diminuição do consumo de matéria orgânica. Conforme constatado por Wanderley (2007), provavelmente a instabilidade na remoção de matéria orgânica tem relação com a liberação de subprodutos no meio, ou mesmo metabólitos excretados pelos fungos.

A microbiota presente no reator mostrou seu potencial de adaptação ao meio e restabelecimento após período de stress presenciado no final da fase de adaptação, ao alcançar percentuais de remoções acima de 40 % durante todo o experimento, obtendo nível adequado de tratamento. A remoção global de DQO foi de 75 %, com mínimo de 40 % e máximo de 100 %.

### *Variações de pH*

A Figura 20 apresenta os valores de pH afluente e efluente do sistema contínuo.



**Figura 20 - Valores dos pH.**

Nesta pesquisa, como o recipiente de entrada não favorecia uma mistura homogênea do líquido de seu interior devido ao seu grande tamanho, optou-se por acidificar o afluente até uma faixa de pH com cerca de uma unidade a menos para que, após a mistura completa, por dissolução espontânea, esta variável se aproximasse da faixa de pH desejada, ou seja, entre 4 e 5.

Conforme Griffin (1994), de modo geral, o ideal para crescimento dos fungos é que o meio tenha pH entre 4 e 6. Contudo, para a atividade da espécie *Aspergillus niger* os valores de pH mais adequados são aqueles próximos a 4,0 (Lata, 2004 *apud* Santaella *et al.*, 2009).

Em tratamento biológico, Santaella *et al.* (2009) constatou que o pH da água residuária a ser tratada deve ser controlado para que a atividade dos micro-organismos conserve-se em um nível ótimo.

O'Donnell *et al.* (2001), ao investigarem o efeito do controle do pH sobre a atividade de enzimas proteases produzidas por *Aspergillus niger*, observou maior produção de biomassa em pH 3 (5,1 g de biomassa/L) do que em pH 7 (1,9 g de biomassa/L). Valores de pH entre 3,4 e 6,4 propiciam para esta espécie, conforme Witteveen (1993), a indução dos sistemas enzimáticos: glicose oxidase, catalase e lactanase, que favorecem condições adequadas para o seu crescimento. O pH afluente deste experimento variou, então, com a acidificação, de 3,27 a

4,73, com o objetivo de melhorar o desempenho dos fungos e também evitar a contaminação do reator por bactérias.

Conforme apresentado na Figura 20, o pH afluente aumentou no decorrer dos dias, apresentando o valor de  $4,7 \pm 1$ , com variações de até 2,8 unidades de pH em um intervalo de tempo de 48 h. Como o afluente permanecia dentro do recipiente apenas para armazenagem, ou seja, não se inoculou nenhum micro-organismo neste, teoricamente, não deveria sofrer alterações em suas características ao longo dos dias. Esse comportamento pressupôs, portanto, a presença de micro-organismo no meio de entrada, os quais provavelmente, junto com a água residuária, adentraram no reator, ou seja, o recipiente afluente deve ter sido a porta de entrada de contaminantes do reator. É possível que essa proliferação indesejada tenha ocorrido no momento da abertura do recipiente de entrada para as coletas das alíquotas de análises.

Percebeu-se que o efluente não manteve a faixa ácida do afluente, ou seja, houve aumento considerável nos valores do pH após a passagem pelo reator, obtendo uma variação de até 2,72 unidades de pH. Conforme Griffin (1994), devido à retirada diferenciada de cátions e ânions durante o transporte de substrato, os fungos frequentemente alteram o pH do meio onde se encontram, o que nos faz entender que a variação do pH depende do tipo de substrato que o fungo terá que transportar.

Esse acréscimo de pH pode estar associado, também, ao consumo de ácidos graxos voláteis presentes no meio, já que estes, de acordo com Van Haandel e Lettinga (1994), se comportam como ácidos fortes.

Sampaio e Santaella (2002), ao tratarem água residuária de indústria de beneficiamento de castanha de caju em reator com fungos, verificaram que o pH efluente foi superior ao afluente. Neste caso, o afluente era acidificado e adentrava ao reator com pH próximo a 5 em todos os TDH estudados (4 h, 2 h, 1 h), enquanto o efluente saía com pH ligeiramente superior a 8. Este aumento de pH foi atribuído à remoção de  $\text{CO}_2$  do meio devido ao sistema de aeração, o que pode explicar o comportamento similar apresentado pelo reator da presente pesquisa.

Porém, verificou-se que no momento da degradação da matéria orgânica houve diminuição dos valores de pH do meio. Facó (2002), observou redução no pH em seu reator contínuo inoculado, o que foi associado à nitrificação, à provável decomposição da matéria orgânica, que resulta na liberação de dióxido de carbono no meio, e na possível síntese de ácidos orgânicos pelos fungos.

Farias *et al.* (2008) relacionaram os decréscimos de pH em seus reatores acidificados com a possível produção de ácidos orgânicos, que segundo Griffin (1994) são oriundos do próprio metabolismo do fungo.

Rodrigues (2006) afirma que a fase de melhor atividade metabólica das espécies fúngicas se reflete na produção de ácidos orgânicos e constata que estes são provenientes da degradação de compostos presentes na água residuária. Portanto, o fato dos fungos produzirem acidez na degradação do meio, provavelmente foi devido ao conteúdo da água residuária e não um fator intrínseco ao seu metabolismo.

Conforme Sampaio *et al.* (2004), o metabolismo dos fungos possuem capacidade de produzir substâncias que adequam o pH ao valor mais adequado a eles. Com isso, foi plausível afirmar que os fungos adequaram o pH do ambiente em que estava inserido de acordo com sua necessidade naquelas circunstâncias, concluindo-se que o que determinou a faixa de pH predominante no meio pode ter sido tanto a espécie utilizada quanto as condições ambientais.

Mishra e Lata (2004) que estudaram a influência do pH na remoção de DQO de água residuária de indústria alimentícia por *Aspergillus niger* e *Aspergillus foetidus*, observaram que houve maior remoção de DQO em pH 6,0, embora ocorresse maior atividade amilolítica em pH 4,0.

Carminatti (2001) estudou a hidrólise enzimática da lactose em reator com membrana usando beta-galactosidase *Kluyveromyces lactis* com pH variando entre 4, 5, 6 e 7. No pH 4 não se verificou a formação de glicose, enquanto que para pH 5 o valor máximo obtido foi de 1%, o que permitiu concluir que a faixa ideal é entre 6 e 7 pois nestes o grau de hidrólise era semelhante, da ordem de 90 %. À medida que o pH era alterado, a atividade da enzima começava a diminuir, sendo que a maior diminuição ocorreu em pH ácido.

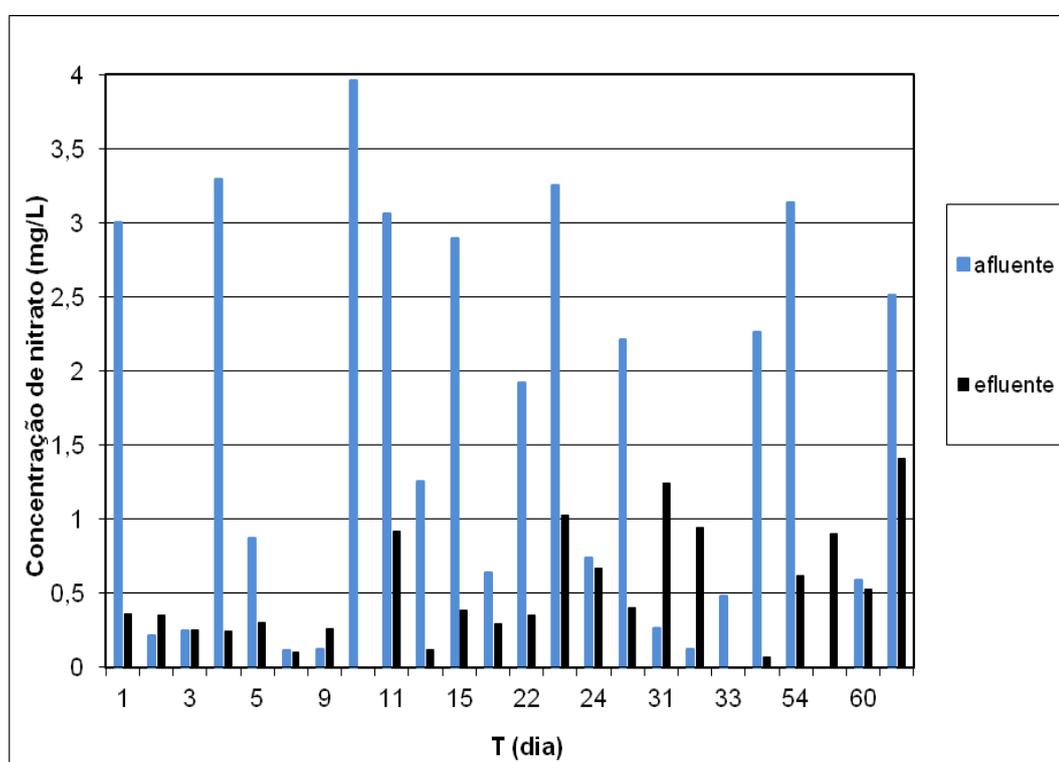
Coleraus e Brião (2003) estudaram a remoção de DBO, nitrogênio e fósforo de efluentes de laticínios em filtro biológico e obtiveram pH afluente e efluente, respectivamente, 6,05 e 7,41, o que foi atribuído ao provável consumo de ácidos orgânicos presentes no efluente bruto, uma vez que não foi constatada amônia no efluente tratado. Concluíram, ainda, que o processo demonstrou ter capacidade de absorver variações de pH, fornecendo um efluente tratado estável.

