



GERMANA MARIA MARINHO SILVA

**DEGRADACÃO BIOLÓGICA DE CORANTE VERMELHO DO CONGO EM
REATOR BATELADA SEQUENCIAL COM INÓCULO FUNGICO DE
ASPERGILLUS NIGER AN400**

FORTALEZA – CEARÁ

2010



GERMANA MARIA MARINHO SILVA

**DEGRADACÃO BIOLÓGICA DE CORANTE VERMELHO DO CONGO EM
REATOR BATELADA SEQUENCIAL COM INÓCULO FUNGICO DE
ASPERGILLUS NIGER AN400**

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.

Orientadora: Profa. Dra. Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa

Co-Orientador: Prof. Dr. Rinaldo dos Santos Araújo

FORTALEZA – CEARÁ

Dezembro 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)

- S586d Silva, Germana Maria Marinho.
Degradação biológica de corante vermelho do Congo em reator batelada sequencial com inóculo fungico de aspergillus niger AN400 / Germana Maria Marinho Silva. - 2010.
74 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal do Ceará, Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental, Campus Fortaleza, 2010.
Orientação: Prof. Dr. Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa.
1. Gestão Ambiental - Dissertação. 2. Reator Batelada Sequencial. 3. Biomassa imobilizada. 4. Aspergillus niger. 5. Vermelho do Congo. I. Título.

CDD 628

GERMANA MARIA MARINHO SILVA

**DEGRADACÃO BIOLÓGICA DE CORANTE VERMELHO DO CONGO EM
REATOR BATELADA SEQUENCIAL COM INÓCULO FUNGICO DE
ASPERGILLUS NIGER AN400**

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. Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa (Orientadora)
INSTITUTO FEDERAL DO CEARÁ – IFCE

Prof. Dr. Rinaldo dos Santos Araújo
INSTITUTO FEDERAL DO CEARÁ – IFCE

Prof. Dra. Marisete Dantas de Aquino
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ – UFC

À minha família sempre.

Não é o cérebro que mais importa, mas sim o que o orienta: o caráter, o coração, a generosidade, as idéias progressivas.

Dostoievski

AGRADECIMENTOS

A Deus pela dádiva da vida.

Aos meus pais Cândido e Claudete pelo amor e apoio sem medidas, pela coragem, pela retidão de caráter, coerência e honestidade que sempre pautaram suas vidas e de toda nossa família.

A Glória, pelo exemplo de amor, coragem e obstinação, por ser um marco de força e fé numa só, pela responsabilidade em várias de minhas empreitadas na vida, por ver solução até no que não existe.

Ao Dan e Gui, que mesmo sem ser meus filhos, considero-os como sendo.

A Zu, a irmã de amor que Deus me permitiu ter e que me deixa muito feliz até nos momentos mais difíceis.

Aos colegas de Maracanaú: Rossana, Marcéu, Ronald, Olímpia, Eva, Queru, Júlio César e Carla pelo apoio e força.

Ao Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM), em nome de Karla Mayara, a quem devo muito.

Ao Prof. Rinaldo Araújo pelas grandes injeções de ânimo.

Ao Evandro Martins por tentar fazer com que eu não esmorecesse.

A Prof. Kelly, especialmente, pela infinita paciência e compreensão, por sua vontade e coragem.

RESUMO

Os corantes sintéticos tipo azo ($-N=N-$) representam cerca de 70% do mercado mundial de corantes, sendo mais largamente usados no processo de tingimento de fibra têxtil, nos quais, estima-se que de 10% a 20% dos corantes, são perdidos, particularmente, durante as etapas secundárias de beneficiamento têxtil. A aplicação de fungos em reatores biológicos para o tratamento de águas residuárias vem crescendo devido às suas características fisiológicas. A capacidade dos fungos de suportar mudanças bruscas de matéria orgânica, rápida reprodução e proliferação, tolerar grandes variações de pH e de temperatura e se adequar a variações e escassez de umidade e de oxigênio, são indicadores do potencial de aplicação destes micro-organismos em tratamento biológico de águas residuárias. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a eficiência de um reator batelada seqüencial (RBS) com inóculo de *Aspergillus niger* AN400 para remover o corante vermelho do congo. O estudo foi realizado em duas etapas: na primeira utilizou-se um reator em batelada seqüencial com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN400 em espuma de poliuretano em ciclos de sete dias, e na segunda, o mesmo reator, contudo com ciclos operacionais de 48 h. Na etapa 1, o reator em batelada seqüencial com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN400 apresentou boa eficiência para a remoção de vermelho do congo (95%) e de matéria orgânica carbonácea (86%). O processo foi otimizado pelo uso da glicose como cossubstrato, na concentração de 1 g/L (Fase I). Os resultados da constante de velocidade (k_2) mostraram um maior ajuste dos dados experimentais ao modelo de segunda ordem em todos os ciclos operacionais com valores de R^2 variando entre 0,785 e 0,994; cujos valores foram de 0,0317 L/mg.h, 0,0145 L/mg.h e 0,0100 L/mg.h para as fases com 1 g glicose/L, 0,5 g glicose/L e sem glicose, respectivamente. Na etapa 2 o reator apresentou boa eficiência para a remoção de vermelho do congo (84% na fase I e 83% na fase II) e de matéria orgânica carbonácea (87% na fase I e 64% na fase II), para o tempo reacional de 48 h. Portanto, o reator em bateladas seqüenciais imobilizado com *Aspergillus niger* AN400 aponta como uma tecnologia viável para a remoção de corante de água residuária têxtil.

Palavras-chaves: Reator Batelada Sequencial; *Aspergillus niger*; Vermelho do Congo; Biodegradação; Biomassa imobilizada.

ABSTRACT

The synthetic dyes azo ($-N=N-$) represent about 70% world market of dyes, being more widely used in the dyeing process of textile fiber, in which it is estimated that 10% to 20% of the dyes will be lost, particularly during the stages of secondary processing of textiles. The application of fungi in biological reactors for wastewater treatment has grown due to their physiological characteristics. The ability of fungi to withstand sudden changes in organic matter, rapid reproduction and proliferation, tolerate wide variations in pH and temperature and adapt to changes and lack of moisture and oxygen, are indicators of the potential application of these micro-organisms in treatment biological wastewater. The aim of this study was to evaluate the efficiency of a sequencing batch reactor was inoculated with *Aspergillus niger* AN400 to remove the dye congo red. The study was conducted in two stages: first we used a sequencing batch reactor with immobilized biomass of *Aspergillus niger* AN400 in polyurethane foam in cycles of seven days and the second step, the same reactor with the same characteristics, yet with cycles operating in 48 h. In Step 1, the sequencing batch reactor with immobilized biomass of *Aspergillus niger* AN400 showed good efficiency for the removal of congo red (95%) and carbonaceous organic matter (86%). The process was optimized by use of glucose as cosubstrato at a concentration of 1 gL^{-1} (Phase I). The results of kinetic constant (k_2) showed a larger set of experimental data to the model of second order in all operational cycles with R^2 values ranging between 0.785 and 0.994, with values of 0.0317 L/mg.h , 0.0145 L/mg.h e 0.0100 L/mg.h for phases with 1 g glucose/L , 0.5 g glucose/L and without glucose, respectively. In Step 2, the reactor showed good efficiency for the removal of congo red (84% in phase I and phase II 83%) and carbonaceous organic matter (87% in phase I and 64% in phase II) for the time reaction of 48 h. Therefore, the sequencing batch reactor with immobilized *Aspergillus niger* AN400 points as a viable technology for the removal of textile dye wastewater.

Keywords: Sequential Batch Reactor, *Aspergillus niger*, Congo Red, Biodegradation, Biomass Immobilized.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química do corante azo Vermelho do Congo	5
Figura 2 – Remoção de corante Vermelho do Congo na etapa I para reatores em batelada sequencial contendo 1,0 g/L de glicose e ciclos operacionais de 7 dias.	25
Figura 3 – Remoção de corante Vermelho do Congo na etapa I para os reatores em batelada sequencial contendo 0,5 g/L de glicose e ciclos operacionais de 7 dias.	26
Figura 4 – Remoção de corante Vermelho do Congo na etapa I para reatores em batelada sequencial sem glicose e ciclos operacionais de 7 dias.	26
Figura 5 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial contendo 1 g/L de glicose (etapa I-fase I) e no 1º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$, $Co = 10\text{ mg/L}$.	28
Figura 6 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial contendo 1 g/L de glicose (etapa I-fase I) e no 2º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$, $Co = 10\text{ mg/L}$.	29
Figura 7 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial contendo 1 g/L de glicose (etapa I-fase I) e no 3º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$, $Co = 10\text{ mg/L}$.	30
Figura 8 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial contendo 0,5 g/L de glicose (etapa I-fase II) e no 1º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$, $Co = 10\text{ mg/L}$.	31
Figura 9 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial contendo 0,5 g/L de glicose (etapa I-fase II) e no 2º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$, $Co = 10\text{ mg/L}$.	32
Figura 10 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial contendo 0,5 g/L de glicose (etapa I-fase II) e no 3º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$, $Co = 10\text{ mg/L}$.	33

Figura 11 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial sem glicose (etapa I-fase III) e no 1º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$, $Co = 10\text{ mg/L}$.	34
Figura 12 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial sem glicose (etapa I-fase III) e no 2º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$, $Co = 10\text{ mg/L}$.	35
Figura 13 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial sem glicose (etapa I-fase III) e no 3º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$, $Co = 10\text{ mg/L}$.	36
Figura 14 – Remoção de DQO na etapa I para reatores em batelada sequencial contendo 1,0 g/L de glicose e ciclos operacionais de 7 dias.	38
Figura 15 – Remoção de DQO na etapa I para reatores em batelada sequencial contendo 0,5 g/L de glicose e ciclos operacionais de 7 dias.	39
Figura 16 – Remoção de DQO na etapa I para reatores em batelada sequencial sem glicose e ciclos operacionais de 7 dias	39
Figura 17 – Variação da concentração de corante Vermelho do Congo e eficiência de remoção para reatores em batelada sequencial contendo 1 g glicose/L (etapa II – fase I) em ciclos operacionais de 48 h	43
Figura 18 – Variação da concentração de corante Vermelho do Congo e eficiência de remoção para reatores em batelada sequencial contendo 0,5 g glicose/L (etapa II – fase II) em ciclos operacionais de 48 h.	44
Figura 19 – Variação da concentração de DQO e eficiência de remoção para reatores em batelada sequencial na etapa II contendo 1,0 g/L de glicose em ciclos operacionais de 48 h.	45
Figura 20 – Variação da concentração de DQO e eficiência de remoção para reatores em batelada sequencial na etapa II contendo 0,5 g/L de glicose em ciclos operacionais de 48 h.	46
Figura 21 Variação do pH para reatores em batelada sequencial na etapa II contendo 1 g /L de glicose em ciclos operacionais de 48 h.	47

- Figura 22** – Variação do pH para reatores em batelada seqüencial contendo 0,5 g/L de glicose em ciclos operacionais de 48 h. 47
- Figura 23** – Variação da concentração de amônia e nitrato para reatores em batelada seqüencial na Etapa II com 0,5 g /L de glicose e ciclos operacionais de 48 h. 48
- Figura 24** – Variação da concentração de amônia e nitrato para reatores em batelada seqüencial na Etapa II com 1 g /L de glicose em ciclos operacionais de 48 h. 48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Macro e micro nutrientes e suas funções no metabolismo fúngico.	6
Tabela 2 – Pesquisas com uso de espécies fúngicas para remoção de diferentes substratos em meio “in natura”.	8
Tabela 3 – Pesquisas com uso de espécies fúngicas para remoção de diferentes substratos em meio sintético.	10
Tabela 4 – Principais características físico-químicas da água residuária sintética empregada nas três fases operacionais de degradação biológica.	22
Tabela 5 – Distribuição dos ciclos de operação do reator em regime de bateladas sequenciais em função da concentração da glicose.	23
Tabela 6 – Parâmetros cinéticos de biodegradação do corante Vermelho do Congo nas fases I, II e III da etapa I (ciclos operacionais de 7 dias) segundo os modelos de primeira e segunda ordem. $T = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$, $Co = 10\text{ mg/L}$.	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABIT	Associação Brasileira de Indústria Têxtil
C	Concentração do corante no tempo final
C_0	Concentração do corante no tempo inicial
COT	Carbono Orgânico Total
DQO	Demanda Química de Oxigênio
K_1	Constante da velocidade de primeira ordem
K_2	Constante da velocidade de segunda ordem
pH	Potencial hidrogeniônico
R1	Reator 1
R2	Reator 2
RBF	Reator Biologia com Fungo
RBS	Reator em Batelada Sequencial
RFG	Reatores com fungos e glicose
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
Ratz	Velocidade de degradação da atrazina
t	Tempo
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
t_0	Tempo inicial
TR	Tempo Reacional
UASB	Reator anaeróbio de fluxo ascendente

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Geral	3
2.2 Específicos	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Indústria Têxtil	4
3.2 Fungos	5
3.3 Potencial de Degradação Fúngica no Tratamento de Águas Residuárias	11
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 Inóculo	22
4.2 Água Residuária Sintética	22
4.3 Imobilização da Biomassa	23
4.4 Montagem e Operação do Reator Batelada Sequencial	23
4.5 Análises Microscópicas	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	25
5.1 Estudos de Biodegradação do Corante Vermelho do Congo com Biomassa Imobilizada de <i>Aspergillus Níger</i> AN400 para Ciclos Operacionais de 7 dias (ETAPA I)	25
5.2 Estudos de Biodegradação do Corante Vermelho do Congo com Biomassa Imobilizada de <i>Aspergillus Niger</i> AN400 para Ciclos Operacionais de 48 h (ETAPA II)	43
6 CONCLUSÕES	50
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

1 INTRODUÇÃO

Os corantes sintéticos tipo azo ($-N=N-$) representam cerca de 70% do mercado mundial destas moléculas (YANG *et al.* 2009), sendo mais largamente usados no processo de tingimento de fibra têxtil. Em geral, estima-se que de 10% a 20% dos corantes são perdidos durante o processamento, particularmente, durante as etapas secundárias do beneficiamento têxtil (LEVIN *et al.*, 2004).

Os corantes possuem como características serem persistentes no ambiente ao qual serão lançados e por este motivo, os problemas associados à presença dos mesmos em efluentes geram grande preocupação ambiental. Despejos industriais têxteis quando lançados no ambiente sem tratamento prévio, são altamente tóxicos à vida aquática e reduzem a transparência de água, afetando o processo de fotossíntese e diminuindo a concentração de oxigênio dissolvido, o qual é essencial a biota aquática (OZFER *et al.*, 2003, AKSU e DONMEZ, 2003).

Desta forma, o tratamento de poluentes corantes se faz necessário, e a busca por novas tecnologias para a descoloração de efluentes têxteis é de grande atenção (FU e VIRARAGHAVAN, 2002). Neste contexto, o interesse na aplicação de fungos em reatores biológicos para o tratamento de águas residuárias vem crescendo em função das características fisiológicas destes micro-organismos. Os fungos se destacam pela capacidade em suportar mudanças bruscas de matéria orgânica, apresentarem rápida reprodução e proliferação, serem tolerantes a grandes variações de pH e de temperatura e pela capacidade de se adequar a variações e escassez de umidade e de oxigênio (SANTAELLA *et al.*, 2009).

A viabilidade do uso dos fungos para a mineralização de compostos de difícil degradação presentes em diversas águas residuárias vem sendo relatada como alternativa promissora de aplicação, conforme os bons resultados apresentados em pesquisas sobre a degradação de compostos fenólicos (RODRIGUES, 2006; LOPES, 2008; SHARMA *et al.* 2009), corantes têxteis (SANTAELLA *et al.*, 2009), pesticidas (SAMPAIO, 2005), entre outros.

O gênero *Aspergillus* tem mostrado ser capaz de sobreviver e crescer em meios líquidos na presença de compostos de difícil mineralização e produzido bons resultados na remoção destes compostos (FELIX *et al.*, 2009).

A facilidade de degradar os mais diferentes substratos é atribuída à produção de enzimas extracelulares que tornam o organopoluente acessível para assimilação (RODRIGUES, 2006), sendo que a espécie *Aspergillus niger*, em função das condições do meio, é capaz de produzir mais de 19 enzimas diferentes, como, por exemplo, celulasas, lactases, lacases, xilanases e amilases (SPIER, 2005, FASANELLA, 2008), possuindo grande potencialidade para a degradação de diferentes compostos xenobióticos.

Assim, nesta pesquisa foi estudada a eficiência de um reator batelada sequencial com inóculo de *Aspergillus niger* AN400 na remoção de corante Vermelho do congo em água residuária sintética.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficiência de um reator batelada seqüencial (RBS) com inóculo de *Aspergillus niger* AN400 para remoção de corante Vermelho do Congo em meio aquoso.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a cinética de biodegradação do corante Vermelho do Congo em meio aquoso;
- Avaliar a eficiência do sistema biológico na remoção de corante, DQO, amônia e nitrato, operado em ciclos de 7 dias e 48 h;
- Verificar a influência da glicose na eficiência do processo de biodegradação do corante Vermelho do Congo em meio aquoso.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Indústria Têxtil

A indústria têxtil faz parte do grupo das maiores indústrias do mundo, caracterizando-se por requerer grandes quantidades de água, corantes e produtos químicos, utilizados ao longo de sua cadeia produtiva. No Brasil, o setor têxtil constitui um fator importante para a economia, sendo os estados de Santa Catarina e São Paulo os maiores pólos têxteis em volume de produção (HASSEMER e SENZ, 2002).