Os picos ocasionais nos valores de pH, atingindo até 8,23, podem ser associados a momentos de maior concentração de nitrato no sistema, conforme observado igualmente por Martins *et al.* (2002), que relacionou o aumento do pH com a concentração do nitrato.

Baseado em Griffin (1994), o fungo não realiza nitrificação, portanto, a relação entre pH e nitrato é contrária ao processo realizado por bactérias, ou seja, os fungos transformam nitrato em amônia, o que consome prótons do meio e, conseqüentemente, produz alcalinidade. Neste experimento, na maioria dos dias, a relação nitrato/pH foi inversa, quando havia aumento na concentração de nitrato ocorria um decréscimo no valor do pH.

#### *Remoções de nitrato e amônia*

A Figura 21 apresenta a variação da concentração de nitrato afluente e efluente.



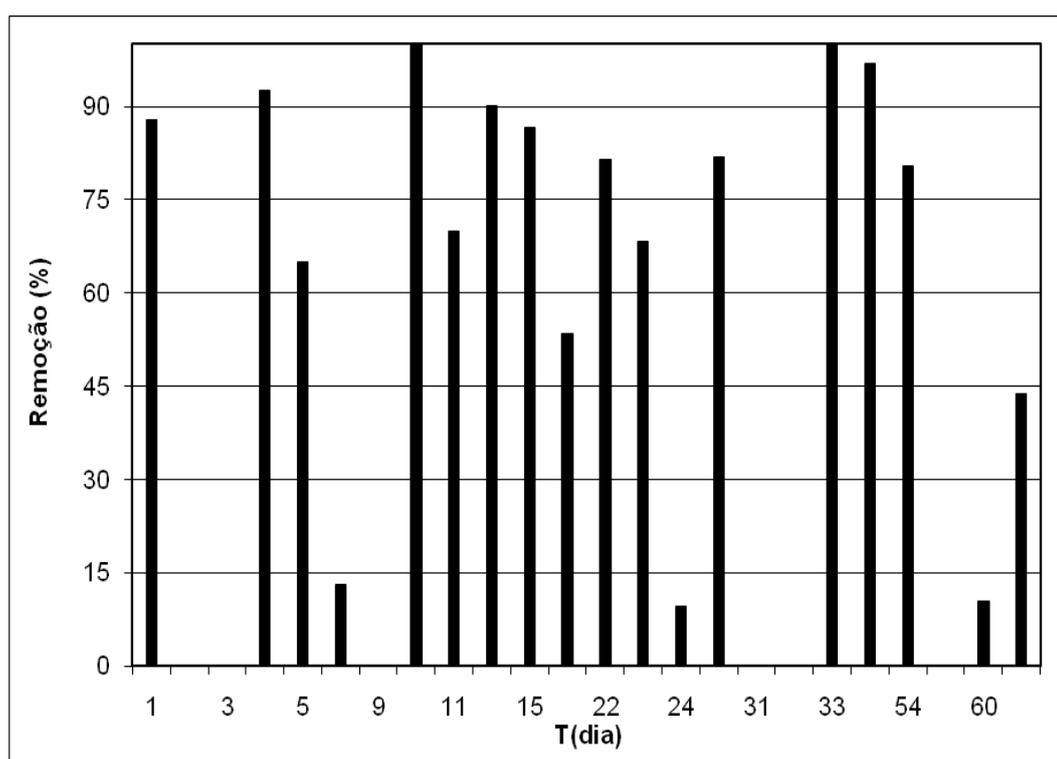
**Figura 21 - Variação da concentração de nitrato.**

Revelou-se através da Figura 21 que, salvo exceções, os valores da concentração de nitrato efluente foram menores do que os do afluente, o que correspondeu a uma boa remoção desta variável.

Facó e Santaella (2002), em seu tratamento em batelada, observaram produção deste nutriente no meio em todos os TDH, exceto no ciclo de 4 dias com adição de glicose no qual não foi possível analisar nitrato. Portanto, o uso da sacarose pode ter favorecido a remoção desta variável pelos micro-organismos presentes neste reator.

Observou-se que havia momentos em que a concentração de nitrato no efluente superou a do afluente, ocorrendo picos ocasionais durante o experimento contínuo. Barbosa *et al.* (2009), no estudo da remoção de compostos BTX em água residuária sintética por *Aspergillus niger* AN 400, relatou que como a quantidade de nitrogênio na forma de amônia era suficiente o fungo não precisou fazer uso do nitrato como fonte alternativa, verificando que o nitrato do meio superou os valores da caracterização, exceto em um único ciclo. Justificou que esse aumento de concentração também devia se relacionar com a liberação do nitrato armazenado em tratamentos anteriores pelo fungo para o meio. Essas mesmas justificativas podem ser relacionadas com o comportamento do reator contínuo deste estudo visto à grande quantidade de amônia no meio e também pelo possível armazenamento do nitrato nos momentos anteriores.

A Figura 22 mostra a variação da remoção de nitrato.



**Figura 22 – Porcentagens de remoção de nitrato.**

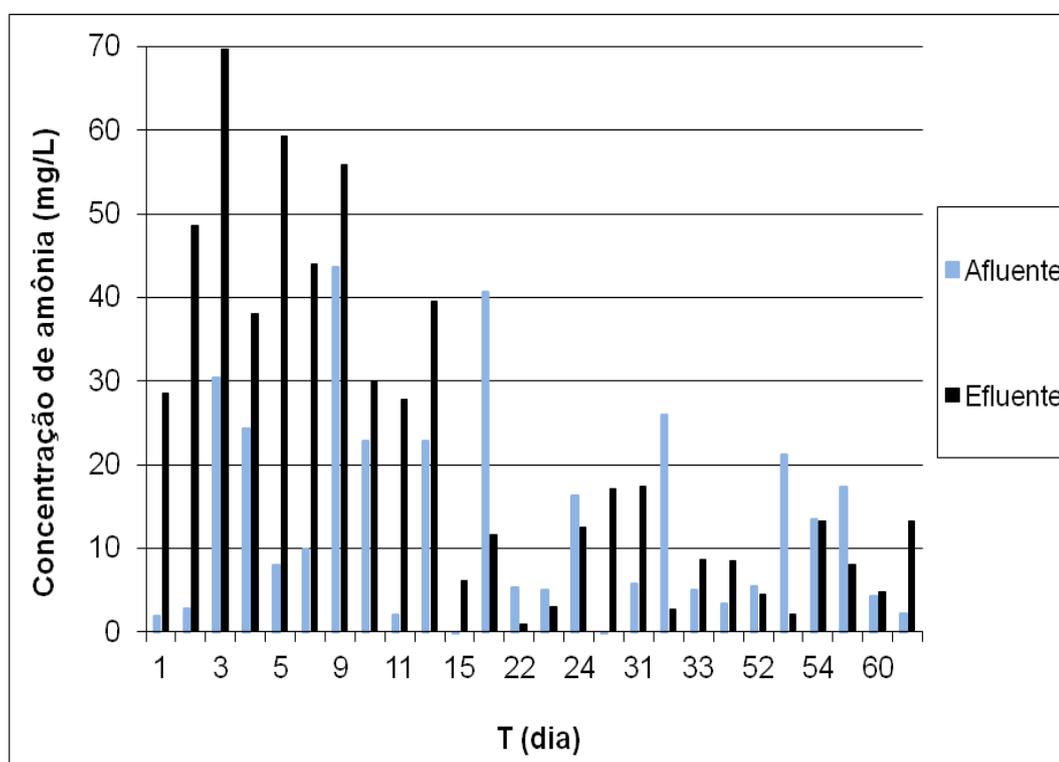
A Figura 22 mostrou que a remoção do reator quanto a nitrato foi, em geral, satisfatória, atingindo-se uma média de remoção de 68%. Notou-se grande oscilação entre os valores de remoção, os quais apresentaram remoções máximas de 100% e mínimas de 0%, ou

seja, enquanto em alguns momentos houve produção de nitrato em outros não se detectou a variável.

Sá (1997), tratando efluente de laticínio através de fungos em reator de fluxo contínuo com TDH de 31 e 21h, obteve remoções máximas de nitrato de 50,0% e 37,5%, respectivamente, tendo sido verificado também acúmulo da variável em vários momentos da pesquisa.

Rodrigues (1999), em seu estudo do tratamento de água residuária sintética de laticínio, observou remoção média de nitrato de 37,0% para o TDH de 31 h, enquanto que para o TDH de 21h, ocorreu aumento na concentração desta.

Na Figura 23 observa-se a variação na concentração de amônia afluente e efluente.



**Figura 23 - Variação da concentração de amônia.**

Pela Figura 23 pudemos observar a tendência de diminuição da concentração de amônia no efluente ao longo da operação. Entretanto, apesar de em alguns dias ter havido remoção de amônia, estes não foram suficientes para a remoção global do reator atingir níveis satisfatórios. Principalmente no início da operação, o reator apresentou concentrações de amônia bem maiores aos valores do afluente.

Sá (1997) tratando água residuária de indústria de laticínios com inoculação das espécies fúngicas *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* e *Drechslera sp* também observou aumento da concentração de amônia no efluente. As maiores remoções específicas em sua pesquisa foram: 21 h (90,0%), 11 h (70,0%), 5 h (68,0%), 2 h (75,0%). Segundo a autora, as oscilações dos valores deste nutriente podem ter sido geradas por mudanças fisiológicas dos fungos ou ainda por estabelecimento de novas populações microbianas, o que, segundo a análise microbiológica realizada no final do estudo contínuo, também pode ter acontecido no reator desta pesquisa.

Constataram-se picos de amônia nos primeiros dias, fato este possivelmente ligado à liberação de amônia dos vacúolos. Segundo Li *et al.* (2008) compostos nitrogenados armazenados na forma de aminoácidos no interior dos fungos são liberados para o meio e, posteriormente, transformados diretamente a  $\text{NH}_4^+$ .

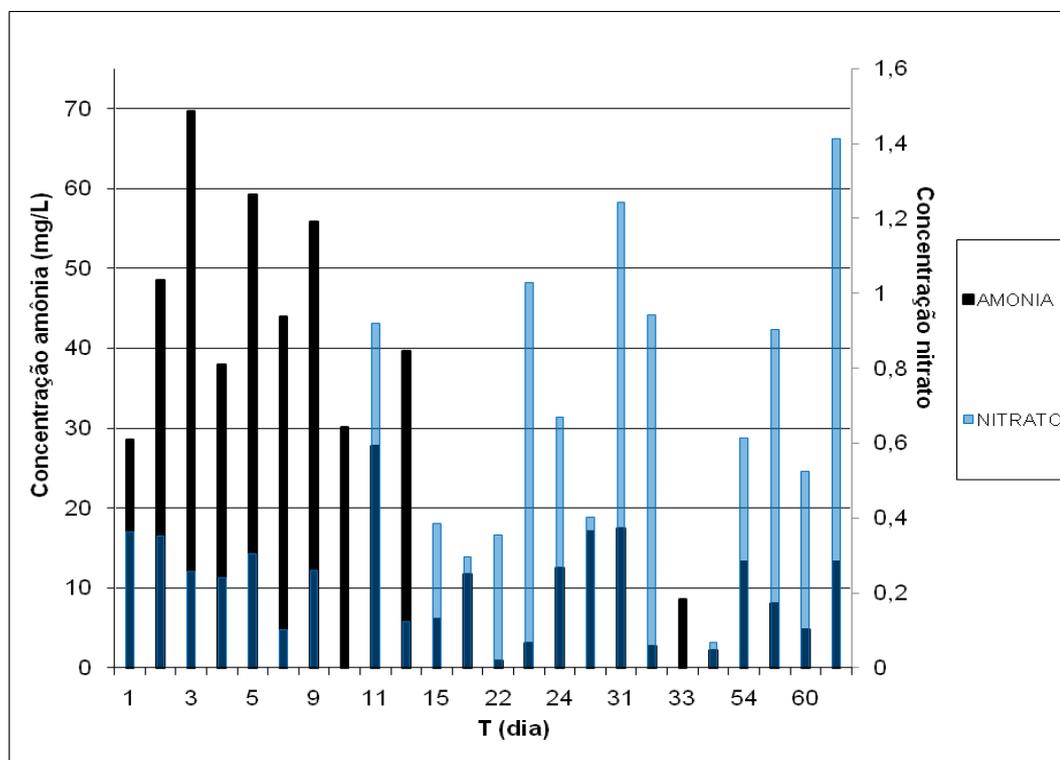
De acordo com Cochrane *apud* Sá (1997), durante as fases de crescimento das espécies fúngicas há retorno de amônia das células para o exterior, refletindo a permeabilidade celular a esta substância, o que pode justificar o maior acúmulo desta no início da pesquisa.

Santos *et al.* (2006), trabalhando com efluente de beneficiamento de castanha de caju, explica que a amonificação pode ser a principal responsável pela grande quantidade de amônia no efluente da indústria, processo que envolve a transformação dos compostos orgânicos de nitrogênio (principalmente proteínas) em formas inorgânicas (principalmente amônia). Portanto, a amonificação, também pode ser uma explicação para o aumento da concentração desta variável, devido ao alto teor de proteína da água residuária de laticínio.

Outra hipótese para a baixa remoção de amônia, de acordo com Atkins (2006), está associada à pequena formação de moléculas  $\text{NH}_4^+$  no meio, pois o equilíbrio químico  $\text{NH}_3 \rightarrow \text{NH}_4^+$  em meio aquoso não favorece a formação do íon amônio, mantendo-se na forma de  $\text{NH}_3$  (amônia).

Todavia, conforme Esposito e Azevedo (2004), o íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) é a forma inorgânica nitrogenada de mais fácil utilização pelos fungos, pois seu uso não demanda nenhuma reação de oxi-redução, já que seu átomo central se encontra no mesmo grau de oxidação ( $-3$ ) que as demais moléculas biológicas (aminoácidos, purinas e pirimidinas), embora, os fungos possam, por exemplo, absorver outra fonte orgânica de nitrogênio que esteja presente no meio e transformar em  $\text{NH}_4^+$ , através das enzimas catabólicas, como deve ter ocorrido no presente estudo.

A Figura 24 apresenta o gráfico de comparação das concentrações efluentes de nitrato e amônia.



**Figura 24 - Comparação entre as concentrações de nitrato e amônia efluentes.**

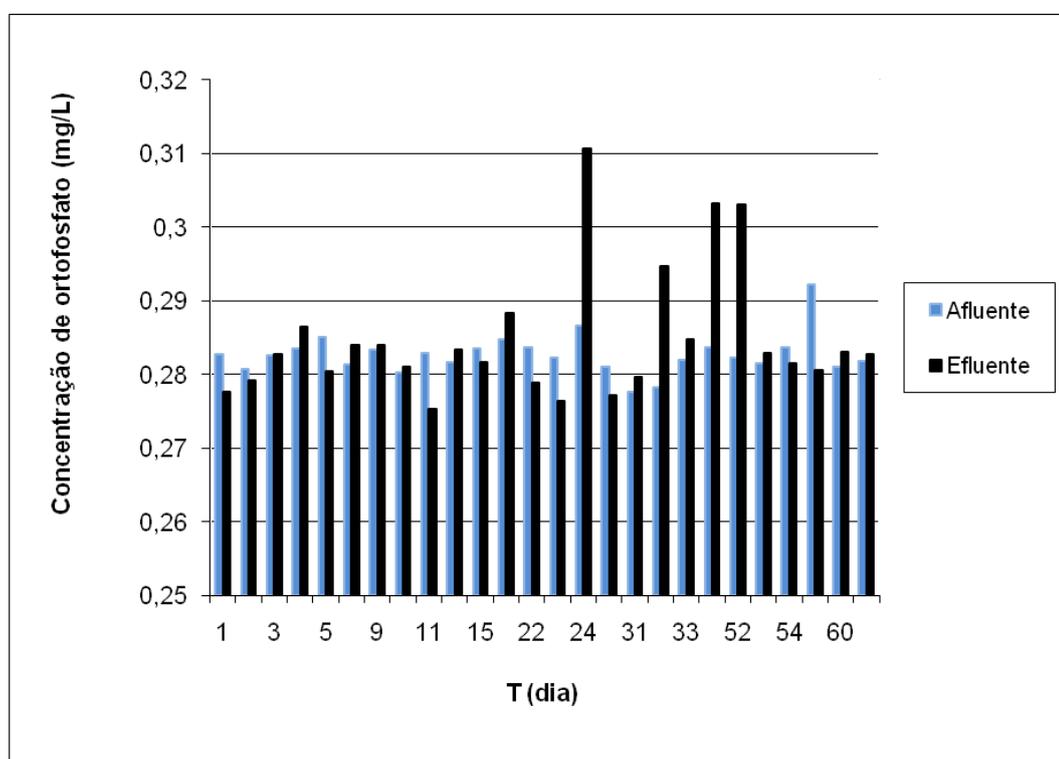
Na Figura 24 ficou evidente a relação inversamente proporcional entre as concentrações de nitrato e amônia, ou seja, enquanto os valores de nitrato tenderam a decrescer, as concentrações de amônia tenderam a aumentar.