O setor têxtil representa grande importância para a economia mundial, sendo um dos ramos que mais consomem produtos químicos. Segundo a ABIT (Associação Brasileira de Indústria Têxtil), o Brasil é o sexto produtor mundial de produtos têxteis. No país, este setor e o de confecção possuem mais de 30 mil empresas e gera 1,65 milhões de empregos em toda a sua extensa cadeia, que inclui fios, fibras e tecelagens (ABIT, 2009).

O Brasil compreende um dos maiores parques fabris do planeta e está na lista dos 10 principais mercados mundiais da indústria têxtil, onde ocupa o 2º lugar no fornecimento de índigo e o 3º quanto ao de malha, e ainda está entre os cinco principais países produtores de confecção, sendo hoje um dos oito grandes mercados de fios, filamentos e tecidos (ABIT, 2009).

Os efluentes coloridos, como os têxteis, quando dispostos no meio ambiente são extremamente deletérios. Esgotos contendo corantes podem ser tóxicos, carcinogênicos e ainda mutagênicos e estes possuem um sério perigo aos organismos de vida aquática (KHALAF, 2008).

A importância dos corantes para a civilização humana é evidente. Os corantes são extensivamente utilizados nas indústrias têxtil e gráfica e também como aditivos. Aproximadamente 10.000 diferentes corantes e pigmentos são empregados industrialmente, o que representa um consumo anual de cerca de 7×10^5 tons no mundo e 25.500 tons no Brasil (ZAMORA, 2001).

Os corantes sintéticos tipo azo ($-N=N-$) representam cerca de 70% do mercado mundial de corantes (YANG *et al.*, 2009), sendo o mais largamente usado nos processos de tingimento de fibra têxtil e possuem como características serem persistentes no ambiente ao qual são lançados. Estima-se que de 10% a 20% dos corantes usados em processos industriais são perdidos durante as etapas secundárias de beneficiamento têxtil (LEVIN *et al.*, 2004).

Na Figura 1 está apresentada a estrutura química característica de um grupo cromóforo do azo corante Vermelho do Congo.

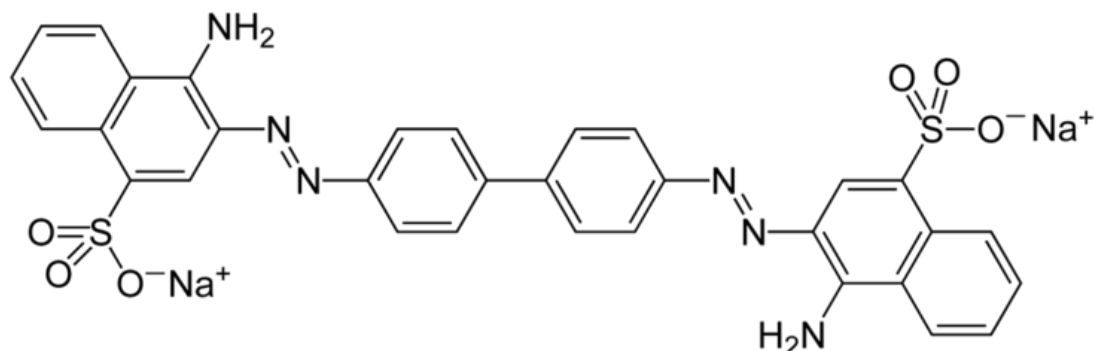


Figura 1 - Estrutura química do corante azo Vermelho do Congo. Fonte: Kunz *et al.* (2002) e Fu *et al.* (2002).

3.2 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 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) (PAPAGIANNI, 2004).

Mesmo não sendo tão exigentes como as bactérias, os fungos necessitam de nutrientes para seu desenvolvimento. Segundo Griffin (1994), macro e micro nutrientes são de importância fundamental para condições ideais de crescimento. Na Tabela 1 são apresentadas as funções de alguns macro e micro nutrientes para crescimento dos fungos.

A utilização de fungos filamentosos nos tratamentos de águas residuárias é devido ao seu grande potencial de biodegradação, sendo, de acordo com Lemos *et al.* (2008), alguns pontos importantes, tais como: o crescimento micelial, que oferece vantagem na colonização de substratos insolúveis, ocorrendo a excreção de enzimas extra-celulares que degradam o substrato; maior tolerância a concentrações altas de produtos tóxicos, sendo também capazes de crescer sob condições adversas (pH baixo, escassez de nutrientes, ambientes com umidade relativa baixa). As enzimas envolvidas no processo são: citocromo P-50, lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase.

Tabela 1 – Macro e micro nutrientes e suas funções no metabolismo fúngico.

Elemento	Fonte	Função
Macronutrientes		
Nitrogênio	NaNO ₃ , NH ₄ Cl	Síntese de aminoácidos, nucleotídeos e vitaminas
Fósforo	KH ₂ PO ₄	Síntese de ácidos nucleicos, transferência de energia, metabolismo intermediário
Enxofre	K ₂ SO ₄	Síntese de aminoácidos e vitaminas
Elemento	Fonte	Função
Micronutrientes		
Zinco	ZnCl ₂	Auxilia na atividade enzimática e metabolismo de ácidos orgânicos e outros intermediários
Cobre	CuSO ₄	Auxilia na atividade enzimática

Fonte: Adaptado de Rodrigues (2006).

O aumento da população mundial e a constante intervenção do homem no meio ambiente estão alterando a qualidade das águas superficiais e subterrâneas com descargas poluidoras e tornando cada vez mais escassos os recursos hídricos.

Na busca do desenvolvimento sustentável e com o intuito de preservar as coleções hídricas e reutilizar efluentes tratados, aliando-se o crescimento industrial à preservação ambiental, novas tecnologias para o tratamento de águas residuárias vêm sendo pesquisadas.

O tratamento biológico de águas residuárias nas suas formas aeróbia, anaeróbia ou em conjunto mostra-se relevante para atenuar o potencial poluidor dos despejos industriais, haja vista que a legislação inerente à qualidade dos efluentes torna-se cada vez mais exigente para o despejo final visando alcançar um patamar desejado de segurança sanitária.

Os fungos exercem papel importante dentro do saneamento, pois atuam nos processos de transformação dos resíduos orgânicos, onde funcionam como recicladores de matéria nos diversos ecossistemas.

Como a atividade microbiana destaca-se como importante fator na eliminação de produtos químicos do ambiente, os fungos têm sido amplamente empregados, em processos biológicos, para remoção de compostos de difícil degradação, pois são capazes de reciclar compostos como lignina, celulose, quitina, melanina e queratina, além de serem altamente versáteis no metabolismo de xenobióticos (PRENAFETA-BOLDU, 2002).

Algumas espécies fúngicas já são bastante empregadas na remoção de compostos de difícil degradação devido aos seus sistemas enzimáticos especializados, tais como: ligninase, manganês peroxidase, citocromo P450 monoxigenase, entre outros.

Em seus trabalhos, Garcia *et al.* (2000) utilizaram as espécies *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* e *Geotrichum candidum* para remoção de compostos fenólicos; Volke-Spulveda *et al.* (2003) estudaram a biodegradação de hexadecano, através de processos de fermentação, com *Aspergillus Níger*. Bruce *et al.* (1995) investigaram a degradação de pentaclorofenol pelas espécies fúngicas: *Phanerochaete chrisosporium*, *Trametes versicolor* e *Inonotus dryophilus*. Bending *et al.* (2002) estudaram a degradação de pesticidas empregando fungos brancos da madeira.

Os fungos são considerados biodegradadores eficientes de polímeros de plantas como lignina e celulose, mas também degradam outros tipos de moléculas orgânicas como: ceras, borrachas (BENNET *et al.*, 2002), fenol, benzeno, tolueno, xileno e xenobióticos (PRENAFETA-BOLDU, 2002). Eles são organismos eucarióticos e heterotróficos, na sua maioria aeróbios, e produzem longos filamentos chamados de hifas cujo conjunto forma uma massa chamada micélio. Os fungos são ainda componentes significantes da microflora do solo, vivem também nos vegetais e na água, espalhando-se amplamente pela natureza, em consequência da produção de elementos de disseminação – os propágulos, sendo o ar atmosférico uma das vias de disseminação. Os fungos dispersos pelo ar são chamados de anemófilos e os mais frequentes nas regiões do Brasil pertencem aos gêneros *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Rhodotorula*, *Candida*, *Aureobasidium*, *Fusarium*, *Helmithosporium* e *Trichoderma* (BITTON, 1994 e TRABULSI, 1999).

No processo de respiração dos fungos, em condições aeróbias, a via de hexose monofosfato responde por 30% da glicólise e em condições anaeróbias, a via clássica utilizada pelas leveduras é o ciclo de Krebs, que resulta na formação de piruvato (TRABULSI, 1999).

Os fungos exigem para seu desenvolvimento, preferencialmente, carboidratos simples como a glicose, entretanto, outras fontes podem ser utilizadas como sacarose, maltose e até mesmo, fontes mais complexas como amido e celulose. Na absorção, por oxidação de moléculas que apresentam na sua estrutura anel aromático, os fungos a fazem tipicamente por co-metabolismo. E, dois sistemas enzimáticos têm sido identificados: citocromo P450 monoxigenase e lignolítico (PRENAFETA-BOLDU, 2002).

Com relação às condições ambientais, os fungos crescem abrangendo ampla faixa de temperatura (0 a 62°C) (PELCKZAR *et al.*, 1996), e são os únicos eucarióticos que incluem membros capazes de crescer com temperaturas de 60 a 62°C (BENNET *et al.*, 2002). Contudo, a faixa ótima para seu desenvolvimento é de 22 a 30°C (PELCKZAR *et al.*, 1996) e tolera larga variação na concentração de íons hidrogênio e, de modo geral, o pH de 5,6 é ótimo para seu desenvolvimento. Os fungos filamentosos podem crescer em faixa de pH variando de 1,5 a 11 (TRABULSI, 1999).

Os fungos possuem uma estratégia nutricional única, pois suas células secretam enzimas extracelulares, as quais quebram moléculas grandes, para que possam ser absorvidas. São considerados decompositores primários e secundários dos ciclos clássicos da natureza, sendo a decomposição da lignocelulose, provavelmente, o processo mais simples e mais importante do ciclo do carbono na terra (BENNET *et al.* 2002).

A espécie *Aspergillus niger* é conhecida principalmente por sua habilidade em produzir enzimas e ácidos orgânicos por fermentação (EPA1997; PASHOVA *et al.*,1999; PAPAGIANNI e MOO-YOUNG, 2002;CORAL *et al.*, 2002), especialmente, ácido cítrico (PAPAGIANNI *et al.*, 1999; PAPAGIANNI e MATTEY, 2004). Contudo, muitas pesquisas na área ambiental têm sido desenvolvidas com essa espécie com resultados promissores: SANTAELLA, 1997; SANTAELLA,1999; SÁ, 1997; RODRIGUES e SANTAELLA,2003; RODRIGUES *et al.*, 2004; GIFFONI, 2000; FACÓ *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2003; SAMPAIO *et al.*, 2004; VASSILEV *et al.*, 1997; GARCIA *et al.*, 2000).

Nas Tabelas 2 e 3 são apresentadas pesquisas utilizando diversas espécies de fungos na remoção de diferentes substratos, nas duas últimas décadas.

Tabela 2 - Pesquisas com uso de espécies fúngicas para remoção de diferentes substratos em meio “in natura”.

Pesquisador	Espécie do fungo	Meio	Remoção
Martirani <i>et al.</i> (1995)	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Efluente da produção de azeite de oliva	Fenóis
Vinciguerra <i>et al.</i> (1995)	<i>Lentinus edodes</i>	Efluente da produção de azeite de oliva	Fenóis
Sá (1997)	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i> e <i>Drechslera SP</i>	Indústria de laticínios	Matéria orgânica
Vassilev <i>et al.</i> (1997)	<i>Aspergillus Níger</i>	Produção de azeite de oliva	Fenol

D'Annibale <i>et al.</i> (1998)	<i>Lentinus edodes</i>	Efluente da produção de óleo de oliva	Cor
Fitz Gibbon <i>et al.</i> (1998)	<i>Geotrichum candidum</i> , <i>Coriolus versicolor</i> , e <i>Phanerochaete</i> <i>chrysosporium</i>	Melaço	Cor
Knapp e Newby (1999)	Fungos brancos da madeira	Efluente de indústria química	Corante diazó
Kim e Shoda (1999)	<i>Geotrichum candidum</i>	Melaço	Cor
Zhang <i>et al.</i> (1999)	Fungos brancos da madeira	Efluente do branqueamento do algodão	Cor
Garcia <i>et al.</i> (2000)	<i>Phanerochaete</i> <i>chrysosporium</i> , <i>Aspergillus</i> <i>niger</i> , <i>Aspergillus terreus</i> e <i>Geotrichum candidum</i>	Efluente da produção de óleo de oliva	Fenóis
Giffoni (2000)	<i>Aspergillus Niger</i>	Água residuária sintética de laticínios	Matéria orgânica
Agellis <i>et al.</i> (2002)	<i>Abortiporus biennis</i> , <i>Dichomitus squalens</i> , <i>Inonotus hispidus</i> , <i>Irpex</i> <i>lacteus</i> , <i>Lentinus tigrinus</i> , <i>Panellus stipticus</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i> , <i>Trametes hirsuta</i> ,	Efluente da produção de óleo de oliva	Fenóis
Robles <i>et al.</i> (2000)	<i>Penicilium</i> ssp.	Efluente da produção de azeite de oliva	Fenóis
Tsiouopas <i>et al.</i> (2002)	<i>Pleurotus spp.</i>	Efluente da produção de azeite de oliva	Fenóis
Dias <i>et al.</i> (2003)	fungos mesofílicos brancos (denominado Euc-1) e <i>Phanerochaete</i> <i>chrysosporium</i>	Efluentes contendo fenóis	Fenóis
Oliveira <i>et al.</i> (2004)	<i>Candida</i>	Efluente de refinaria de petróleo	Fenóis
Santos <i>et al.</i> (2006)	<i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Aspergillus niger</i>	Efluente da indústria de beneficiamento da castanha de caju	Matéria orgânica e nutriente
Santos (2008)	<i>Aspergillus niger</i> AN400	Efluente da indústria de beneficiamento da castanha de caju	Fenóis

Tabela 3 - Pesquisas com uso de espécies fúngicas para remoção de diferentes substratos em meio sintético.

Pesquisador	Espécie do fungo	Meio	Remoção
Masaphy <i>et al.</i> (1997)	<i>P. Pulmonaris</i>	Meio com atrazina	Atrazina
Kauffmann <i>et al.</i> (1999)	<i>Coprinus cinereus</i>	Água residuária sintética	Fenóis
Giffoni (2000)	<i>Aspergillus Níger</i>	Água residuária sintética de laticínios	Matéria orgânica
Bending <i>et al.</i> (2002)	<i>Coriolus versicolor</i> , <i>Stereum hirsutum</i> , <i>Phanerochaeta velutina</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i> , <i>Flammulina velupites</i> , <i>Hypholoma fasciculare</i> e <i>Agrocybe semiobicularis</i>	Meio contendo pesticida	Pesticida
Kapdan e Kargi (2002)	<i>Coriolus versicolor</i>	Meio contendo corante têxtil “Everzol Turquoise Blue G”	COT (Carbono orgânico total) e cor
Prenafeta-Boldú (2002)	<i>Ladophialophora</i> sp MYA – 2335 (T1), <i>Ladophialophora</i> sp MYA – 2336 (T2), <i>Pseudeurotium zonatum</i> MYA – 2337 (T3) e <i>exophiala</i> sp (T4)	Meio com hidrocarbonetos aromáticos voláteis	Tolueno
Rao e Viraraghavan (2002)	<i>Aspergillus Níger</i>	Solução aquosa contendo fenóis	Fenóis
Bollag <i>et al.</i> (2003)	<i>Trametes vilosa</i>	Solução aquosa contendo clorofenóis	Clorofenóis
Volke-Spulveda (2003)	<i>Aspergillus Níger</i>	Meio contendo hexadecano	Hexadecano
Denizli <i>et al.</i> (2004)	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Solução aquosa	Fenóis e clorofenóis
Rodrigues <i>et al.</i> (2004)	<i>Aspergillus Níger</i>	Água residuária sintética	Fenol
Dávila-Vasquez <i>et al.</i> (2005)	<i>Bjerkandera adusta</i> .	Meio com pesticidas	Pesticidas Halogenado
Rodrigues <i>et al.</i> (2006)	<i>Aspergillus niger</i> AN400	Água residuária sintética	Fenóis
Silva (2009)	<i>Aspergillus niger</i> AN400	Água residuária sintética	Vermelho do Congo
Pinheiro <i>et al.</i> (2010)	<i>Aspergillus niger</i> AN400	Água residuária sintética	Fenóis

3.3 Potencial de Degradação Fúngica no Tratamento de Águas Residuárias

A biotecnologia com emprego de micro-organismos de natureza bacteriana possui conceitos bem estabelecidos adquiridos ao longo de décadas de estudo. Diferentemente, a biotecnologia com uso de espécies fúngicas é algo novo que vem surgindo como alternativa de biotratamento. As pesquisas ao longo dos anos ainda não trazem experiências em escala real para tratamento biológico de águas residuárias. Em contrapartida muitos estudos em nível laboratorial têm revelado a importância destes micro-organismos (fungos) como uma alternativa viável para o tratamento de esgoto industrial, haja vista as espécies fúngicas serem dotadas de características idiossincráticas para tolerar baixo pH, variação de O_2 no meio e produção de enzimas extracelulares.