De acordo com Pereira *et al.* (2003), isto indica que ocorreu biotransformação de nitrato a nitrito e este a amônia por ação de enzimas reguladoras, o que assegura grande eficiência na utilização de fontes inorgânicas de nitrogênio e posterior assimilação do íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), forma de mais fácil assimilação pelos fungos.

Principalmente nas primeiras semanas, a remoção de nitrato foi consideravelmente superior à amônia. De acordo com Griffin (1994), os fungos reduzem nitrato à amônia na fase catabólica do seu metabolismo através da atividade das enzimas nitrato redutase e nitrito redutase. A nitrato redutase é induzida pela presença de nitrato no meio, mas reprimida na presença de amônia, mesmo que haja nitrato disponível.

### Remoções de ortofosfato

Na Figura 25 observa-se a variação da concentração de ortofosfato afluente e efluente.



**Figura 25 - Variação da concentração de ortofosfato.**

Percebeu-se que a tendência foi produzir a variável, pois na maior parte da operação as concentrações do efluente foram maiores aos valores do afluente, quando não, a diferença entre os dois foi muito pequena. Embora algumas vezes a concentração de ortofosfato tenha diminuído, isto não foi suficiente para proporcionar ao reator uma remoção global satisfatória desta variável.

A oscilação vista na Figura 25 pode ser devido, em alguns momentos, o ortofosfato ter sido utilizado para síntese molecular de compostos celulares (SHAR'IA *et al.*, 2002) e em outros ter ocorrido a liberação para o meio de compostos fosfatados armazenados nos vacúolos dos fungos (COLE *et al.*, 1998).

Conforme Schadeck *et al.* (2003), o vacúolo é considerado como o compartimento lítico da célula fúngica e o destino final da via endocítica, sendo considerado importante na degradação de componentes macromoleculares.

O transporte do fósforo para vacúolos e a formação de polifosfatos representam os principais mecanismos pelos quais os fungos controlam a concentração desse nutriente no meio, e diversos são os fatores que interferem nesse processo (LI *et al.*, 2008; JENNINGS, 1995). Segundo Lima *et al.* (2003), geralmente, os fungos acumulam o polifosfato em sua fase estacionária e, de acordo com Shari'a *et al.* (2002), o devolve em fases distintas de crescimento, acumulando-o em algumas condições de crescimento.

O fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) entra na célula ativamente (ESPOSITO E AZEVEDO, 2004). Uma vez dentro da célula, o fosfato pode ser incorporado a metabólitos fosforilados primários, moléculas estruturais, ácidos nucleicos e polifosfatos, sendo ainda transportados ativamente para os vacúolos (JENNINGS, 1995). De acordo com Cramer e Davis (1984) fosfatos inorgânicos podem ser acumulados e liberados pelos vacúolos, em resposta a sua disponibilidade no meio ambiente.

Essas oscilações também podem ser justificadas pelos processos autolíticos, pois, conforme Foster (1949), o fósforo orgânico decorrente da quebra de proteínas é mineralizado e liberado novamente na forma de ortofosfato para o meio.

Silva (2009) ao estudar a biodegradação de corante azo em meio sintético por *Aspergillus niger* AN400 em reatores em batelada verificou que na remoção de ortofosfato, na a Etapa I, foram obtidas eficiências negativas para o ciclo I, no ciclo II de 88% em 120h e de 49% (ciclo III) em 72h. Na Etapa II a máxima remoção de ortofosfato nos ciclos I e II para o tempo de 96h foi de respectivamente 63% e 13% e de 9% (ciclo III) no tempo de 48h. Na Etapa III, o percentual máximo alcançado foi de 36% (ciclo I) em 72h, de 8% (ciclo II) e 13% (ciclo III), ambos no tempo de 168h.

### 5.3 Análise do Crescimento Microbiano

No reator contínuo, a diluição que apresentou melhor visualização das colônias foi a de 1000x, em concentrações de esporos por mL de  $5.10^4$  UFC/mL, para *Penicillium* e  $7.10^3$  UFC/ml, para *Aspergillus*. Neste sistema foi verificada a presença de leveduras, embora não terem sido identificadas devido à pequena quantidade. Percebeu-se que, mesmo presente no meio, a espécie inoculada não foi predominante, entretanto, ainda que o *Aspergillus niger* não tenha sido preponderante, verificou-se que o consórcio microbiano foi formado apenas com fungos, o que, em relação à bactéria, micro-organismo comumente causador de contaminação de reatores, é melhor pois a presença no reator de micro-organismos de um mesmo grupo pressupõe comportamentos semelhantes.

Na experiência em bateladas verificou-se a presença apenas de leveduras, fungos que ocorrem naturalmente no ambiente e crescem onde existe matéria orgânica disponível, viva ou morta, se desenvolvendo muito bem em líquidos açucarados.

É frequente a contaminação de reatores biológicos, devido à grande quantidade de micro-organismos existentes no entorno dos sistemas. Facó e Santaella (2002) tratando percolado de aterro por meio de sistema biológico com fungos observaram que apesar da acidificação do afluente na fase de fluxo contínuo não foi possível evitar a contaminação por bactérias, tendo sido encontrada a espécie *Staphylococcus aureus* nos dois reatores em fluxo contínuo, o controle e o inoculado.

Durante todo o experimento contínuo verificou-se que, frente a condições de estresse, como falta de aeração, o reator escurecia chegando a ponto de não se obter mais a visualização interna do reator. Abaixo a Figura 26 mostra as fotografias do reator contínuo antes e depois do momento do escurecimento.



**Figura 26 – Reator contínuo antes e depois do escurecimento.**

Provavelmente foi devido à liberação de melanina, substância liberada pelos fungos como mecanismo de defesa. Segundo Esposito e Azevedo (2004), os fungos liberam melanina que o protege de estresses ambientais tais como condições hiperosmóticas, temperaturas extremas, antagonismo com outros micro-organismos, limitações de nutrientes, modificações abruptas no pH e radiações ionizantes, condições, em geral, fornecidas por alguns reatores.

## 6 CONCLUSÕES

Na batelada sequencial, de acordo com o estudo da cinética de degradação do reator, o sistema atingiu remoções satisfatórias de material orgânica, em termos de DQO, tendo conseguido reduzir o tempo necessário para tais remoções de 96 h para 72 h, nos dois primeiros ciclos. A não adição de sacarose possibilitou aos RF atingirem melhores taxas de degradação a uma velocidade proporcional, quando comparados aos RFS, tendo como porcentagens 71,7% e 64,8% para o RFe e o RFp, respectivamente. O sistema proporcionou uma remoção global de nitrato nos reatores com espuma de 99 %, com mínimo de 86% e máximo de 100%, e naqueles com PET de 91%, com mínimo de 85% e máximo de 100%. Quanto à ortofosfato, removeu 88% e 92% para aqueles com espuma e PET, respectivamente, atingindo mínimos de 42% e 82%, respectivamente, e máximo de 98%, em ambos. Em relação à amônia não se mostrou adequado, acumulando em quase todo o experimento esta variável.

No reator contínuo conseguiu-se atingir uma remoção global de remoção de matéria orgânica, em termos de DQO, de 75% com um TDH de 8 h, ou seja, reduziu-se o tempo necessário para se alcançar remoções semelhantes aquelas da batelada, o que denotou otimização do sistema de tratamento. Quanto a nitrato, houve remoção média de 68% embora a taxa de remoção desta variável tenha oscilado bastante. O sistema mostrou restrições quanto à remoção de amônia e ortofosfato, observando-se produção destas variáveis, embora tenha havido uma tendência de diminuição na concentração de amônia e momentos de pequeno consumo de ortofosfato.