Pinheiro *et al.* (2010) estudaram um meio aquoso contendo 250 mg/L de fenol e macro e micronutrientes o qual foi submetido ao tratamento em reator de leito fixo e escoamento contínuo, inoculado com *Aspergillus niger*. O reator foi operado sob tempo de detenção hidráulica de oito horas, dividido em duas fases de alimentação: na presença (Fase I) e ausência (Fase II) de 0,5 g/L de glicose no meio. As remoções médias de matéria orgânica, medida em demanda química de oxigênio, e de fenol foram, respectivamente, de 92% e 99%, na Fase I, e de 77% de matéria orgânica e de fenol, na Fase II. A perda de eficiência registrada na Fase II foi atribuída à produção excessiva de biomassa e de mucilagem, bem como pela provável diminuição da atividade enzimática dos micro-organismos envolvidos no processo.

Em outro estudo, Rodrigues *et al.* (2010) operaram um reator de escoamento contínuo, inoculado com *Aspergillus niger* AN400, que possuía volume total de 5 L a 29°C, com oito horas de tempo de detenção hidráulica e 150 L.h⁻¹ de vazão de ar, para remover 25 mg/L de corante Vermelho do Congo de água residuária sintética. A alimentação do reator foi realizada em duas fases: Fase I, com 0,5 g/L de sacarose e Fase II, sem sacarose. Na Fase I, foi possível observar eficiências de remoção de matéria orgânica (mg de DQO.L⁻¹) e de cor (mg Pt.L⁻¹) de 80 ± 16% e 82 ± 10% (mg Pt.L⁻¹), respectivamente. Na Fase II, a eficiência de remoção de matéria orgânica foi de 75 ± 13% e de cor (mg Pt.L⁻¹) de 89 ± 7%. As maiores remoções de nutrientes foram alcançadas pelo reator na Fase I, com 25% de amônia, 93% de nitrato e 21% de fósforo. Aparentemente, a presença de sacarose melhorou a remoção dos nutrientes.

A biodegradabilidade do corante Vermelho do Congo em meio aquoso sintético pela espécie fúngica *Aspergillus niger* AN400 em reatores em batelada foi estudada por Silva (2009) que em seu experimento, numa primeira fase, foram utilizados 60 reatores com biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 e avaliado o melhor tempo de reação para a remoção do corante e de matéria orgânica sob a influência da adição de cossustratos, glicose

e etanol. O experimento foi operado em duplicata e abrangeu período de 10 dias, com tempos reacionais estudados de 1 dia, 2 dias, 3 dias, 5 dias, 7 dias e 10 dias. O modelo cinético de primeira ordem representou bem a velocidade de decaimento do corante. Nos reatores onde os fungos dispunham de glicose a constante cinética foi maior ($0,139 \text{ d}^{-1}$), enquanto que nos reatores onde os fungos tinham etanol como cossubstrato, a constante foi de $0,071 \text{ d}^{-1}$, valor inferior ao encontrado nos reatores com fungos que não receberam cossubstrato ($0,078 \text{ d}^{-1}$). Em uma segunda fase, o reator foi montado e operado com biomassa imobilizada do *Aspergillus niger* AN400, sendo a glicose acrescida no meio sintético como cossubstrato, em diferentes concentrações, sendo identificadas como etapa I (1g/L), etapa II (0,5 g/L) e etapa III (sem glicose), a fim de verificar a influência da glicose, como cossubstrato no meio, na remoção de corante, de DQO bruta e dissolvida e nutrientes. Cada etapa era composta por três ciclos de 1 semana cada, para monitorar o comportamento do fungo na eficiência do tratamento da água residuária sintética. A espécie *Aspergillus niger* AN400 em estudo foi determinante para a eficiência do processo e quando imobilizada nas espumas de poliuretano houve aumento no percentual de eficiência, uma vez que a formação de biofilme aderido à superfície do suporte aconteceu com predomínio deste sobre culturas livres em suspensão, havendo a criação de micro-ambientes especiais pela interação entre as espécies, favorecendo o conjunto como um todo e garantindo grande estabilidade das colônias.

Em seus experimentos, Khelifi *et al.* (2008) pesquisaram a habilidade do fungo *Aspergillus alliaceus* 121C em descolorir índigo e Vermelho do Congo em meio sólido, verificando a influência de fontes de carbono e nitrogênio. O estudo mostrou que a atividade de descoloração pelo fungo foi afetada fortemente pela natureza e quantidade dos nutrientes empregados, especialmente nitrogênio, carbono e micro-elementos. A atividade de descoloração foi estimulada por baixas concentrações de nitrogênio como tartarato de amônio usado na descoloração do Vermelho do Congo, e tartarato de amônio, peptona e extrato de levedura na descoloração do índigo. Em contrapartida a atividade de descoloração foi estimulada por altas concentrações de carbono, que estimulou o sistema enzimático do fungo. Portanto, a espécie em estudo apresentou um potencial de descoloração de 98,6% e 98% para o índigo e o Vermelho do Congo, respectivamente, sendo indicada como despoluidora para tratamento de águas residuárias.

A espécie *Aspergillus ochraceus* foi estudada na biodegradação do corante Reativo Azul 25 NCIM-1146 e a pesquisa mostrou que o fungo foi capaz de descolorir por adsorção e degradar o corante numa concentração de 0,5 g/L em água destilada. Além disso, a presença de glicose reduziu drasticamente o tempo de descoloração. Após o processo de descoloração

testou-se a presença das enzimas oxidativas, lacase e tirosinase, no sobrenadante, indicando desta forma, o envolvimento no processo de degradação do corante por meios da presença dos principais metabólitos - ftalimida e di-iso-butilftalato (PARSHETTI *et al.*, 2007).

Em seu trabalho, Santos (2008) estudou o tratamento de águas residuárias contendo fenóis, os quais representam um sério problema ambiental, pois não podem ser descartados em cursos d'água sem tratamento, por causa da elevada toxicidade. Nesta pesquisa, a espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 foi empregada para a degradação de fenóis presentes em águas residuárias de indústria de beneficiamento de castanha de caju, por meio de tratamento em reatores biológicos de bancada de leito fixo e fluxo contínuo.

A pesquisa constituiu-se de quatro etapas. Na primeira etapa foram produzidos os esporos de *Aspergillus niger* AN 400 utilizados na pesquisa. Na segunda etapa foram encontrados níveis de toxicidade de fenóis para o fungo empregado, através de um teste realizado em placas de Petri. Na terceira etapa, em um ensaio em mesa agitadora foram obtidas informações sobre a taxa de degradação de fenóis. A quarta etapa consistiu na fase de fluxo contínuo na qual foram empregados dois reatores de bancada de leito fixo e fluxo ascendente contendo espuma de poliuretano como meio suporte. Os reatores foram inoculados com *Aspergillus niger* AN 400, aplicando-se tempos de detenção hidráulica (TDH) de 12 e 8 horas. O teste de toxicidade demonstrou que a água residuária não inibiu o crescimento da espécie fúngica mesmo em diluição.

No ensaio em mesa agitadora as melhores remoções foram alcançadas para os reatores com fungo e glicose (RFG) para a diluição de 1:0, obtendo-se 54% de remoção de DQO e 77% de remoção de fenóis totais para o primeiro dia de experimento. Nos reatores de leito fixo as remoções médias de fenóis totais foram de $56 \pm 28\%$ e $71 \pm 20\%$ para os R1 e R2, respectivamente, no TDH de 12 horas. No TDH de 8 horas as remoções de fenóis totais foram: $52 \pm 23\%$ (R1) e $64 \pm 19\%$ (R2), tendo sido comprovado estatisticamente que a diminuição do TDH não diminuiu a eficiência dos reatores na remoção de fenóis totais, tendo sido demonstrado também que o comportamento dos reatores, que foram montados em duplicata, em relação à remoção dos parâmetros analisados (DQO e fenóis totais), foi homogêneo durante o tempo de duração da pesquisa. No teste de toxicidade aguda com *Artemia* sp verificou-se que o reator R2 apresentou redução de toxicidade quando operado com TDH de 12 e 8 h.

Em sua pesquisa, Ryan *et al.*, (2006) estudaram a otimização de aspectos pertinentes ao uso de *Trametes versicolor* em processos de biodegradação, tais como, remoção de

contaminantes fenólicos, idade da cultura e manutenção da atividade microbiana. Na metodologia foram utilizadas culturas da espécie, e mantidas em placas contendo extrato de malte a 2%, sendo subcultivadas a cada 60 dias. Para a adaptação das espécies em meio líquido, culturas de *Trametes versicolor* foram adicionadas, assepticamente, em 400 mL de um meio líquido composto basicamente de glutamina, glicose e peptona, sendo que as concentrações das duas últimas variaram de 20 a 2 g/L, a fim de se verificar o efeito da concentração destes, no crescimento da espécie. Os frascos de 2 L, foram incubados a 28 °C e mantidos sob agitação de 200 rpm. Após quatro dias de incubação, o conteúdo dos frascos foi homogeneizado e usado como inóculo nos experimentos de degradação. Para os estudos de degradação de compostos fenólicos foi utilizado um efluente de indústria de bebida contendo elevadas concentrações de compostos fenólicos: fenol (82,8 mM), p-cresol (24,99 mM), m-cresol (25,8 mM) e o-cresol (77,03 mM). As concentrações estudadas do efluente foram: 2,5%; 5%; 10% e 20% e as amostras para os testes de degradação eram retiradas a cada quatro dias. Com base no crescimento fúngico, na produção de enzima lacase e no custo-benefício da pesquisa, concluiu-se que o meio contendo 10 g de peptona e 10 g de glicose apresentou os melhores resultados. A habilidade da espécie fúngica *Trametes versicolor* crescer em concentrações superiores a 15 mM foi uma forte evidência do seu grande potencial de biodegradação. A remoção de fenóis no efluente a 20% foi realizada totalmente após 12 h de tempo de reação. O fenol mostrou-se mais recalcitrante que os cresóis.

Em sua pesquisa, Santos *et al.*, (2006) estudaram a influência do tempo de detenção hidráulica (TDH) em um sistema constituído de um reator anaeróbio tipo UASB seguido de um reator biológico com fungos (RBF) para tratar efluente de uma indústria de beneficiamento de castanha de caju. O trabalho foi dividido em uma fase de fluxo descontínuo (batelada) e uma fase de fluxo contínuo (UASB – RBF), que se constituiu de sete etapas (8h e 2h, 8h e 1h, 4h e 8h, 4h e 6h, 4h e 4h, 4h e 2h e 4h e 1h), onde se avaliou a influência do TDH na remoção de: DQO (Demanda Química de Oxigênio), amônia, nitrato e ortofosfato. A combinação que apresentou os melhores resultados foi a etapa de 4h (TDH do reator UASB) e 2h (TDH do RBF), apresentando remoções de 93,8% de DQO, 86,7% de nitrato, 38,3% de amônia e 16% de ortofosfato.

Em seus experimentos, Sampaio (2005) estudou a remoção de metil paration - inseticida e atrazina - herbicida presentes em água, em reatores de bancada, com fungos. A pesquisa foi dividida em quatro etapas: operação em batelada com metil paration e micélio fúngico, com e sem glicose; teste de toxicidade em placas com *Aspergillus niger* AN400; operação em batelada com os pesticidas atrazina e metil paration e esporos de *Aspergillus niger* AN400,

com e sem glicose; e operação em reatores de leito fixo e fluxo ascendente. Na primeira etapa, a remoção de metil paration foi de 97% nos reatores sem glicose e 94% nos reatores com glicose com 32 dias de reação. Na operação em batelada, com esporos, um modelo cinético de primeira ordem representou bem a velocidade de decaimento de metil paration nesta fase, principalmente, nos reatores que continham glicose. Para os experimentos sem adição de glicose, a constante cinética foi de $0,063 \pm 0,005 \text{ h}^{-1}$, enquanto que para os experimentos com glicose a constante foi de $0,162 \pm 0,014 \text{ h}^{-1}$. Dessa forma, a adição de glicose resultou efetivamente em aumento na velocidade de conversão do inseticida. Na fase experimental, com atrazina e esporos de *Aspergillus niger* AN400, a presença do substrato primário (glicose) não teve influência na remoção de atrazina, sendo que os percentuais de remoção foram muito próximos aos percentuais encontrados nos reatores sem glicose.

O estudo cinético, nessa fase com atrazina e esporos, revelou que para os experimentos sem a adição de glicose, o valor da velocidade de conversão de atrazina (R_{ATZ}) foi de $0,023 \text{ d}^{-1}$, enquanto que para os experimentos com glicose (R_{ATZ}) foi $0,022 \text{ d}^{-1}$. Portanto, a adição de glicose parece não ter influenciado significativamente a velocidade de remoção do herbicida por *Aspergillus niger* AN400. O teste de toxicidade demonstrou que metil paration e atrazina não inibiram o crescimento do fungo nas várias concentrações testadas, inclusive nas mais elevadas, que foram 60 mg/L e 25 mg/L para metil paration e atrazina, respectivamente. No reator de leito fixo a remoção de metil paration foi de 40% com 12 h de tempo de detenção hidráulica, e 0,5 g glicose/L. Porém, quando a concentração de glicose foi duplicada, a remoção de metil paration diminuiu para 35%. Neste reator o pH se manteve na faixa ácida 3,4 a 5,2, considerada ideal para os fungos. Os resultados encontrados mostram a viabilidade dos fungos para remoção desses pesticidas, considerados persistentes no ambiente.

Em seus trabalhos, Dávila-Vasquez *et al.* (2005) estudaram a transformação de pesticidas halogenados empregando a enzima peroxidase produzida a partir do fungo *Bjerkandera adusta*. O ensaio enzimático para transformação dos pesticidas halogenados: bromoxinil, dicamba, diclorofenol, ditoterb, diuron, propanil, niclosamida, pentaclorofenol e diclorofention foram realizados em tubos de vidro de 4 mL. A mistura reacional (1 mL) continha 30 – 50 μM do pesticida em um meio contendo acetonitrila (10% v/v) em tampão malonato e 2 μM enzima peroxidase. Para atividade da enzima manganês peroxidase o pH foi ajustado em 4 e para a enzima lignina peroxidase o pH ficou em 3 na ausência de Mn (II). As reações ocorreram à temperatura ambiente e foram iniciadas pela adição de peróxido de hidrogênio com curso de duração de 5 a 10 minutos. A enzima peroxidase transformou apenas

os pesticidas bromoxinil, diclorofenol e pentaclorofenol. Pentaclorofenol mostrou uma atividade específica de $10,9 \pm 0,9 \text{ min}^{-1}$ na ausência de Mn (II) e $0,23 \pm 0,9 \text{ min}^{-1}$ na presença de Mn (II), enquanto bromoxinil mostrou atividade específica de $68,1 \pm 0,7 \text{ min}^{-1}$ na ausência de Mn (II) e $3,9 \pm 0,18 \text{ min}^{-1}$ na presença de Mn(II). Por outro lado a transformação do diclorofenol não sofreu influência do Mn (II), sendo na presença de Mn (II) de $173,1 \pm 4,5 \text{ min}^{-1}$ e na ausência de Mn (II) de $184,7 \pm 6,7 \text{ min}^{-1}$. As constantes cinéticas foram determinadas em pH 4 e na ausência de Mn (II), sendo bromoxinil considerado o melhor substrato para peroxidase com constante catalítica – kcat de 409 min^{-1} e constante de Michaelis e Menten Km de 31 μM para o pesticida. Os autores concluíram que a enzima peroxidase a partir do fungo *Bjerkandera adusta* é capaz de transformar in vitro pentaclorofenol, dicloro fenol e bromoxinil. A natureza química dos produtos obtidos mostrou que ocorreu desalogenação oxidativa produzindo quinonas e produtos poliméricos. A suscetibilidade dos outros pesticidas halogenados testados pareceu ser limitada pela presença de grupos fenoxil e por propriedades eletrônicas dos substituintes do anel aromático.

Em seus experimentos, Oliveira *et al.* (2004) objetivavam encontrar fungos capazes de degradar fenóis presentes em efluentes de refinarias de petróleo com espécies presentes neste mesmo meio. Para a seleção das espécies, foi realizada uma caracterização microbiológica do efluente da refinaria Lubrificantes e Derivados de Petróleo do Nordeste (LUBNOR)/Petrobrás-CE. Os fungos presentes foram então identificados e produzidos em larga escala a fim de serem utilizados em reatores. Na pesquisa, foi utilizado um efluente sintético com as características semelhantes às do efluente final da indústria. Tal efluente possuía a seguinte composição: KH_2PO_4 (400 mg/L); K_2HPO_4 (400 mg/L); MgSO_4 (400 g/L); NaCl (300 mg/L); CaCl_2 (50 mg/L); Sacarose (1000 mg/L) e fenol (50 mg/L). Dezoito frascos de vidro com capacidade para 3 L foram usados como reatores. Experimentalmente, foram montados lotes de dois reatores, um que recebia 1,5 L de efluente sintético e 25 mL de meio de cultura, e outro que recebia apenas o efluente sintético e servia como controle. Os reatores foram operados em nove tempos de desmonte (1, 2, 3, 6, 11, 15, 20, 26 e 34 dias), após os quais um par de reatores era desmontado para a determinação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos. O resultado da caracterização microbiológica do efluente industrial mostrou que a espécie presente no tanque de equalização da empresa pertencia ao gênero *Candida*. No entanto, segundo os pesquisadores, outras espécies poderiam ter sido isoladas, caso ocorressem algumas modificações nas condições de cultivo. Em somente dois dias, a taxa de degradação de fenóis atingiu valores acima de 0,17 mg de fenol/UFC (unidade formadora de

colônia). Pelos resultados obtidos, concluiu-se que havia, no efluente estudado, fungos capazes de remover fenóis presentes em águas residuárias.