Portanto, ficou evidente que o reator de fluxo contínuo e ascendente foi a melhor opção no tratamento de água residuária sintética de laticínio dentro destas condições de trabalho, tendo sido o regime em batelada um meio para se concluir que ambos os materiais suportes, PET e espuma, foram capazes de atingir eficiências satisfatórias e similares.

Quanto à espécie *Aspergillus niger* AN 400, esta não predominou em nenhum dos sistemas verificando-se, através de teste microbiológico, a presença de micro-organismos contaminantes, como *Penicillium* e leveduras, no contínuo, e apenas leveduras, nas bateladas.

## 7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Diante dos resultados e conclusões desta pesquisa recomenda-se:

- Estudar outras espécies fúngicas no tratamento da água residuária de laticínio.
- Observar a eficiência dos sistemas frente a diferentes concentrações de sacarose e de outros substratos primários.
- Estudar a eficiência e a viabilidade econômica desse tratamento em escala real.
- Utilizar outros materiais suporte em reatores contínuos para efeito de comparação com PET triturado.
- Analisar a influência da aeração sobre a eficiência fúngica no tratamento de águas residuárias.
- Buscar maneiras de combater a contaminação dos reatores com micro-organismos indesejados.
- Pesquisar os mecanismos de produção de melanina do metabolismo fúngico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AINSWORTH, G. C.; SUSSMAN, A. S. **The fungi: an advanced treatise.** v.1, London: Academic Press, 1966.

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

ANDRADE, M.; OLIVEIRA, K.; NOBRE, L.; MARINHO, G.; RODRIGUES, K. **Uso de reatores em batelada com inoculo fúngico de *Aspergillus niger* para tratamento de água residuária da indústria de beneficiamento da castanha de caju.** In: II CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, **Anais...** João Pessoa: IFPB, 2007.

APHA, AWWA, WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater:** 21th ed., Washington D.C.: American Public Health Association, American Water Environment Federation, 2005.

APILÁNEZ, I.; GUTIÉRREZ, A.; DÍAZ, M; Effect of surface materials on initial biofilm development. **Bioresource Technology**, v.66, n.3, p. 225-230, 1998.

ARICA, M. Y.; KAÇAR, Y.; GENÇ, O. Entrapment of White-rot fungus *Trametes versicolor* in Ca-alginate beads: preparation and biosorption kinetic analysis for cadmium removal from an aqueous solution. **Bioresource Technology**, v.80, n.2, p. 121–129, 2001.

ATKINS, P. W. **Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente:** 3ª ed., São Paulo: Bookman, 2006.

BARBOSA, B. C. A.; VIDAL, C. B.; WANDERLEY, C. R. P.; MARINHO, G. A.; RODRIGUES, K. Tratamento Biológico Anaeróbio-Aeróbio para Remoção de Corante de Água Residuária Têxtil Sintética. **Revista Conexões – Ciência e Tecnologia**. v.3, n.1, p. 42-52, 2009.

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite**: 10ª ed., São Paulo: Nobel, 1987.

BITTON, G. **Wastewater microbiology**. New York: Wiley-Liss, 1994.

BORTOLOTTO, A. F.; CAMPOS, R. H. DE; MEDEIROS, P. L.; COSTA, R. H. R; DA. **Nitrificação de esgoto urbano em reator de leito fluidizado sequencial em batelada**. In: 23º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, **Anais...** Campo Grande: ABES, 2005.

BRAILE, P. M.; CAVALCANTI, J. E. W. A. **Manual de tratamento de águas residuárias**: 2ª ed., São Paulo: CETESB, 1993.

BRIÃO, V. B. **Estudo de Prevenção de Poluição em uma Indústria de Laticínios**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, UEM, Maringá, 71p, 2000.

BRIÃO, V. B. **Processos de separação por membranas para reuso de efluentes de laticínios**. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, UEM, Maringá, 94p, 2007.

BRIÃO, V. B.; TAVARES, C. R. G. **Geração de efluentes na indústria de laticínios: atitudes preventivas e oportunidades**. In: 23º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, **Anais...** Campo Grande: ABES, 2005.

BRIÃO, V. B.; TAVARES, C. R. G.; CALEFFI, R. D. **Ultrafiltração para o tratamento de efluentes de laticínios.** In: 23º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, **Anais...** Campo Grande: ABES, 2005.

BRYERS, J. D. **Modeling biofilm accumulation.** p.109-144. In: BAZIN, MICHAEL. J.; PROSSER, JAMES I. **Physiological models in microbiology**, Boca Raton, Florida: CRC Press, p.407-412, 1988.

CALLADO, N. H.; FOERSTI, E. **Tratamento de esgoto doméstico com remoção de nitrogênio e fósforo em reatores sequenciais em batelada.** In: XXVII CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, **Anais...** Porto Alegre: ABES, 2000.

CAMPOS, C. M. M.; LUIZ, F. A. R. DE; BOTELHO, C. G.; DAMASCENO, L. H. S.; Avaliação da eficiência do reator UASB tratando efluente de laticínio sob diferentes cargas orgânicas. **Revista de Ciências Agrotécnica de Lavras.** v.28, n.6, p.1376-1384, 2004.

CARMINATTI, C. A. **Ensaio de hidrólise enzimática da lactose em reator a membrana utilizando beta-galactosidase e *Kluyveromyces lactis*.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, UFSC, Santa Catarina, 79p, 2001.

CARLILE, M. J.; WATKINSON, S. C. **The fungi.** 1th ed., San Diego: Academic Press, 1994.

CATÃO, R. M. C.; CEBALLOS, B. S. O.; KONIG, A.; FEIJÓ, V. S. G. **Bactérias do gênero *Listeria* em águas residuárias do processamento do leite.** In: IX SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, **Anais...** Porto Seguro: ABES, 2000.

CERETI, C. F.; ROSSINI, F.; FEDERIC, F.; QUARATINO, D.; VASSILEV, N.; FENICE, M. Reuse of microbially treated olive mill wastewater as fertiliser for wheat (*Triticum durum* Desf.). **Bioresource Technology**, v.91, n.2, p.135-140, 2004.

COLE, L.; ORLOVICH, D. A.; ASHFORD, A. E. Structure, Function, and Motility of Vacuoles in Filamentous Fungi. **Fungal Genetics and Biology**, v.24, n.1-2, p.86-100, 1998.

COLERAUS, D.; BRIÃO, V. B. **Remoção de DBO, nitrogênio e fósforo de efluentes de laticínios em filtro biológico**. In: XVIII CONGRESSO REGIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA. **Anais...** Passo Fundo: UPF, 2003.

COSTA, J. M.; CORBELLINI, V. A.; SCROFERNEKER, M. L. Study of different nitrogens sources on glucose uptake and production of melanin precursors and fungal mass of *Fonsecaea pedrosoi* cultured in tricyclazole. **Process Biochemistry**, v.39, n.5, p.633-636, 2004.

COVIZZI, L. G.; GIESE, E. C.; GOMES, E.; DEKKER, R. F. H.; SILVA, R. DA. Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v.28, n.2, p.143-160, 2007.

COUTO, S. R.; SANROMÁN, M. Á.; HOFER, D.; GÚBITZ, G. M. Stainless steel sponge: a novel Carrier for the immobilisation of the White-rot fungus *Trametes hirsuta* for decolourization of textile dyes. **Bioresource Technology**, v.95, n.1, p.67-72, 2004.

CRAMER, C. L.; DAVIS, R. H. Polyphosphate-cationinteraction in the amino acid-containing vacuole of *Neurospora crassa*. **Journal of Biological Chemistry**, v.259, n.8, p.5152-5157, 1984.

CRESPIN, J. **Puericultura: ciência, arte e amor**. 1ª ed., São Paulo: ROCA, 1992.

DAMASCENO, E. P. **Emprego de reator de leito fixo e fluxo contínuo inoculado com *Aspergillus niger* AN 400 na remoção de nutrientes e matéria orgânica de água residuária de indústria petroquímica.** Monografia (Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental), Departamento da Área de Química e Meio Ambiente, IFCE, Fortaleza, 2007.

DAMASCENO, S.; CEREDA, M. P.; PASTORE, G. M.; OLIVEIRA, J. G. DE. Production of volatile compounds by *Geotrichum fragrans* using cassava wastewater as substrate. **Process Biochemistry**. v.39, n.4, p.411-414, 2003.

DEL RIO, D. T. **Biossorção de cádmio por leveduras *Saccharomyces cerevisiae*.** Dissertação (Mestrado em Agronomia), Programa de Pós-Graduação em Agronomia, USP, Piracicaba, 54p. 2004.