Em escala laboratorial, Sampaio *et al.* (2004) estudaram um sistema contínuo constituído por um reator de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), seguido por um reator biológico com fungos (RBF), para tratamento de água residuária de uma indústria de beneficiamento de castanha de caju. O sistema contínuo foi alimentado por um período de 60 dias, e teve como objetivo verificar seu desempenho na remoção de compostos causadores de DQO, nitrato, amônia e ortofosfato. O reator UASB apresentou eficiência média de remoção de DQO de 72%; 68% e 68% para os tempos de detenção hidráulica (TDH) de 12h; 10h e 8h, respectivamente. Com relação aos SST, a remoção média foi de aproximadamente 78% para os TDH de 12 e 10 h e de 74% para 8 h de tempo de detenção hidráulica. O RBF mostrou-se viável ao pós-tratamento do efluente do reator UASB, removendo compostos causadores de DQO com eficiências de 84%; 74% e 61% para os TDH de 4 h; 2 h e 1 h, respectivamente. O sistema UASB-RBF teve como melhor remoção de DQO, um percentual de 95 % para 14 h de tempo de detenção hidráulica, sendo 10 h no reator UASB e 4 h no RBF. A remoção de nitrato foi eficiente, porém houve pouca eficiência na remoção de amônia e ortofosfato, devido às oscilações entre síntese e remoção ocorridas nos reatores.

Em seus experimentos, Bollag *et al.* (2003) investigaram a transformação enzimática de clorofenóis pela espécie fúngica *Trametes vilosa*. Os clorofenóis utilizados no estudo foram: 4-clorofenol, 2,4-diclorofenol e 2, 4, 6- triclorofenol, em soluções aquosas de concentração 0,5 mM. As soluções, em triplicada, foram incubadas a 25°C por 24 h com a enzima lacase das espécies fúngicas (2 ou 4 unidades de enzima ativa) em 10,0 mL de solução tampão 0,2 mM de fosfato a pH igual a 7. Experimentos com diferentes concentrações do substrato (0,1 a 1 mM), em misturas binárias e terciárias, foram também realizados. Os resultados demonstraram que enzimas, como a lacase, são capazes de oxidar clorofenóis isolados ou em mistura, embora tenha ocorrido uma ligeira redução na atividade catalítica se mais de um clorofenol estivesse presente.

Em suas pesquisas, Dias *et al.* (2003) avaliaram o desempenho de um sistema enzimático não lignolítico, claramente dominado por atividade de lacase, secretado por fungos mesofílicos brancos (denominado Euc-1) durante a biodegradação de efluentes. Os autores compararam a taxa de descoloração e de degradação de compostos fenólicos do efluente por estes fungos, com o da espécie *Phanerochaete chrysosporium*, uma espécie tipicamente lignolítica pouco produtora de lacase. Foram preparadas culturas sólidas constituídas de dois diferentes tipos de meio: um contendo ágar (15% p/v) e outro rico em nutrientes com 3,9%

p/v de ágar dextrose batata. Os experimentos foram feitos em triplicada, tendo sido usados em cada um 15 mL do efluente em diluições de 20%, de 40%, de 60% e de 80%. A incubação foi realizada a 35°C para *Phanerochaete chrysosporium* e a 28°C para Euc-1. O crescimento e a descoloração foram periodicamente analisados por inspeção visual. Na diluição de 20% ocorreu a melhor descoloração, e, portanto esta foi escolhida para os ensaios subseqüentes. A massa fúngica cultivada foi inoculada a 28°C, por 24 dias, em frascos erlenmeyeres de 250 mL, contendo 100 mL de um meio com a seguinte constituição: efluente (20% de diluição), 10 g/L, de glicose; 2,2 g/L de tartarato de amônia; 1,0 g/L de KH_2PO_4 ; 0,26 g/L de NaH_2PO_4 ; 0,5 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 2,9 g/L de ácido 2,2-dimetilsuccínico; 1,0 mg/L de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 74,0 mg/L de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 6,0 mg/L de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 5,0 mg/L de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 5,0 mg/L de $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 1,0 mg/L de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e 0,5 mL de solução de vitaminas. O meio foi ajustado em pH 4,5 com NaOH 2 M. O sistema enzimático excretado por Euc-1 apresentou melhor descoloração do efluente que a espécie *Phanerochaete chrysosporium*, cuja principal enzima é a lignina peroxidase, e removeu 90% de fenóis, 73% de cor e 45% de DQO. Além disso, segundo os autores as enzimas peroxidases requerem peróxido de hidrogênio como substrato, que é relativamente caro, sendo esta uma desvantagem em relação às lacases.

Em seus experimentos, Rao e Viraraghavan (2002) investigaram o uso de células de *Aspergillus niger* para remoção de fenóis de soluções aquosas em concentrações de 1000 µg/L. A espécie foi inoculada em um meio contendo dextrose (20 g/L); peptona (10 g/L) e extrato de levedura (3 g/L) em água deionizada. O meio foi mantido em temperatura de $21 \pm 1^\circ\text{C}$, e após dois dias, foi observado o crescimento dos fungos. Após um período de crescimento de quatro dias, a biomassa foi filtrada em peneiras de 150 µm e lavada com água deionizada. Para os experimentos, foram preparados cinco frascos erlenmeyeres diferentes, nos quais se procurou fazer um estudo da influência do pH na remoção dos fenóis. Os valores de pH foram ajustados inicialmente a 2, 4, 6, 8 e 10, em cada frasco, separadamente. A dosagem da biomassa nos frascos foi de 0,2 g/L e o pH era ajustado com ácido sulfúrico 0.5 M ou hidróxido de sódio 1 M. Os frascos foram mantidos em mesa agitadora a 125 rpm, e eram retirados em intervalos de tempo determinados (30 horas). A remoção máxima de fenol foi observada em pH 5,1 com a biomassa tratada com ácido sulfúrico (aproximadamente 66% de fenol removido em uma solução de concentração inicial de 1000 µg/L).

Em suas pesquisas, Kapdan e Kargı (2002) empregaram a espécie fúngica *Coriolus versicolor*, para descoloração do corante têxtil Everzol Turquoise Blue G, ftalocianina, em reator biológico de contato com rotação (biodiscos). Foram considerados parâmetros de

operação o tipo de disco empregado como meio suporte, a velocidade rotacional (10 a 40 rpm), a concentração de glicose (5 a 10 g/L) e a concentração de corante (50 a 500 mg/L). O reator foi operado em batelada com tempo de reação de 48 h, temperatura de 28°C e pH entre 4,5 e 5. O sistema foi monitorado através das determinações de carbono orgânico total (COT), concentração de glicose e concentração de corante. A concentração de glicose teve forte efeito na descoloração do corante pelo fungo *Coriolus versicolor*. O fungo quando foi cultivado na concentração de 10 g/L, de glicose, resultou em melhor crescimento e em maior eficiência de descoloração, quando comparada com a eficiência obtida com 5 g/L. O estudo revelou que a diminuição na concentração de glicose para 2 g/L causou crescimento insuficiente e perda da atividade fúngica, levando ao decréscimo na eficiência de remoção de cor. Com relação ao efeito da velocidade rotacional, encontrou-se melhor remoção entre 30 e 40 rpm (75%), enquanto que entre 10 e 20 rpm a remoção de cor foi de apenas 35%. A velocidade rotacional também teve influência sobre a remoção de COT, cujas remoções foram de 65% e 80% para 20 e 40 rpm, respectivamente. Concentrações de corante entre 50 e 200 mg/L, proporcionaram percentual de descoloração da água de aproximadamente 80% que diminuiu para 33% com concentração de 500 mg/L de corante.

Em suas pesquisas, Robles *et al.*, (2000) objetivaram avaliar a capacidade de sete tipos de fungos da espécie *Penicilium ssp* isolados de lagoas de disposição de efluentes de indústria de produção de azeite de oliva na redução de carga orgânica e do conteúdo fenólico destes efluentes, tendo sido avaliada também a capacidade de crescimento das espécies. A obtenção dos esporos foi realizada pelo cultivo das espécies, a 28°C, em um meio contendo: 5 g/L, de peptona; 3 g/L, de extrato de malte; 3 g/L, de extrato de amido; 10 g/L, de glicose e 17 g/L, de agar. Em seguida, 50 mL do efluente foram inoculados com 1 mL de esporos em solução salina estéril, de forma a obter uma concentração final de $1,0 \times 10^6$ esporos/mL. Os ensaios foram realizados em mesa agitadora a 120 rpm. Os pesquisadores observaram que todas as espécies cresceram efetivamente no meio em questão, formando uma película que cobria a superfície do líquido. Contudo, o melhor resultado foi obtido com a espécie P4 que forneceu 21,5 g (peso seco) de biomassa por litro de água residuária não diluída após 20 dias de incubação. Esta espécie também apresentou melhor redução da carga orgânica (60,75%) e do conteúdo fenólico do meio (54,5%). Ocorreu elevação do pH, em relação ao inicial com todas as espécies estudadas, ficando a variação entre 6,22 e 7,62.

Em seus experimentos, Garcia *et al.* (2000) estudaram a remoção de compostos fenólicos presentes em efluentes de indústria de óleo de oliva, empregando os fungos *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* e *Geotrichum candidum*.

Inicialmente, estes fungos foram colocados para crescer em meio sintético por 48 h, com 40 g glicose/L, 5 g de peptona de caseína/L, 5 g de peptona de malte/L e pH ajustado em 7,3. Em seguida as espécies fúngicas foram adaptadas ao efluente por 48 h, a 26°C sob agitação de 200 rpm. O processo de fermentação entre o efluente e cada fungo, foi realizado em reator de 5 L, sob agitação de 500 rpm, pH ajustado entre 4,5 e 6,5 a 26°C em condições estéreis. As variáveis investigadas foram DQO, SSV, concentração de fenóis e de orto-difenol. A espécie *Phanerochaete chrysosporium* removeu 75% de DQO, 90% de fenóis totais e 100% de orto-difenol, *Aspergillus niger* removeu 73% de DQO, 76% de fenóis totais e 82% de orto-difenol, *Aspergillus terreus* removeu 63% de DQO, 64% de fenóis totais e 76% de orto-difenol, *Geotrichum candidum* não promoveu remoção de fenóis totais nem de orto-difenol, mas a remoção de DQO foi de 46%. Com relação a SSV o percentual de remoção foi de 60%, de 53%, de 66% e de 55% para *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* e *Geotrichum candidum*, respectivamente. As fermentações seguiram o modelo de Monod e as constantes cinéticas determinadas foram de 0,06; 0,09 e 0,09 h⁻¹ para *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus terreus*, respectivamente e K_s (DQO) de 4000 mg/L; 18000 mg/L e 1200 mg/L para *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus terreus*, respectivamente. A taxa de crescimento celular (Y_{x/s} DQO) foi de 0,31 mg/mg; 0,26 mg/mg e 0,49 mg/mg, respectivamente. A relação de fenóis removido por mg de microrganismo gerado (EF/X) foi de 0,055 para *Phanerochaete chrysosporium*; 0,061 para *Aspergillus niger* e 0,031 para *Aspergillus terreus*. Os autores concluíram que a melhor resposta encontrada em relação á remoção de fenóis e ao crescimento celular seguiram a seguinte ordem: *Phanerochaete chrysosporium* > *Aspergillus niger* > *Aspergillus terreus*.

Em suas pesquisas, Zhang *et al.* (1999) estudaram a descoloração do efluente do processo de branqueamento do algodão empregando fungos brancos da madeira, sendo observado uma atividade de degradação ideal na temperatura de 27°C, concentração de glicose de 5 g/L, pH 5. Os resultados mostraram remoção de 70% de cor, porém, apenas uma pequena parte da DQO foi removida. O estudo também mostrou que foi necessária glicose como fonte de carbono para manter a atividade da enzima manganês-peroxidase no processo de descoloração, entretanto a adição de NH₄⁺ inibe este processo.

Em suas pesquisas, Kauffmann *et al.* (1999) estudaram a remoção de fenóis de água residuária sintética com uso de peroxidase da espécie fúngica *Coprinus cinereus* e H₂O₂. Fenóis, H₂O₂ e enzima fúngica foram misturados em 10 mM de solução tampão fosfato para

produzir uma solução de fenol de 0,1 mg/mL, 1 mM de H_2O_2 e 1 U ml^{-1} da enzima. A mistura foi incubada em frascos erlenmeyeres por 3h a 25°C sem a presença de luz. O precipitado formado foi removido por centrifugação, sendo o sobrenadante analisado com relação a fenóis. Os pesquisadores verificaram que em pH neutro e aumentando a concentração de H_2O_2 de 1 para 1,5 mM a remoção de fenóis atingiu 99%.

Os fungos dos gêneros *Fusarium*, *Penicilium*, *Epicocum*, *Geotrichum* e *Trichoderma* foram testados por Santaella (1993), em reatores de leito fixo e fluxo ascendente, com o objetivo de tratar águas naturais com cor elevada devido à presença de substâncias húmicas. Dentre os meios suportes estudados como o carvão ativado e a manta de poliamida, a manta foi escolhida como melhor opção para o reator de fluxo contínuo. A autora concluiu que, com tempo de detenção hidráulica de 20 dias e fonte primária de carbono de 0,5 g/L, 80% das substâncias húmicas foram removidas por ação fúngica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em duas etapas: na primeira utilizou-se um reator em bateladas sequenciais com biomassa de *Aspergillus niger* AN400 imobilizada em espuma de poliuretano em ciclos de tratamento de 7 dias e na segunda o mesmo reator com as mesmas características, contudo para ciclos adicionais de 48 h.

4.1 Inóculo

Para os estudos de biodegradação foi utilizada a espécie *Aspergillus niger* AN400, na forma de suspensão de esporos, a qual foi preparada a partir do crescimento dos microrganismos em placas de Petri, contendo meio de cultura *Saboraud Dextrose*, por incubação a uma temperatura de $\pm 30^{\circ}\text{C}$, durante cinco dias, em estufa bacteriológica. Após o período de crescimento, os esporos foram removidos das placas com auxílio de alça de Drigalsky e de solução de tween, tendo-se efetuado a contagem dos esporos em microscópio óptico, aumento de 400 vezes, com ajuda de uma câmara de Neubauer.

4.2 Água Residuária Sintética

A água residuária sintética foi preparada com água de torneira e possuía características físico-químicas particulares, conforme descritas na Tabela 4.

Tabela 4 – Principais características físico-químicas da água residuária sintética empregada nas três fases operacionais.

Variável	Fase					
	I	DP	II	DP	III	DP
pH	5,2	$\pm 0,3$	3,7	$\pm 0,5$	4,3	$\pm 0,5$
Corante (mg/L)	10	$\pm 1,5$	10	$\pm 0,5$	10	$\pm 1,0$
DQO dissolvida (mg/L)	1034	± 130	423	± 239	51	± 10
Amônia total (mg/L)	30	$\pm 1,8$	30	$\pm 1,0$	30	$\pm 1,3$
Nitrato (mg/L)	5	± 1	5	$\pm 2,5$	5	$\pm 3,4$

Complementarmente, foram adicionadas fontes de zinco (40 mg/L), magnésio (250 mg/L), ortofosfato (200 mg/L), cálcio (10 mg/L), cobre (80 mg/L), manganês (50 mg/L) e ferro (100 mg/L).

4.3 Imobilização da Biomassa

A espécie *Aspergillus niger* AN400 foi imobilizada em espuma de poliuretano cortada em cubos de 1 cm de aresta, previamente esterilizados a $\pm 121^\circ\text{C}$, fazendo uso de frascos erlenmeyeres de 250 mL, contendo 5 g/L de glicose e meio basal contendo todos os nutrientes, a exceção do corante. Em geral, os cubos apresentaram massa média de 2,0 g.

O inóculo foi adicionado nos erlenmeyeres na forma de suspensão de esporos, na concentração de 2×10^6 esporos.mL⁻¹. Os erlenmeyeres foram mantidos em uma mesa agitadora horizontal, sob agitação de 150 rpm e $\pm 28^\circ\text{C}$ durante 72 h, de modo que ao completar 24 h, o meio anterior foi substituído por um novo. Após a etapa de imobilização, as espumas foram transferidas para o reator em batelada para a partida do mesmo.

4.4 Montagem e Operação do Reator Batelada Sequencial

O reator utilizado foi confeccionado em vidro e apresentou volume total de 5 L e volume útil de 4 L. A operação em regime de bateladas sequenciais compreendeu na primeira etapa a execução de três fases reacionais: fase I (ciclos 1, 2 e 3), fase II (ciclos 1, 2 e 3) e fase III (ciclos 1, 2 e 3) caracterizadas em função das diferentes concentrações de glicose adicionadas como cossubstrato, respectivamente de 1 g/L; 0,5 g/L e ausência de carboidrato, conforme apresentado na Tabela 5. Um reator controle (sem os fungos) foi montado nas mesmas condições operacionais a fim de se estimar a capacidade de adsorção do corante pelos cubos de espuma, considerada as condições de assepsia do meio. Na segunda etapa repetiu-se a mesma operação da primeira, entretanto, somente para níveis de glicose de 0,5 e 1,0 g/L e tempo reacional de 48 h.

Tabela 5. Distribuição dos ciclos de operação do reator em regime de bateladas sequenciais em função da concentração da glicose.

Etapa	Fase	Ciclo	Glicose (g/L)	Tempos de reação
I	I	1, 2, 3	1,0	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dias
	II	1, 2, 3	0,5	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dias
	III	1, 2, 3	Ausente	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dias
II	I	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8	1,0	48 h
	II	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8	0,5	48 h

O ar (0,6 L/min) foi fornecido por meio de mini-compressor e a alimentação do reator foi feita com meio sintético, exceto em relação à glicose, uma vez que o reator foi operado com adição e também na ausência desta. O volume amostral máximo retirado para a realização das análises foi de apenas 10% do volume útil do reator por ciclo estudado. O reator foi coberto com sacos pretos de polietileno a fim de evitar a fotodegradação pela ação da luz ambiente.

Experimentalmente, as análises de: matéria orgânica dissolvida, em termos de DQO, nitrato, amônia e pH foram realizadas segundo os procedimentos descritos em APHA (2005). A concentração de corante foi determinada via análise espectrofotométrica (DOS SANTOS, 2001, e SILVA FILHO, 2006). Assim, foi construída uma curva de calibração com o uso de soluções de concentrações conhecidas de Vermelho do Congo (entre 0 e 50 mg/L) no comprimento de onda de máxima absorção do corante (510 nm). Durante o acompanhamento reacional, antes da leitura, as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 15 minutos a fim de minimizar os erros analíticos da observação.

4.5 Análises Microscópicas

Nesta fase do estudo foram retiradas amostras do biofilme para realização de exames microscópicos no final da operação do reator. O biofilme aderido à manta suporte foi removido com ajuda de pérolas de vidro e água destilada esterilizada (121°C e 1 atm), procedendo-se posteriormente diluições de (1:10, 1:100 e 1:1000) para melhor visualizar as estruturas dos micro-organismos quando do uso do microscópio óptico.

Para a análise microscópica foi retirado 1 mL de cada diluição para adição em placas de Petri, contendo meio de cultura *Saboraud Dextrose*, as quais foram mantidas em estufa a $\pm 30^{\circ}\text{C}$, durante uma semana para verificação das colônias. Amostras das placas que receberam as diluições foram fixadas em lâminas com ágar, realizando-se, em seguida, a contagem em microscópio óptico.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Estudos de Biodegradação do Corante Vermelho do Congo com Biomassa Imobilizada de *Aspergillus Níger* AN400 para Ciclos Operacionais de 7 dias (ETAPA 1)

Nesta etapa do estudo experimental adotou-se uma concentração inicial média de corante no meio foi de 10 mg/L e os valores iniciais de pH foram característicos de meio ácido, de 5,6, 3,7 e 4,3, respectivamente, nas fases I, II e III, o que foi benéfico aos fungos, pois os mesmos são micro-organismos que possuem grande capacidade metabólica em meios ácidos (GRIFFIN, 1994). Além disso, o pH baixo é fator minimizador da atividade de eventuais bactérias contaminantes (RODRIGUES, 2006).

Parshetti *et al.* (2007) estudaram a descoloração e degradação do corante “Reactive Blue 25” na concentração de 25 mg/L por *Aspergillus ochraceus* e verificaram a influência do pH neste processo. Os autores observaram que o corante foi completamente adsorvido (4 horas) e descolorido (7 dias) a pH 5,1.

Em relação à remoção de corante nas fases estudadas (Figuras 2, 3 e 4) verificou-se que os melhores resultados foram alcançados quando da adição de 1 g/L de glicose ao meio (fase I), quando foi observado uma eficiência média de remoção de corante de 90%, com percentual máximo de remoção de 99% obtido no segundo ciclo para um tempo reacional de 96 h, conforme mostrado na Figura 2.

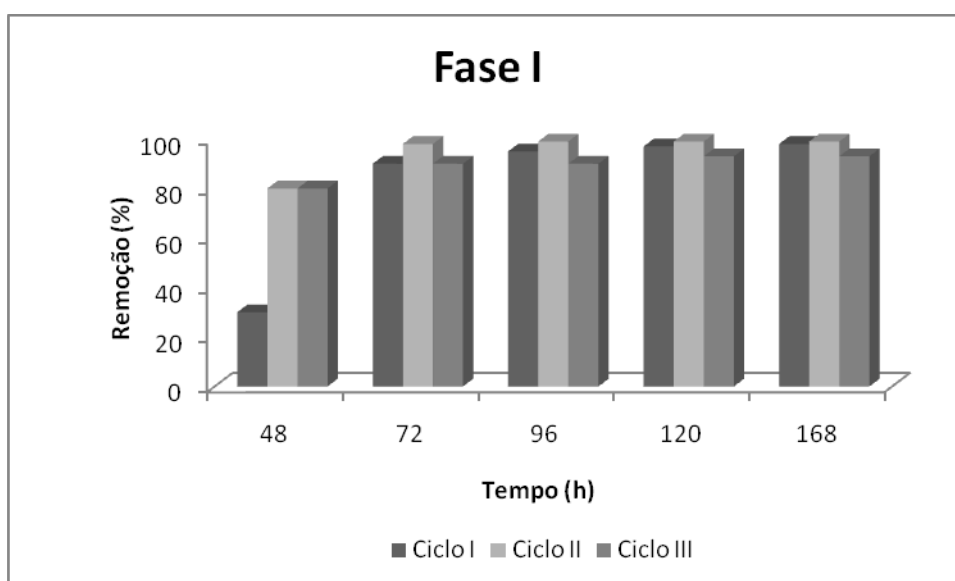


Figura 2 - Remoção de corante Vermelho do Congo na etapa I para reatores em batelada seqüencial contendo 1,0 g/L de glicose em ciclos operacionais de 7 dias.

As variações dos percentuais médios de remoção do corante nas fases II (0,5 g/L) e III (sem glicose) estão representadas nas Figuras 3 e 4. A adição de glicose na concentração de 0,5 g/L não apresentou resultados distintos da operação com 1,0 g/L, correspondendo a 92% de remoção de corante, e foi levemente superior a operação sem este açúcar, respectivamente de 84%.

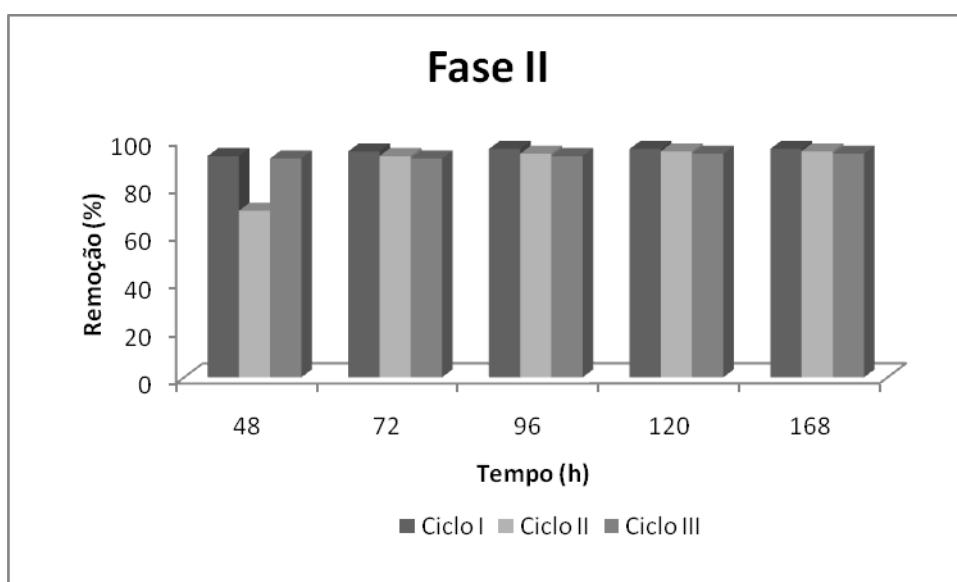


Figura 3 - Remoção de corante Vermelho do Congo na etapa I para os reatores em batelada seqüencial contendo 0,5 g/L de glicose em ciclos operacionais de 7 dias.

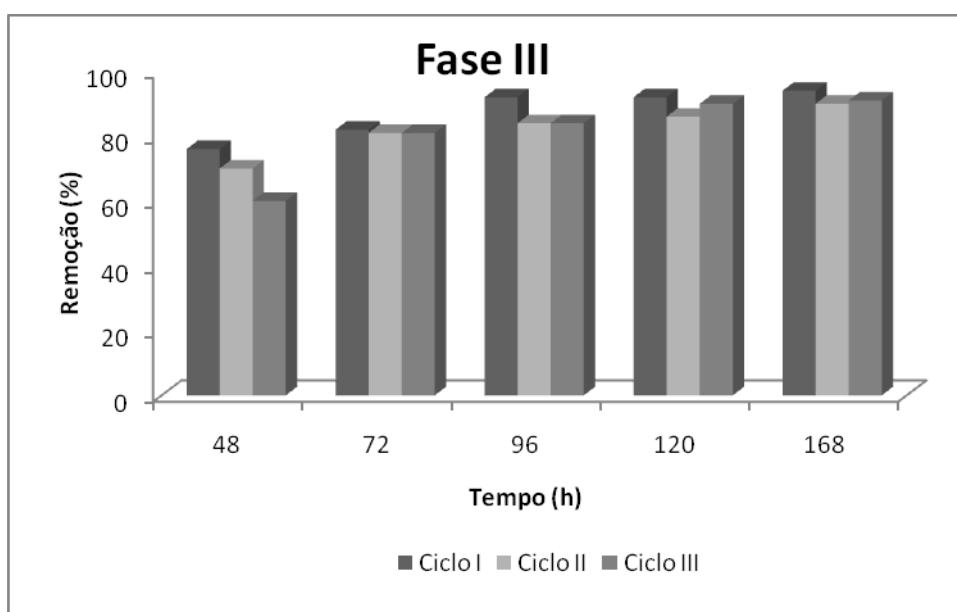


Figura 4 - Remoção de corante Vermelho do Congo na etapa I para reatores em batelada seqüencial sem glicose em ciclos operacionais de 7 dias.

Com base nos resultados de remoção do corante apresentados nas Figuras 2 a 4 realizou-se a modelagem cinética para o processo de biodegradação segundo os modelos clássicos de primeira e segunda ordem, descritos a partir das Equações 1 e 2 a seguir.

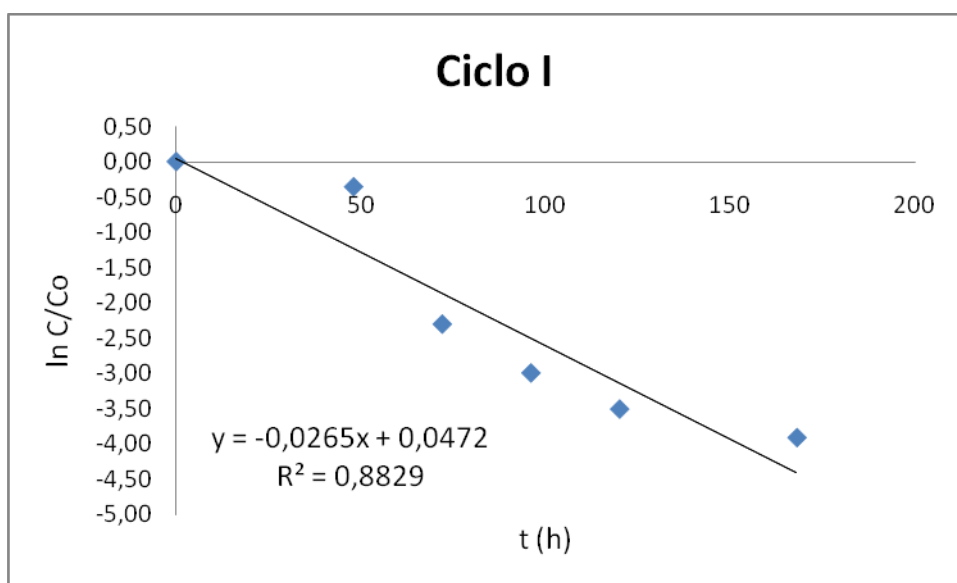
$$\ln \frac{C}{C_o} = -k_1 . t \quad \text{Eq. 1}$$

Onde: C é a concentração do corante em um dado tempo reacional t ; C_o é a concentração inicial do corante e k_1 é a constante de velocidade de primeira ordem.

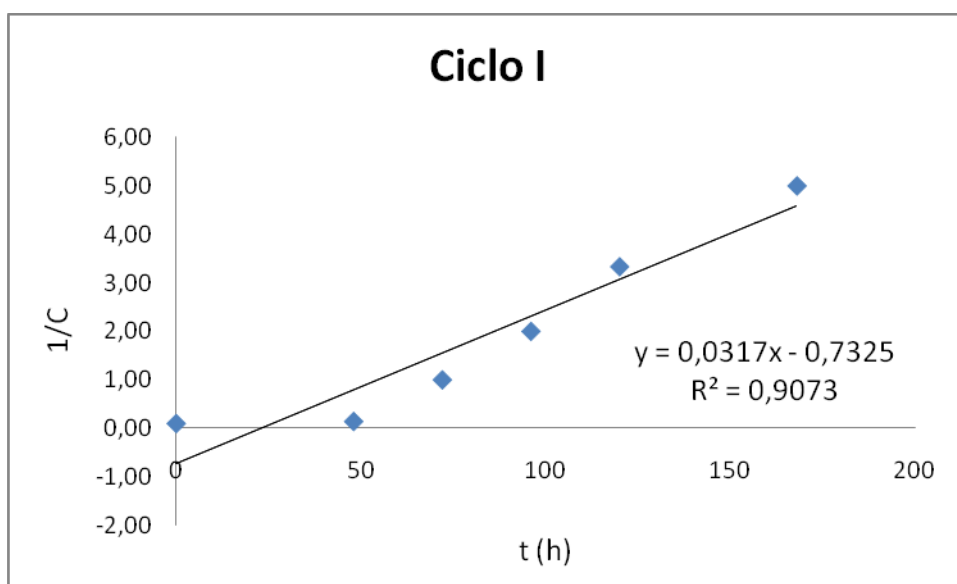
$$\frac{1}{C} - \frac{1}{C_o} = k_2 . t \quad \text{Eq. 2}$$

Onde: C é a concentração do corante em um dado tempo reacional t ; C_o é a concentração inicial do corante e k_2 é a constante de velocidade de segunda ordem.

Nas Figuras 5 a 13 estão apresentadas as cinéticas de degradação do Vermelho do Congo para as três condições estudadas: 1,0 g glicose/L; 0,5 g glicose/L e sem glicose, nos diversos ciclos operacionais.

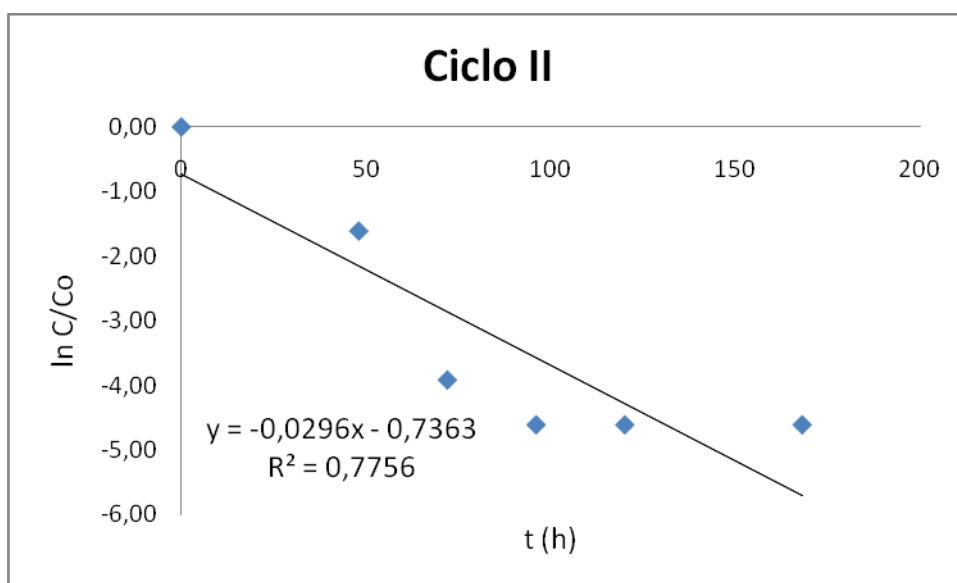


a)

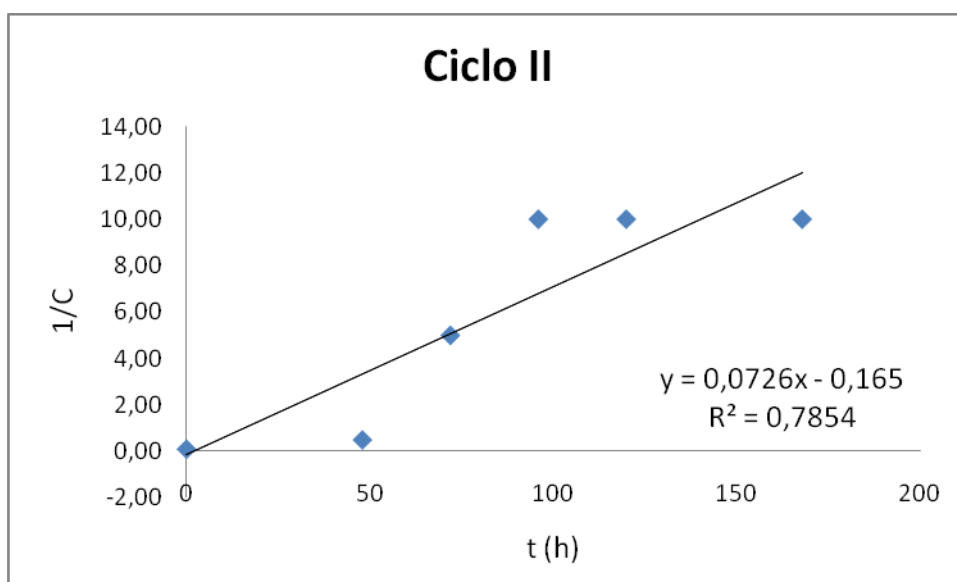


b)

Figura 5 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial contendo 1 g/L de glicose (etapa I-fase I) no 1º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27^\circ\text{C}$, $C_o = 10 \text{ mg/L}$.