DÍAZ, E.; FERNANDEZ, A.; PRIETO, M. A.; GARCÍA, J. L. Biodegradation of aromatic compounds by *Escherichia coli*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.65, n.4, p.523-569, 2001.

DIONISI, D.; MAJONE, M.; TANDOI, V.; BECCARI, M. Sequencing Batch Reactor: Influence of Periodic Operation on Performance of Activated Sludges in Biological Wastewater Treatment. **Industrial & Engineering Chemistry Research**. v.23, n.40, p.5110-5119, 2001.

ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. DE. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e bítecnologia.** 1ª ed., Caxias do Sul: EDUCS, 2004.

FACÓ, A. M. **Tratamento de percolado de aterro sanitário através de processo biológico com fungos.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, UFC, Fortaleza, 113 p, 2002.

FACÓ, A. M.; SANTAELLA, S. T. **Tratamento de percolado de aterro sanitário através de processo biológico com fungos.** In: XXVIII CONGRESSO INTERAMERICANO DE INGENIERIA SANITARIA Y AMBIENTAL, **Anais...** Cancun: AIDIS, 2002.

FARIAS, S. L.; PINHEIRO, J. F.; ARAÚJO, R. DOS S.; RODRIGUES, K.; MARINHO, G. **Degradação de benzeno em reatores em batelada com e sem agitação inoculados com *Aspergillus niger* AN 400.** In: III CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, **Anais...** Fortaleza: IFCE, 2008.

FÉLIX, C. G.; MELO, I. P.; ANDRADE, M. V. F.; MARINHO, G.; RODRIGUES, K. **Estudo da Remoção de Fenol por *Aspergillus ornatus* em Reatores Biológicos.** In: XVII SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, **Anais...** Natal: UFRN, 2009.

FERREIRA, W. M. **Remoção de fenóis de água residuária de indústria de beneficiamento de castanha de caju em reatores biológicos com fungos.** Relatório de Iniciação Científica, UFC, Fortaleza: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 15p, 2007.

FILHO, H. A. S.; SANTOS, E. V. M. DOS; SAMPAIO, G. M. M. S.; RODRIGUES, K. DE A.; ARTHAUD, I. **Ensaio de toxicidade e remoção de corantes têxteis por processo biológico.** In: II CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA. **Anais...** João Pessoa: CEFET-PB, 2007.

FONTENELE, M. N. **Tratamento de efluentes líquidos da indústria de laticínios de Minas Gerais.** Monografia (Especialização em Engenharia Sanitária e Meio Ambiente), Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, UFMG, Belo Horizonte, 58p, 2006.

FOSTER, J. W. **Chemical Activities of Fungi.** 1ª ed., New York: Academic Press, 1949.

FREIRE, F. B. **Estudo teórico e experimental de um biofilme anaeróbio em um reator elemento de volume alimentado com acetato como substrato único.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento, USP, São Carlos, 122p, 2000.

FREIRE, F. B.; PIRES, E. C. Avaliação de material suporte para biomassa em reatores de leito fluidizado: aderência e hidrodinâmica. **Revista Universidade Rural: Série Ciências Exatas e da Terra**, v.23, n.1-2, p.34-43, 2004.

FREITAS NETO, M. DE A. **Tratamento biológico do líquido da casca do coco verde**. Tese (Doutorado em Engenharia Civil), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, UFC, Fortaleza, 135p, 2007.

GARCIA, G. C. P.; MOURA, R. B. DE; SILVA, L. DE M.; TERÁN, F. J. C. Estudo do desempenho de um reator aeróbio operando em bateladas seqüenciais o tratamento de efluentes de uma indústria de refrigerantes. **Engenharia Ambiental – Espírito Santo do Pinhal**, v.6, n.2, p.89-99, 2009.

GARCÍA-PEÑA, I.; HERNÁNDEZ, S.; FAVELA-TORRES, E.; AURIA, R.; REVAH, S. Toluene biofiltration by the fungus *Scedosporium apiospermum* TB1, **Biotechnology and Bioengineering**, v.76, n.1, p.61-69, 2001.

GEARY, P. M.; MOORE, J. A. Suitability of a treatment wetland for dairy wastewaters. **Water Science and Technology**, v.40, n.3, p.179-185, 1999.

GEBARA, D.; SOBRINHO, M. D.; SOBRINHO, P. A. **Remoção de N e P em reatores aeróbios de leito fluidizado**. In: XI SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, **Anais...** Natal: SILUBESA, 2004.

GERIN, P. A.; ASTHER, M.; ROUXHET, P. G. Peroxidase production by the filamentous fungus *Phanerochaete chrysosporium* in relation to immobilization in “filtering” carries. **Enzyme and Microbial Technology**, v.20, n.4, p.294-000, 1997.

GIESEKE, A.; ARNZ, P.; AMANN, R.; SCHRAMM, A. Simultaneous P and N removal in a sequencing batch biofilm reactor: insights from reactor- and microscale investigations. **Water Research**, v.36, n.2, p.501-509, 2002.

GIFFONI, D. A. **Filtros biológicos aplicados ao tratamento de água residuária sintética de laticínios**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, UFC, Fortaleza, 159p, 2000.

GIORDANO, J. B. **Apostila de beneficiamento têxtil**. Faculdade de Tecnologia de Americana, 2005.

GONZÁLEZ, R. N. **Prototheca, Yeast and Bacillus as a cause of mastitis**. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, 82p, 1996.

GREINER, T. **History of breastfeeding**, New York: WABA, 1998.

GRIFFIN, D. H. **Fungal physiology**. 2th ed., New York: Wiley-Liss, 458p, 1994.

HAQ, I. U.; ALLI, S.; QADEER, M. A.; IQBAL, J. Optimization of nitrogen for enhanced citric acid productivity by a 2-deoxy D-glucose resistant culture of *Aspergillus niger* NGd-280. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 5, p.645-648, 2005.

HEALY, M. G.; RODGERS, M.; MULQUEEN, J. Performance of a stratified sand filter in removal of chemical oxygen demand, total suspended solids and ammonia nitrogen from high-strength wastewaters. **Journal of Environmental Management**, v.83, n.4, p.409-415, 2007.

HOSETTI, B. B.; PATIL, H. S.; RODGI, S. S.; GADDAD, S. M. Effect of detention period on the biochemical activities of sewage stabilization ponds: A laboratory study. **Journal of Environmental Biology**, v.6, n.1, p.1-6, 1985.

IKEDA, Y.; PARK, E. Y.; OKUDA, N. Bioconversion of waste office paper to gluconic acid in a turbine blade reactor by the filamentous fungus *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**, v.97, n.8, p.1030-1035, 2006.

JENNINGS, D. H. **The physiology of fungal nutrition**. Cambridge: University, 595p, 1995.

KONIG, A.; LIMA, L. M. M.; CEBALLOS, B. S. O. DE. **Comportamento das águas residuárias brutas e tratadas provenientes de uma indústria de laticínios durante um dia de funcionamento**. In: XXVII CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA AMBIENTAL. **Anais...** Porto Alegre: ABES, 2000.

KOSIKOWSKI, F. V. Whey utilization and whey products. **Journal of Dairy Science**, v.62, n.7, p.1149-1160, 1979.

KOURKOUTAS, Y.; KOMAITIS, M.; KOUTINAS, A. A.; KANELLAKI, M. Wine production using yeast immobilized on apple pieces at low and room temperatures. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.3, p.1417-1425, 2001.

LEITÃO, A. L.; DUARTE, M. P.; OLIVEIRA, J. S. Degradation of phenol by a halotolerant strain of *Penicillium chrysogenum*. **Enzyme and Microbial Technology**, v.59, n.3, p.340-345, 2006.

LI, S. C.; KANE, P. M.. The yeast lysosome-like vacuole: Endpoint and crossroads, **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v.1793, n.4, p.650-663, 2008.

LIMA, M. A. B. DE; NASCIMENTO, A. E. DO; SOUZA, W. DE; FUKUSHIMA, K.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. DE. Effects of phosphorus on polyphosphate accumulation by *Cunninghamella elegans*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.34, n.4, p.363-372, 2003.

MACHADO, R. E.; ANDRADE, A. M. DE; TEIXEIRA, M. L.; BOTELHO, C. G. Poluição e autodepuração do Ribeirão Piambu (IJACI/MG). **Revista Técnica da SANEPAR**, v.13, n.13, p.51-58, 2000.

MACHADO, R. M. G.; FREIRE, V. H.; SILVA, P. C. DA; FIGUEREDO, D. V.; FERREIRA, P.E. **Controle ambiental nas pequenas e médias indústrias de laticínios**. Projeto Minas Ambiente, Belo Horizonte, 224p, 2002.