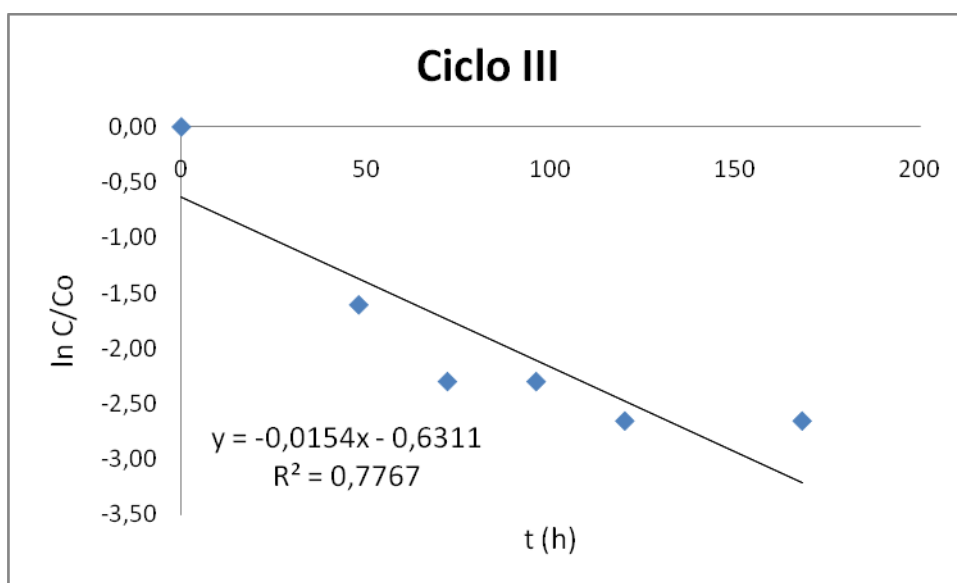


a)

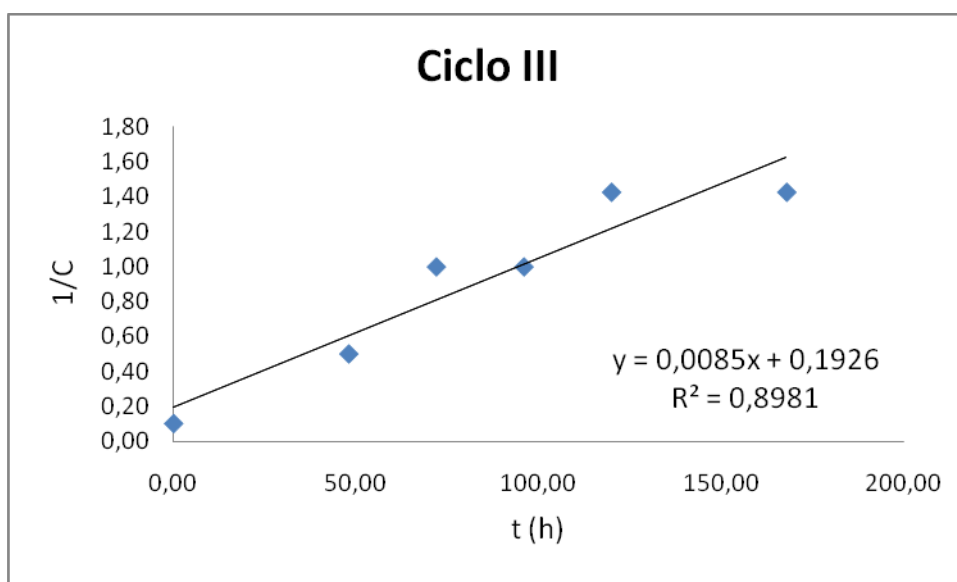


b)

Figura 6 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial contendo 1 g/L de glicose (etapa I-fase I) no 2º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27^\circ\text{C}$, $C_o = 10 \text{ mg/L}$.

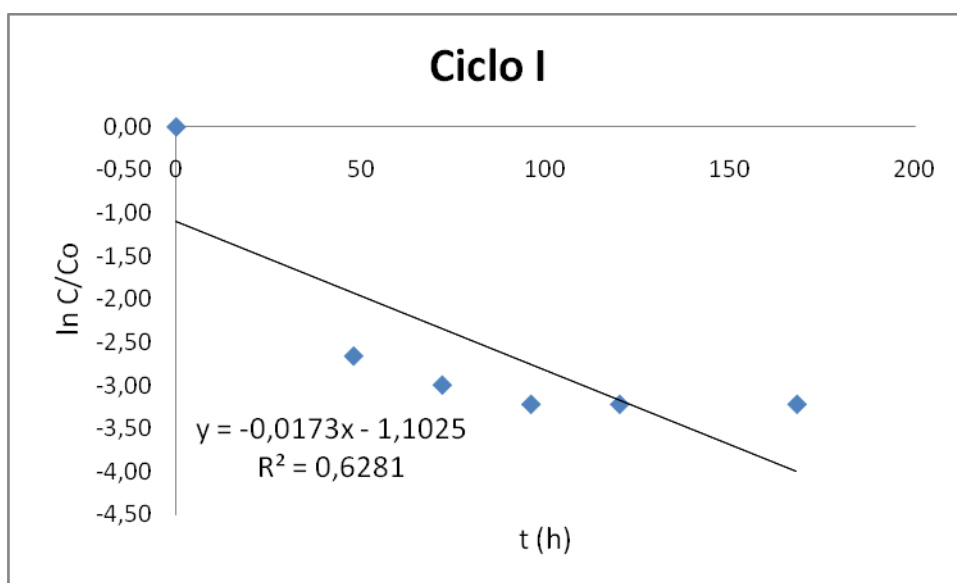


a)

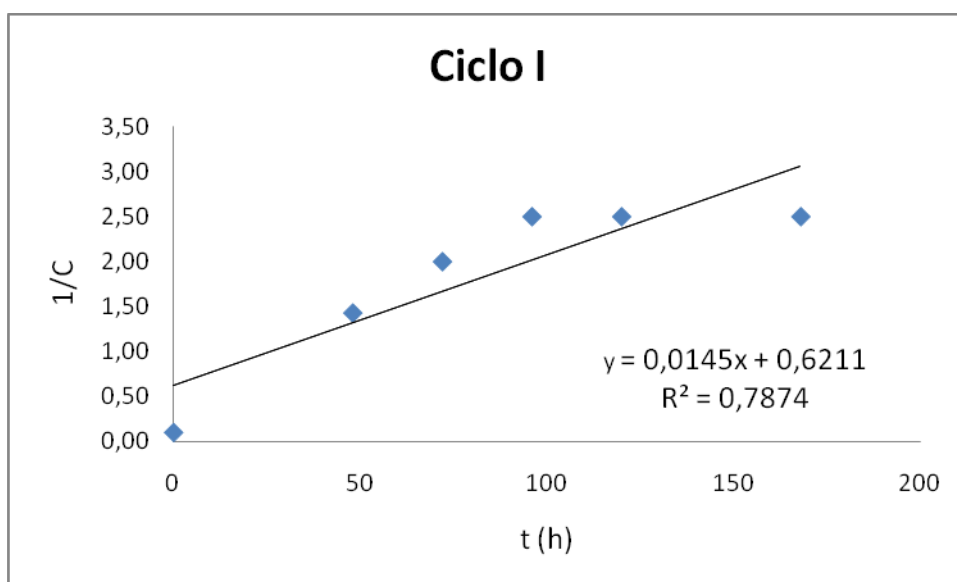


b)

Figura 7 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial contendo 1 g/L de glicose (etapa I-fase I) no 3º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27^\circ\text{C}$, $C_0 = 10\text{ mg/L}$.

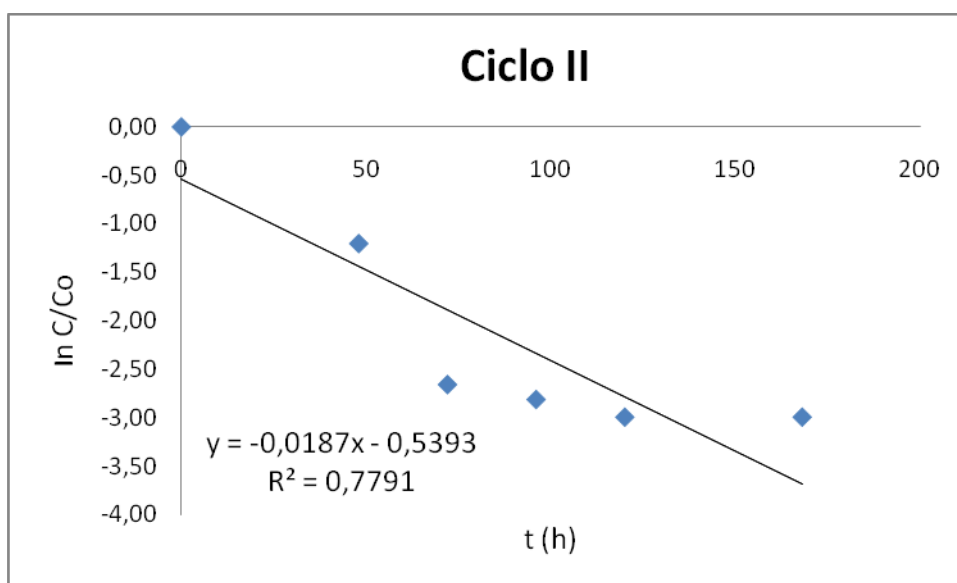


a)

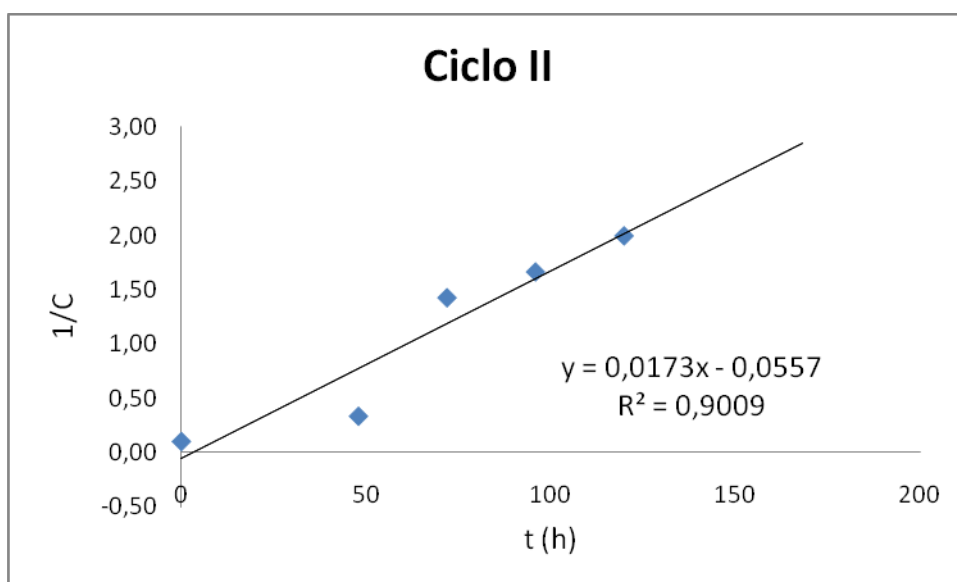


b)

Figura 8 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial contendo 0,5 g/L de glicose (etapa I-fase II) no 1º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$, $C_o = 10\text{ mg/L}$.

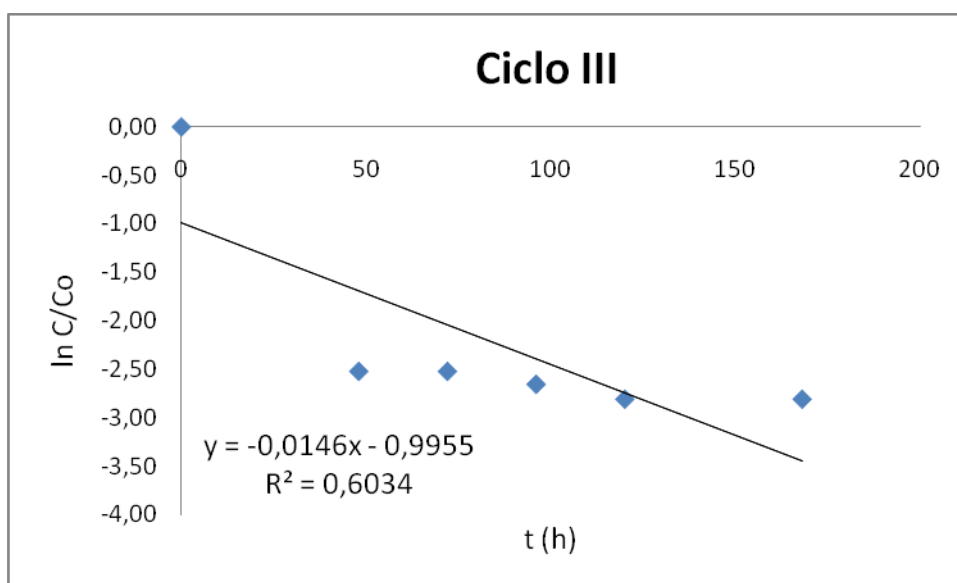


a)

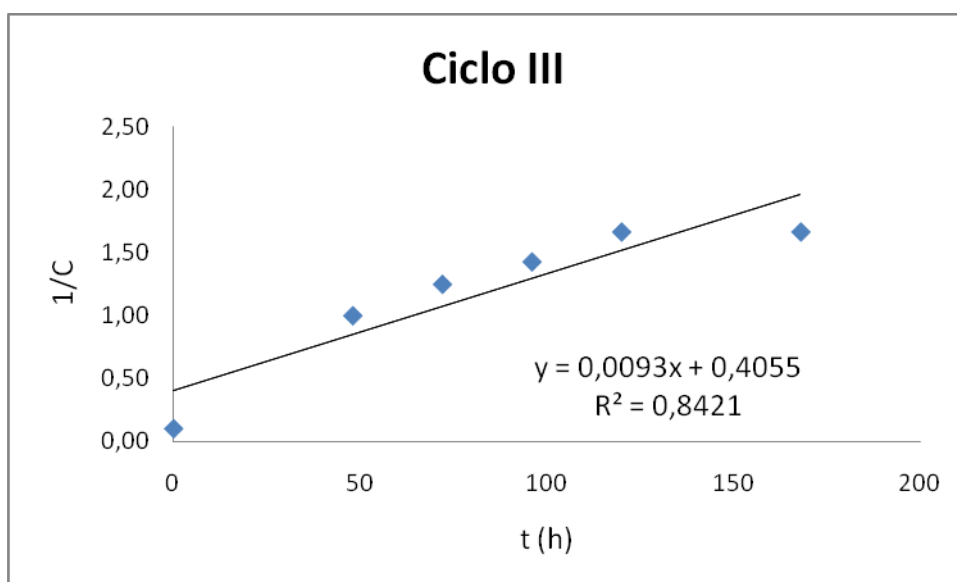


b)

Figura 9 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial contendo 0,5 g/L de glicose (etapa I-fase II) no 2º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27^\circ\text{C}$, $C_0 = 10 \text{ mg/L}$.