MACHADO, R. M. G.; SILVA, P. C. DA; FREIRE, V. H. Controle ambiental em indústrias de laticínios. **Revista on line Brasil Alimentos**, n.7, 2001.

MARINHO, R.; ARAUJO, R.; PINHEIRO, Z.; RODRIGUES, K.; MARINHO, G. **Degradação de atrazina na presença de glicose por *Aspergillus niger* AN 400 em reator de leito fixo e biomassa imobilizada**. In: IX ENCONTRO NACIONAL DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO, **Anais...** Fortaleza: IFCE, 2009.

MARTINS, L. R.; COMETTI, N. N.; MATIAS, G. C. S.; MACHADO, P. P. DA C.; ZONTA, E.; FERNANDES, M. S. **Efeito de amônio e nitrato usado num sistema computadorizado de controle de pH sobre o crescimento da alface em sistema hidropônico -NFT**. In: FERTBIO, **Anais...** Rio de Janeiro: UFRRJ, 2002.

MATOS, A. T. DE. **Tratamentos de Resíduos Agroindustriais. Curso sobre Tratamento de Resíduos Agroindustriais**. Departamento de Engenharia Agrícola e Ambiental, UFV, 34p, 2005.

MELO, I. P. DE; LOPES, M.; WANDERLEY, C. R. P.; SILVA, G. M. M.; RODRIGUES, K. DE A. **Remoção de Nutrientes e Matéria Orgânica por *Aspergillus niger* AN 400 no Tratamento de Água Residuária Sintética**. In: XVII SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, **Anais...** Natal: UFRN, 2009.

MELZER, G.; DALPIAZ, A.; GROTE, A.; KUCKLICK, M.; GÖCKE, Y.; JONAS, R.; DERSCH, P.; FRANCO-LARA, E.; NÖRTEMANN, B.; HEMPELA, D.C. Metabolic flux analysis using stoichiometric models for *Aspergillus niger*: Comparison under glucoamylase-producing and non-producing conditions. **Journal Biotechnology**, v.132, n.4, p.405-17, 2007.

MENDES, A. A. **Avaliação da biodegradabilidade de efluentes com alto teor de lipídeos previamente tratados com enzimas hidrolíticas.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Departamento de Engenharia Química, FEQL, Lorena, 135p, 2004.

MESQUITA, D. P.; COELHO, M. A. Z.; FERREIRA, E. C. **Efeito do sal no Desempenho de um Reator Batelada Seqüencial.** In: XVI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, **Anais...** Santos: ABEQ, 2006.

MINAS AMBIENTE, **Controle Ambiental nas Pequenas e Médias Indústrias de Laticínios,** Projeto Minas Ambiente, 136p, 2002.

MISHRA, B. K.; LATA, A. A. Optimization of a biological process for treating potato chips industry wastewater using a mixed culture of *Aspergillus foetidus* and *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**, v.94, n.1, p.9-12, 2004.

MORAIS, L. C. **Tratamento terciário de efluente de indústria de laticínio tendo em vista adsorção de lactose em argila organofílica.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, USP, São Paulo, 83p, 2003.

MONTES, A. L. **Microbiologia de los alimentos,** São Paulo: Resenha Universitária, 576p, 1977.

MOREIRA, A. C. F. **Águas residuárias: sistema de tratamento de efluentes industriais de laticínios.** Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, EAFI/FEAGRI, Campinas, 2007.

NIELSEN, J. Modelling the growth of filamentous fungi. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, v.46, p.187-223, 1992.

O'DONNELL, D.; WANG, L.; XU, J.; RIDGWAY, D.; GU, T.; MOO-YOUNG, M. Enhanced heterologous protein production in *Aspergillus niger* through pH control of extracellular protease activity. **Biochemical Engineering Journal**, v.8, n.3, p.187-193, 2001.

PAMBOUKIAN, C. R. D. **Influência das condições de preparo de inoculo na morfologia do microrganismo e na síntese de glicoamilase por *Aspergillus awamori***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, USP, São Paulo, 245p, 1997.

PANCHONI, L. C.; OTENIO, M. H.; GUERRA, N. M. M.; CRUZ, G. C. A. DA; SANTOS, V. DOS. Avaliação físico-química e bioquímica de efluente infiltrado de laticínio. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, v.25, p.1-18, 2008.

PAPAGIANNI, M. Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes. **Biotechnology Advances**, v.22, n.3, p.189-259, 2004.

PAPAGIANNI, M.; MATTEY, M. Physiological aspects of free and immobilized *Aspergillus niger* cultures producing citric acid under various glucose concentrations. **Process Biochemistry**, v.39, n.12, p.1963-1970, 2004.

PARK, C.; LEE, B.; HAN, E-G; LEE, J.; KIM, S. Decolorization of acid black 52 by fungal immobilization. **Enzyme and Microbial Technology**, v.39, n.3, p.371-374, 2006.

PEIRANO, M. M. F. Tratamento de efluentes em laticínios. **Revista de Leite e Derivados**, n.21, p.49-57, 1995.

PELCZAR, M.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2ªed. São Paulo: McGraw-Hill, v.1, 517p. 1996.

PEREIRA, M. A. Cálculo de Reatores. **Escola de Engenharia de Lorena**. Disponível em: <<http://www.marco.eng.br/reatores/reatorbatelada.html>>. Acesso em: 15 mai. 2010.

PEREIRA, J. F.; LIMA, J. O.; ROCHA, R. B.; MEDINA, P. X. L.; ARAÚJO, E. F. DE; QUEIROZ, M. V. DE. Nitrato Redutase em Fungos Filamentosos. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, n.31, p.74-85, 2003.

PETRE, M.; ZARNEA, G.; ADRIAN, P.; GHEORGHIU, E. Biodegradation and conversion of cellulose wastes bacterial and fungal cells immobilized in radiopolymerized hydrogels. **Resources, Conversation and Recycling**, v.27, p.309-332, 1999.

PINHEIRO, Z. B.; DAMASCENO, E. P.; MARINHO, G. M.; RODRIGUES, K. **Degradação de fenol por *Aspergillus niger* an400 em reatores em batelada**. In: II JORNADA NACIONAL DA PRODUÇÃO CIENTÍFICA EM EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA, **Anais...** São Luís: MEC, 2007.

PINTO, L. S.; VIEIRA, L. M.; PONS, L. N.; FONSECA, M. M. R.; MENEZES, J. C. Monitorização de processos biológicos: análise digital de imagens. **Boletim de Biotecnologia**, n.78, p.15-21, 2004.

POESTER, J. L.; LEITÃO, M. R. **Apostila de tratamento de efluentes agroindustriais**, v.1, Porto Alegre: SENAI, 1989.

PRENAFETA BOLDÚ, F.X. **Growth off fungi on volatile aromatic hydrocrbons: environmental technology perspectives**. Thesis (Doctorate PhD), PhD Programme, WUR, Wageningen, 115p, 2002.

RAMALHO, R. S. **Tratamiento de aguas residuals**: 1ª ed., Barcelona: Editorial Reverté S.A., 705p, 1991.

RAO, J. R.; VIRARAGHAVAN, T. Biosorption of phenol from am aqueous solution by *Aspergillus niger* biomass. **Bioresource Technology**, v.85, n.2, p.165-171, 2002.

RIBEIRO, A. C. P.; CONCEIÇÃO JR., J. C.; ROSA, D. R.; FREIRE, D. M. G.; CAMMAROTA, M. C. **Aplicação de enzimas hidrolíticas no tratamento aeróbio de efluentes de laticínios.** In: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, *Anais...* Campinas: ABEQ, 2005.

RODIER, J. L'. **Analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux residuales, eaux de mer:** 1d., Paris: Dunod, 629p, 1975.

RODRIGUES, K. DE A. **Tratamento biológico de água residuária sintética de laticínios por decomposição fúngica.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, UFC, Fortaleza, 113p, 1999.

RODRIGUES, K. DE A. **Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética.** Tese (Doutorado em Engenharia Civil), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, EESC-USP, São Carlos, 144p, 2006.

SÁ, I. M. B. **Biotratamento de efluente de uma indústria de laticínios por ação de fungos decompositores.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, UFC, Fortaleza, 83p, 1997.

SAMPAIO, G. M. M. S. **Biotratamento de água residuária industrial através de reator UASB seguido por um filtro biológico com fungos.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, UFC, Fortaleza, 130p, 2001.

SAMPAIO, G. M. M. S. **Remoção de metil paration e atrazina em reatores com fungos.** Tese (Doutorado em Engenharia Civil), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, EESC-USP, São Carlos, 115p. 2005.