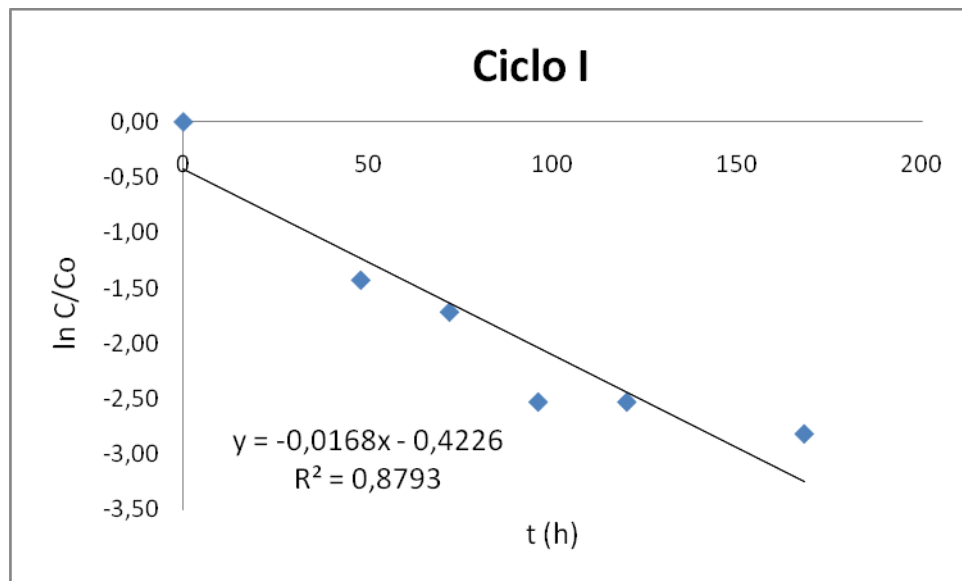


a)

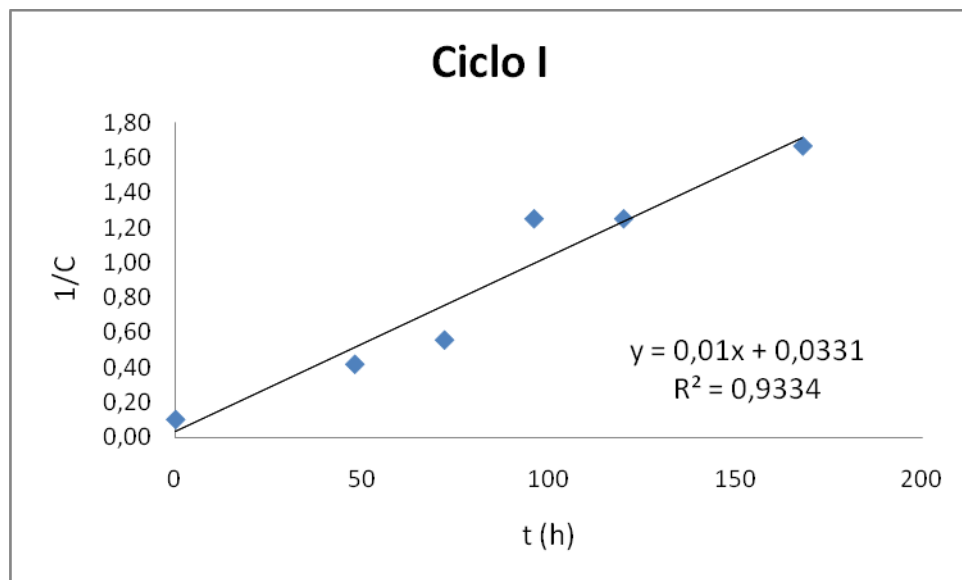


b)

Figura 10 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial contendo 0,5 g/L de glicose (etapa I-fase II) no 3º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27^\circ\text{C}$, $C_0 = 10 \text{ mg/L}$.

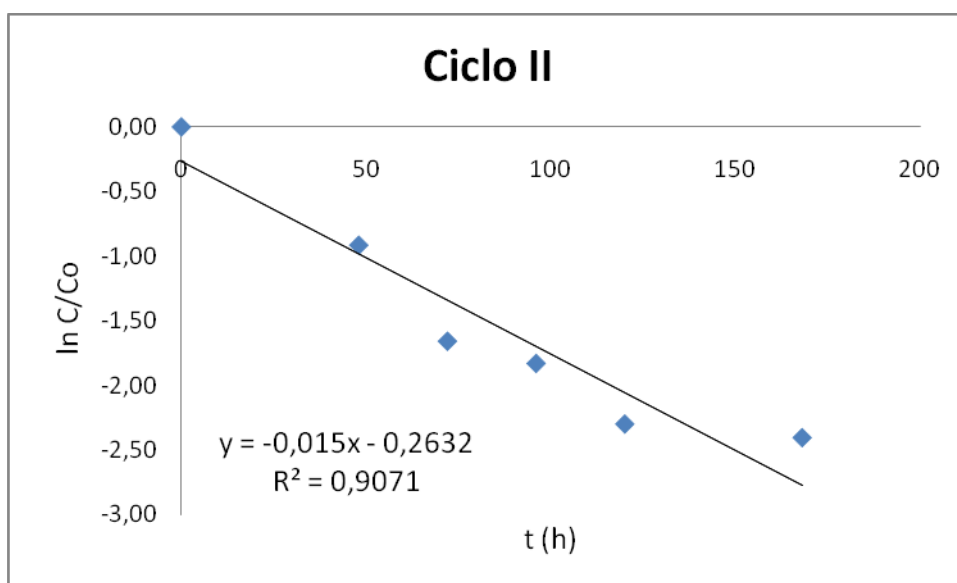


a)

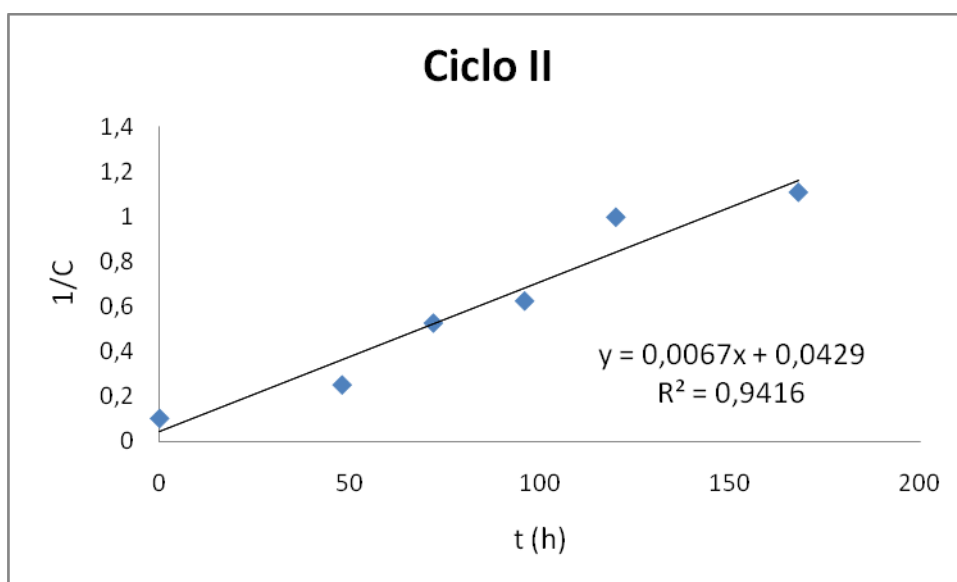


b)

Figura 11 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial sem glicose (etapa I-fase III) no 1º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27^\circ\text{C}$, $Co = 10 \text{ mg/L}$.

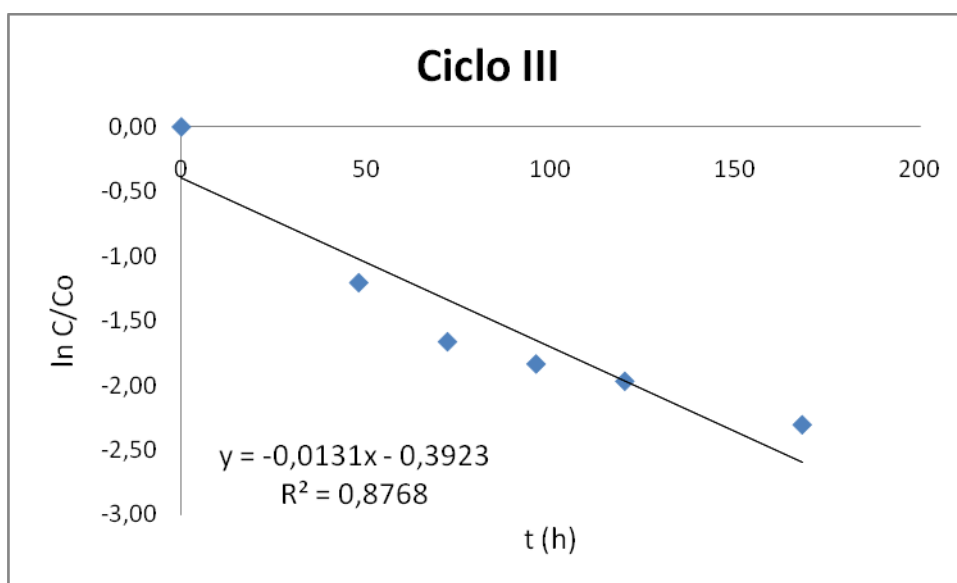


a)

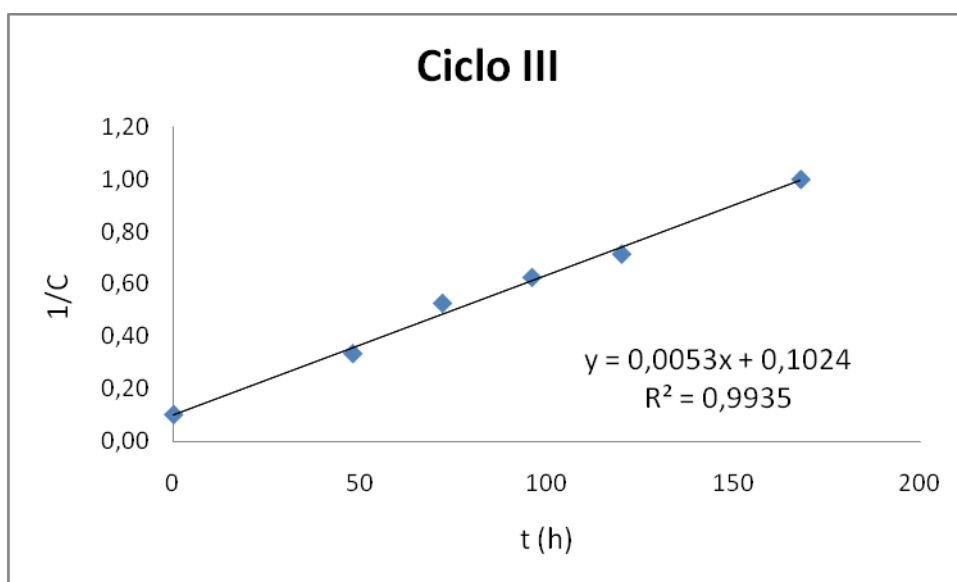


b)

Figura 12 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial sem glicose (etapa I-fase III) no 2º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27^\circ\text{C}$, $C_o = 10 \text{ mg/L}$.



a)



b)

Figura 13 – Cinética de degradação de primeira (a) e segunda (b) ordem do corante Vermelho do Congo para reatores em batelada sequencial sem glicose (etapa I-fase III) e no 3º ciclo operacional de 7 dias. $T = 27^\circ\text{C}$, $C_o = 10 \text{ mg/L}$.

Na Tabela 6 são apresentadas os resultados da modelagem cinética a temperatura ambiente (27 °C) para a degradação de corante vermelho do congo por *Aspergillus niger* AN400.

Tabela 6 - Parâmetros cinéticos de biodegradação do corante Vermelho do Congo nas fases I, II e III da etapa I (ciclos operacionais de 7 dias) segundo os modelos de primeira e segunda ordem. T = 27 °C, Co = 10 mg/L.

Fase I: 1,0 g/L de glicose				
Ciclo	Modelo de 1ª ordem		Modelo de 2ª ordem	
	k_1 (h⁻¹)	R²	k_2 (L/mg.h)	R²
1	0,0265	0,8829	0,0317	0,9073
2	0,0296	0,7756	0,0726	0,7854
3	0,0154	0,7767	0,0085	0,8981
Fase II: 0,5 g/L de glicose				
Ciclo	Modelo de 1ª ordem		Modelo de 2ª ordem	
	k_1 (h⁻¹)	R²	k_2 (L/mg.h)	R²
1	0,0173	0,6281	0,0145	0,7874
2	0,0187	0,7791	0,0173	0,9004
3	0,0146	0,6034	0,0093	0,8421
Fase III: 0,0 g/L glicose				
Ciclo	Modelo de 1ª ordem		Modelo de 2ª ordem	
	k_1 (h⁻¹)	R²	k_2 (L/mg.h)	R²
1	0,0168	0,8793	0,0101	0,9334
2	0,0150	0,9071	0,0067	0,9416
3	0,0131	0,8768	0,0053	0,9935

Na Tabela 6 é mostrado um maior ajuste dos dados experimentais ao modelo de segunda ordem em todos os ciclos operacionais das diferentes fases em estudo, com valores de R² variando entre 0,785 e 0,994; bem superiores aos encontrados na descrição de primeira ordem, que variaram entre 0,603 e 0,907. Em geral, para a mesma fase de tratamento, os valores da constante de velocidade k_2 (L/mg.h) nos sistemas contendo glicose aumentaram na ordem: ciclo 2 > ciclo 1 > ciclo 3, principalmente na operação com 1 g/L de glicose onde as velocidades do ciclo 2 são de 2,3 a 8,5 vezes superiores as dos ciclos 1 e 3, respectivamente. Na fase III sem a presença de glicose como substrato são observadas as cinéticas mais desfavoráveis, ratificando a importância deste açúcar no desenvolvimento reacional.

Experimentalmente a capacidade máxima do material suporte (~2 g de espuma de poliuretano) em adsorver o Vermelho do Congo foi de 0,005 g de corante/g de espuma (reator controle), enquanto o sistema fúngico removeu aproximadamente 0,018 g de corante/g de espuma (admitindo uma eficiência média de 90% de degradação), o que equivale a uma massa

3,6 vezes superior aquela retida pelo material suporte no equilíbrio. Estes valores comprovaram a hipótese que é a via biológica o mecanismo principal de remoção do corante Vermelho do Congo, ainda que no balanço de massa não tenha sido considerada a parcela de corante adsorvida na própria biomassa imobilizada.

Particularmente, a constante de velocidade (k_2) registrada no primeiro ciclo da fase I (1 g/L de glicose) foi de 0,0317 L/mg.h, um valor de 2 a 3,2 vezes superior aos encontrados nas fases II e III (0,5 g/L de glicose e ausência de glicose, respectivamente), indicando que a concentração de 1 g/L de glicose proporcionou maior eficiência para o processo biológico quando considerado os contextos simultâneos de conversão biológica e cinética reacional.

Finalmente, observaram-se em ambas as fases de tratamento em que se empregou a glicose como cossustrato, um aumento significativo da cinética reacional, embora com remoções praticamente equivalentes, entre o primeiro e segundo ciclo reacional, seguido de redução dos valores de k_2 no terceiro e último ciclo de operação. Este comportamento denotou uma tendência a adaptação e crescimento da biomassa fúngica no primeiro ciclo operacional, seguido de uma mais intensa atividade enzimática no ciclo seguinte e uma redução da atividade microbiana provavelmente por efeitos de toxicidade e/ou morte, no terceiro ciclo reacional.

As variações das demais variáveis de processo ao longo dos ciclos operacionais de tratamento biológico estão apresentadas a seguir. Na Figura 14 está apresentada a variação de matéria orgânica, em termos de DQO, ao longo da fase I (1 g/L). Nesta fase I foram registradas as melhores remoções de matéria orgânica carbonácea, medida em termos de DQO, sendo que o maior percentual de remoção ocorreu no tempo reacional de 96 h do primeiro ciclo operacional (99%). Nesta fase, a remoção média de matéria orgânica foi de 86%.

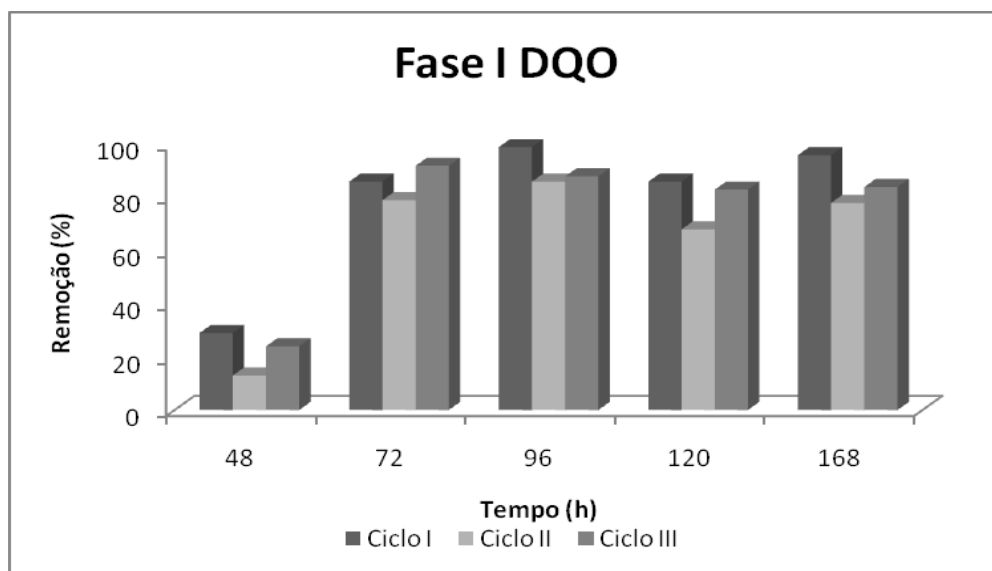


Figura 14 – Remoção de DQO na etapa I para reatores em batelada sequencial contendo 1 g/L de glicose e ciclos operacionais de 7 dias.

Nas fases II e III, embora se tenham alcançados percentuais de remoção média de corante, em torno de 86%, observou-se diminuição acentuada da remoção de matéria orgânica, correspondentes às médias de remoção nas referidas fases de 48% (fase II) e 5% (fase III). Nas Figuras 15 e 16 estão apresentadas as variações dos percentuais de remoção DQO nas fases II e III para os ciclos operacionais estudados.