SAMPAIO, G. M. M. S.; SANTOS, E. M. A.; FACÓ, A. M.; LEITÃO, R. C.; MENEZES, E. A.; SANTAELLA, S. T. Pós –Tratamento de efluente de um reator UASB através de um reator biológico com fungos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.9, n.1, p.73-81, 2004.

SAMPAIO, G. M. M. S.; SANTAELLA, S. T. **Remoção de DQO em água residuária industrial através de um sistema em escala laboratorial composto por um reator UASB seguido por um filtro biológico com fungos.** In: VI SIMPÓSIO ÍTALO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, **Anais...** Vitória: ABES, 2002.

SANGTIEAN, T.; SCHMIDT, S. Growth of subtropical EMC fungi with different nitrogen sources using a new flotation culture technique. **Mycological Research**, v.106, n.1, p.75-85, 2002.

SANTAELLA, S. T. **Estudos de tecnologias apropriadas para tratamento de efluentes da indústria de castanha de caju.** Relatório Institucional de Pesquisa, Fortaleza: UFC, 1999.

SANTAELLA, S. T.; SOUSA, O. L.; LOPES, A. C.; OLIVEIRA, E. C.; SALEK, J. M. **Remoção de fenol em reatores biológicos com fungos (RBF) utilizando meio suporte e água residuária sintética.** In: 23º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, **Anais...** Campo Grande: ABES, 2005.

SANTAELLA, S. T.; JÚNIOR, F.; GADELHA, D.; COSTA, K.; AGUIAR, R.; ARTHAUD, I.; LEITÃO, R. C. Tratamento de efluentes de refinaria de petróleo em reatores com *Aspergillus niger*. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v.14, n.1, p.139-148, 2009.

SANTOS, V. R. DOS. **Reator em batelada sequencial (RBS) para o tratamento de efluentes de pequenas e médias indústrias de laticínios.** Dissertação (Mestrado em Engenharia), Programa de Pós-Graduação em Engenharia, FEA/UPF, Passo Fundo, 55p, 2009.

SANTOS, E. M. A.; SANTAELLA, S. T.; SAMPAIO, G. M. M. S.; FACÓ, A. M. Influência do tempo de detenção hidráulica de um sistema constituído por um reator UASB seguido por um reator biológico com fungos para tratar efluentes de indústria de castanha de caju. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v.11, n.1, p.39-45, 2006.

SCHUSTER, E.; DUNN-COLEMAN, N.; FRISVAD, J. C.; VAN DIJCK, P. W. On the safety of *Aspergillus niger* - a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.59, n.4-5, p.426-435, 2002.

SEBRAE. **Usina de beneficiamento de leite**. Série Perfil de Projetos, Vitória, 26p, 1999.

SEBRAE/MG. **Pesquisa tecnológica para controle ambiental em pequenos e médios laticínios de Minas Gerais**. Belo Horizonte, v.1, 1998.

SEKHAR, K. C.; SUBRAMANIAN, S.; MODAK, J. M.; NATARAJAN, K. A. Removal of metal ions on industrial biomass with reference to environmental control. **International Journal of Mineral Processing**, v.53, p.107-120, 1998.

SCHADECK, R. J. G.; RANDI, M. A. F.; BUCHI, D. F.; LEITE, B. Vacuolar system of ungerminated *Colletotrichum graminicola* conidia: convergence of autophagic and endocytic pathways. **FEMS Microbiology Letters**, v.218, n.2, p.277-283, 2003.

SHARI'A, A. E. N.; NASCIMENTO, A. E.; LIMA, A. B. L.; TAKAKI, G. M. C.; SOUZA, W. Polyphosphate in zygomycetes: A cytochemical study. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.33, n.2, 2002.

SILVA, K. M. L. DA. **Biodegradação de corante azo em meio sintético por *Aspergillus niger* AN 400 em reatores em batelada**. Monografia (Graduação em Tecnologia em Gestão Ambiental), Departamento da Área de Química e Meio Ambiente, IFCE, Fortaleza, 95p, 2009.

SILVA FILHO, H. A. **Remoção de corante têxtil em reator biológico com fungos**. Monografia (Graduação em Tecnologia em Gestão Ambiental), Departamento da Área de Química e Meio Ambiente, IFCE, Fortaleza, 50p, 2006.

SOUTO, V. S. **Utilização de reatores híbridos de fluxo contínuo e em bateladas sequenciais para remoção conjunta de carbono e nitrogênio de esgoto urbano.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, UFSC, Santa Catarina, 250p, 2007.

SPEECE, R. E. **Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewater Treatment:** 1th ed., Nashville: Archae Press, 1996.

STEFFAN, S.; BARDI, L.; MARZONA, M. Azo dye biodegradation by microbial cultures immobilized in alginate beads. **Environmental International**, v.31, p.201-205, 2005.

TETRAPARK. Leite na história humana. **Pratique Leite.** São Paulo, jan2006. Disponível em: <<http://www.pratiqueleite.com.br/article.php?recid=5427>>. Acesso em: 11 mar. 2010.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia:** 5ª ed., São Paulo: Atheneu, 2008.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMTERTZ, O. S.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia.** 3ª ed., São Paulo: Ateneu, 1999.

VAN HAANDEL, A. O.; LETTINGA, O. **Tratamento anaeróbio de esgotos: um manual para regiões de clima quente:** 1ª ed., Campina Grande: Epgraf, 1994.

VEYSSEYRE, R. **Lactologia técnica, composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche:** 1ª ed., Zaragoza: Acribia, 1988.

VINAGRE, R. D.; DINIZ, E. M. A.; VAZ, F. A. C. Leite humano: um pouco de sua história. **Revisão e Ensaio**, v.23, n.4, p.340-345, 2001.

VIDAL, G.; CARVALHO, A.; MÉNDEZ, R. Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewater. **Bioresource Technology**, v.74, n.3, p.231-239, 2000.

VIDAL, C.; BARBOSA, B.; PESSOA, C. R.; ARAÚJO, R.; SAMPAIO, G.; RODRIGUES, K. **Uso de reator biológico com fungos para tratamento de água residuária sintética contendo corante Vermelho Congo.** In: III CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, **Anais...** Fortaleza: IFCE, 2008.

VILLA, R. D.; SILVA, M. R. A. DA; NOGUEIRA, R. F. P. Potencial de aplicação do processo foto-fenton/solar como pré-tratamento de efluente da indústria de laticínios. **Química Nova**, v.30, n.8, São Paulo 2007.

VILLENA, G. K.; GUTIÉRREZ-CORREA, M. *Aspergillus niger* biofilmes for celulasas production: some structural and physiological aspects. **Revista Peruana de Biología**, v.10, n.1, p.78-87, 2003.

Von SPERLING, M. **Lodos Ativados – Princípios do tratamento biológico de águas residuárias.** Belo Horizonte: DESA/UFMG, 1997.

WALLSTROM, S.; DOWLING, K.; KARLSSON, S. Development and comparasion of test methods for evaluating formation of biofilms on silicones. **Polymer Degradation and Stability**, v.78, n.2, p.257-262, 2002.

WANDERLEY, C. R. P. *Aspergillus niger* AN 400 como inóculo em reatores em batelada para remoção de corante vermelho do congo em meio aquoso sintético. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, UFC, Fortaleza, 84f. 2007.

WANG, D.; LI, X.; YANG, Q.; ZENG, G.; LIAO, D.; ZHANG, J. Biological phosphorus removal in sequencing batch reactor with single-stage oxic process. **Bioresource Technology**, v.99, n.13, p. 5466-5473, 2007.

WASTEWATER. Viena: UNIDO, 1999. Disponível em: <<http://www.unido.org/ssites/env/sectors/sectors23ab.html>>. Acesso em: 02 nov 2009.

WEST, T. P.; STROHFUS, B. Polysaccharide production by immobilized *Aureobasidium pullulans* cells in batch bioreactors. **Microbiological Research**, v.156, n.3, p.285-288, 2001.

WITTEVEEN, C. F. B. **Gluconate formation and polyol metabolism in *Aspergillus niger***. Thesis (Doctorate PhD), PhD Programme, WUR, Wageningen, 128p, 1993.

WOLFF, D. B.; CAMPOS, R. H. DE; HOFFMANN, H.; LAPOLLI, F. R.; FILHO, P. B.; COSTA, R. H. R. DA. **Avaliação do biofilme desenvolvido em reator de leito fluidizado no tratamento de esgoto sanitário**. In: 21º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, **Anais...** João Pessoa: ABES, 2000.

ZNAD, H.; BLAZEJ, M.; BÁLES, V.; MARKO, J. **A Kinetic Model for Gluconic Acid Production by *Aspergillus niger***. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF THE SLOVAK SOCIETY OF CHEMICAL ENGINEERING, **Anais...** Bratislava: STUBA, 2003.