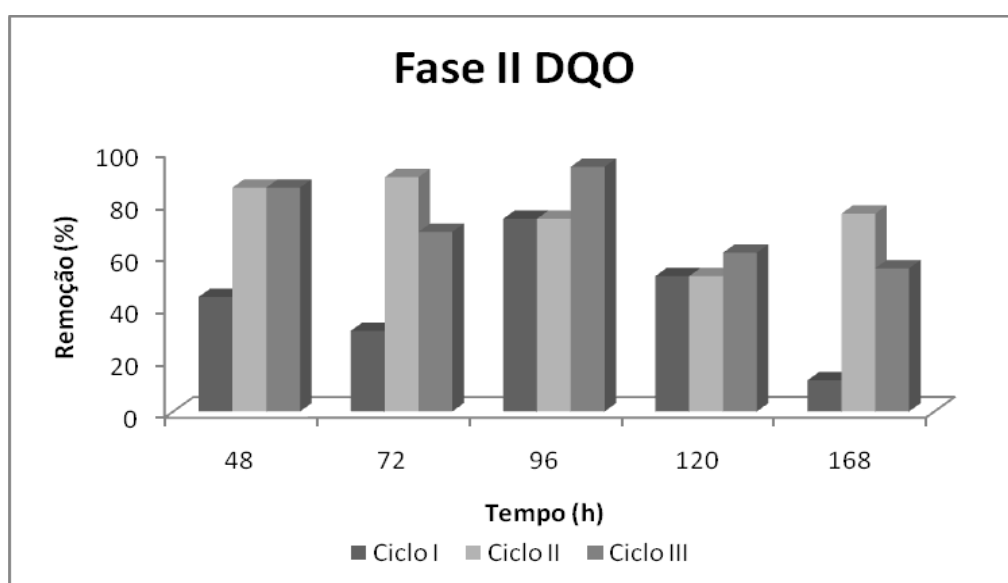


Figura 15 – Remoção de DQO na etapa I para reatores em batelada sequencial contendo 0,5 g/L de glicose e ciclos operacionais de 7 dias.

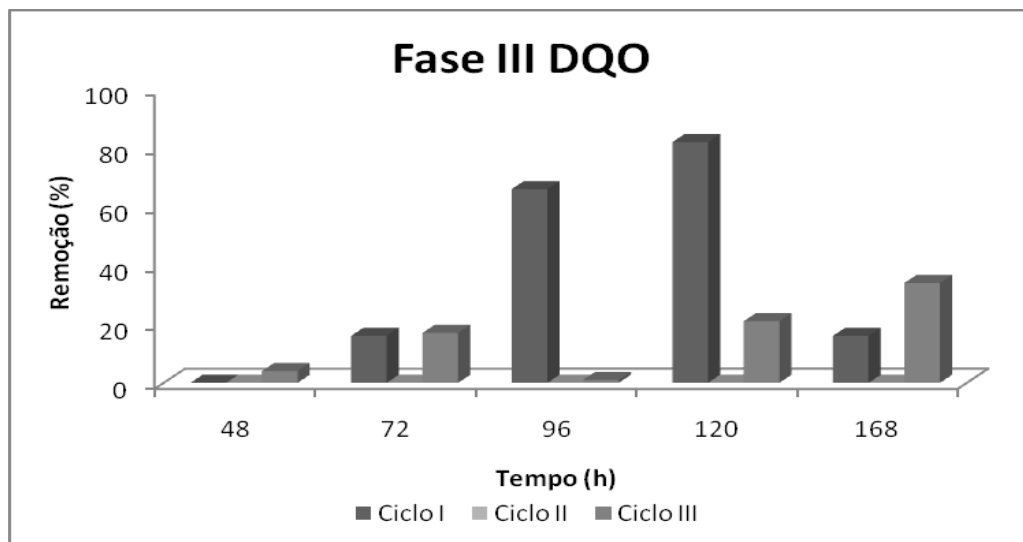


Figura 16 – Remoção de DQO na etapa I para reatores em batelada sequencial sem glicose e ciclos operacionais de 7 dias.

Assim, a adição da glicose na concentração de 0,5 g/L (fase II) e a ausência desta (fase III) resultaram numa menor atividade fúngica com conseqüente acúmulo de matéria orgânica, conforme mostrado nas Figuras 15 e 16 o que não foi observado na fase I. Como, particularmente, nas fases II e III, a remoção de matéria orgânica dissolvida foi muito inferior à de corante, a presença de glicose, na concentração de 1,0 g/L, pode ter favorecido a ação dos micro-organismos na remoção dos sub-produtos formados no meio, como, por exemplo, as aminas aromáticas. Neste caso as aminas aromáticas se originaram a partir da ruptura da molécula do corante, conforme relatado na literatura (VAN DER ZEE e VILLAVÉRDE, 2005 e MUSTAFA e SPONZA, 2007) e foram mais difíceis de serem assimiladas pelos micro-organismos, pois requerem gasto energético maior, o que pode ter sido suprido pela adição a níveis mais elevados de açúcar.

Segundo Marzzoco e Torres (1999), a glicose é o principal substrato de mais fácil assimilação e oxidação pela maioria dos organismos para a obtenção de energia pela célula, sendo importante ressaltar que, conforme os dados apresentados, para 1 g/L de glicose, não se observou inibição pelo excesso de substrato, tendo ocorrido nesta situação remoções ótimas tanto de corante quanto de matéria orgânica.

Outrossim, a glicose e outros cossubstratos, como por exemplo, sacarose, maltose, amido, etc., possuem um papel relevante para a remoção de compostos de difícil biodegradação, contribuindo para a assimilação dos mesmos pelos micro-organismos, uma vez que mediante reações secundárias envolvendo estes compostos menos reativos e os produtos formados pela oxidação enzimática do cossubstrato, de maior reatividade, há

aumento da remoção do poluente (SINGH, 2006).

Existem relatos dos benefícios da adição da glicose para a remoção de cor de meios contendo os mais diversos corantes (PARSHETTI *et al.*, 2007, ALI *et al.*, 2008 e KHELIFI *et al.*, 2009), contudo a concentração ótima a ser empregada, aparentemente, depende de fatores como a espécie fúngica, a estrutura molecular do corante, o regime de operação do reator e a idade do biofilme, entre outros (SINGH, 2006).

A glicose não apenas é substrato necessário para o crescimento celular, mas também para a produção de enzimas responsáveis por facilitarem a assimilação do poluente pelo micro-organismo (QUINGXIANG, 2008). Os fungos consomem e crescem rapidamente quando há disponibilidade de fontes de carbono, produzindo como resultado do metabolismo secundário enzimas extracelulares, mediante presença de concentrações adequadas de carbono e de nitrogênio (KHELIFI *et al.*, 2009).

O efeito da adição da glicose sobre a degradação do corante reativo diazo Vermelho ácido 151 por *Aspergillus niger* foi estudado por Ali *et al.* (2008). Estes autores isolaram a linhagem fúngica de efluente têxtil industrial e a inocularam em frascos contendo 100 mL de efluente sintético o qual possuía 20 mg.L⁻¹ do corante e glicose em diferentes concentrações. Os frascos foram mantidos sob agitação orbital (100 rpm) ao longo de 8 dias, sendo que foi obtida remoção máxima de cor de 77 % quando da adição de 5 g.L⁻¹ de glicose, porém para adições na concentração de 10 g.L⁻¹, verificou-se diminuição acentuada da remoção de cor (38,2 %), como possível resposta ao excesso de substrato disponível no meio.

Também Khelifi *et al.* (2008) estudaram o efeito de fontes de carbono e nitrogênio na degradação dos corantes índigo e Vermelho do Congo pela espécie fúngica *Aspergillus alliaceus* 121 C e verificaram a remoção de cor de 98% para Vermelho do Congo e 98,6% para o índigo com 9 dias de incubação e adições de 25 mM glicose/L. Este percentual é muito próximo ao encontrado nesta pesquisa, (95% de remoção) com 7 dias de incubação e 1,0 g glicose/L. Outras pesquisas de descoloração do Vermelho do Congo espécies fúngicas, *Schizophyllum sp*, *P. chrysosporium* e *L. edodes* relatam percentuais de remoção de 91,6%, 92,1% e 92,4%, respectivamente.

Em suas pesquisas, Radha *et al.* (2005) verificaram elevada afinidade de fungos pelo corante Vermelho do Congo (0,02 g/L), na presença de glicose (5 g/L), em meio mineral. Os autores utilizaram a espécie *Phanerochaete chrysosporium* imobilizada em esferas de alginato de sódio (2, 3, 4, 5 e 6 mm), tendo obtido para a constante de afinidade (K_M) valores entre 0,203 g/L a 0,253 g/L, em função do tamanho das esferas.

Em relação ao pH, ao longo dos ciclos operacionais foi mantida a característica ácida do meio, o que foi observado em todas as fases de estudo, resultando em valor médio de 2,5 para a fase I; 3,1 para a fase II e 4,1 para a fase III. A diminuição dos valores de pH no final dos ciclos operacionais foi, possivelmente, relacionada à produção de ácidos orgânicos, devido à utilização das fontes de carbono pelos fungos (RODRIGUES, 2006, SINGH, 2006 e EL-RABIM, 2009).

Em seus experimentos, Pessoa-Wanderley (2007) estudou a remoção de Vermelho do Congo por *Aspergillus niger* em reatores em batelada convencional, utilizando biomassa imobilizada e glicose (1,0 g/L) como cossubstrato. Os reatores foram operados durante 25 dias e as maiores eficiências, quanto à remoção do corante, 85% e 87%, ocorreram quando o meio apresentou pH baixo (3,2 a 3,7), respectivamente. O valor do pH nos reatores utilizados como controle foi superior a 7 e não foi observada remoção significativa de corante (12%).

Uma maior eficiência de remoção dos corantes têxteis azul ácido 62 (125 μ M) e 40 (211 μ M), azul reativo 81 (124 μ M) e preto direto (92,25 μ M) em meio aquoso, em diferentes valores de pH, por enzimas lacases, produzidas pelo fungo *Cerrena unicolor* foram obtidos Michniewicz *et al.* (2008). Os autores variaram o pH do meio de 2 a 7 e alcançaram maior produção de lacase em pH 3,5; correspondendo a 100% da atividade enzimática, a qual diminuiu drasticamente em pH = 7 para apenas 20% do valor inicial.

Os meios com valores baixo de pH são mais propícios aos fungos (ASSADI e JAHANGIRI, 2001) e o grande número de enzimas secretadas por eles possuem sua atividade ótima em pH cujos valores encontram-se nesta faixa ácida, sendo que a partir de 7, a atividade enzimática tende a diminuir (MICHNIEWICZ, 2008), ocorrendo, conseqüentemente, a perda da eficiência de remoção do poluente.

No final da operação do reator, as análises de microscopia confirmaram a presença do *Aspergillus niger* AN400 e não foi observada contaminação do meio por micro-organismos alóctones. A contagem do número de colônias revelou concentração de esporos de 8×10^4 UFC/mL.

5.2 Estudos de Biodegradação do Corante Vermelho do Congo com Biomassa Imobilizada de *Aspergillus niger* AN400 para Ciclos Operacionais de 48 h (ETAPA II)

Nesta etapa, com base no perfil cinético apresentado na etapa I operaram-se os reatores em bateladas seqüenciais (RBS) para tempos reacionais de 48 h e em duas fases operacionais: fase I com 1,0 g/L de glicose e fase II com 0,5 g/L de glicose. Assim, pretendeu-se neste período manter ou melhorar a eficiência do sistema RBS via aumento do tempo de retenção celular, com diminuição significativa do período de ciclo operacional. Os resultados foram expressos para um maior número de ciclos reacionais (8 tratamentos seqüenciais) e optou-se pelo monitoramento analítico somente ao final de cada batelada.

Nas Figuras 17 e 18 são mostradas as remoções de corante com adição de glicose a 1,0 g/L e 0,5 g/L que são praticamente iguais se considerarmos a eficiência média de remoção, respectivamente de 84% e 83%.

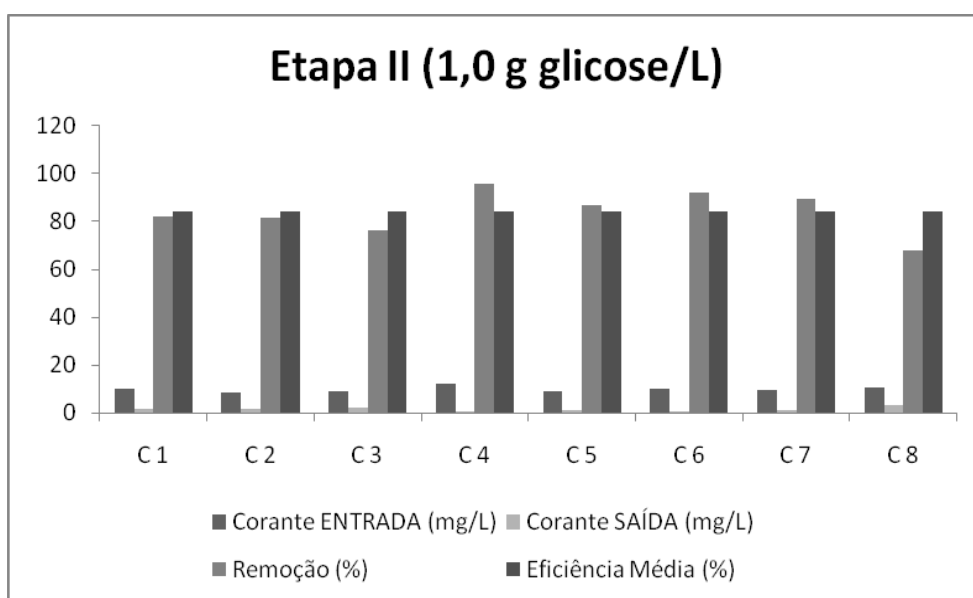


Figura 17 – Variação da concentração de corante Vermelho do Congo e eficiência de remoção para reatores em batelada seqüencial contendo 1 g glicose/L em ciclos operacionais de 48 h.

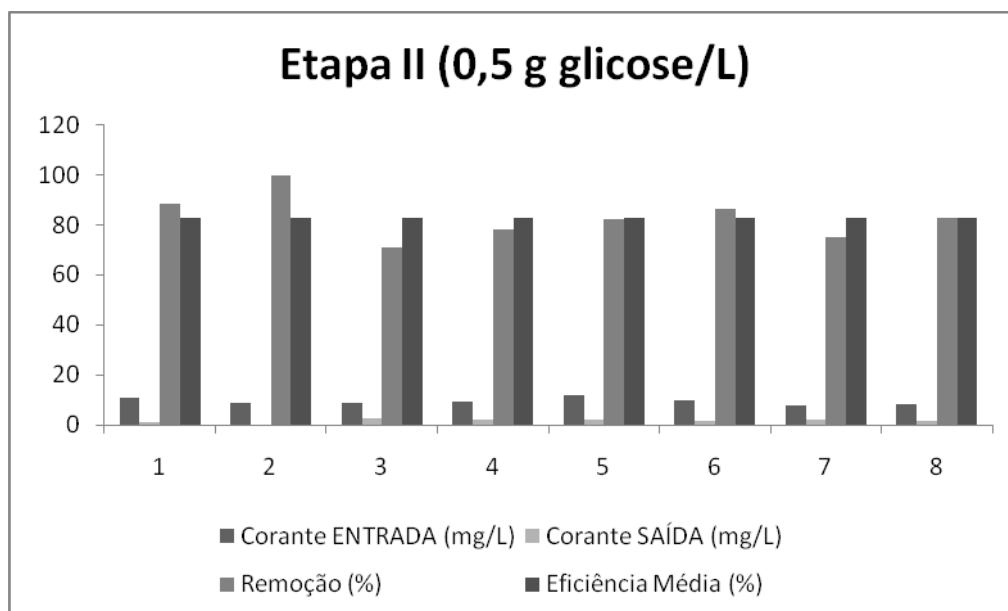


Figura 18 – Variação da concentração de corante Vermelho do Congo e eficiência de remoção para reatores em batelada seqüencial contendo 0,5 g glicose/L em ciclos operacionais de 48 h.

A eficiência média de remoção do corante no RBS na segunda etapa foi de 83,5%. O biofilme formado, aderido ao meio suporte, favoreceu a utilização do substrato com 48 h de tempo reacional. Na operação do RBS na primeira etapa obteve-se uma eficiência média de remoção de corante de 90% com 1,0 g glicose/L para um tempo reacional de 7 dias. Neste caso para os percentuais de remoção alcançados, os quais foram relativamente próximos nos diferentes tempos empregados, 7 dias e 48 h, ficou demonstrado a influência do aumento do tempo de retenção celular, como fator preponderante na adaptação da biomassa e consequentemente na eficiência do sistema. Segundo Papagianni e Mattey (2004) as técnicas de imobilização conduzem ao aumento na produção de ácidos orgânicos, enzimas e oligossacarídeos, além de minimizar problemas relacionados às formas morfológicas produzidas, pois eliminam os riscos de autólise central causada por efeitos difusionais.

Segundo Sampaio (2005) ao estudar a remoção de metil-paration por *Aspergillus niger* AN400 em reatores em batelada com biomassa dispersa e em reator de leito fixo e fluxo contínuo verificou que os percentuais de remoção do pesticida pelos dois sistemas operacionais foram próximos, contudo o tempo de operação dos reatores em batelada foi de 27 dias e do reator contínuo de 12 h. Assim, o tempo de retenção celular influenciou consideravelmente na qualidade do sistema contínuo alcançando percentuais próximos aos da operação em batelada, porém com uma diferença considerável de tempo, como observado também neste trabalho.

Nas Figuras 19 e 20 estão apresentadas as variações de concentração de DQO e as eficiências de remoção na presença de 1,0 g glicose e 0,5 g glicose/L em reatores batelada sequenciais (RBS) na etapa II para ciclos reacionais de 48 h.

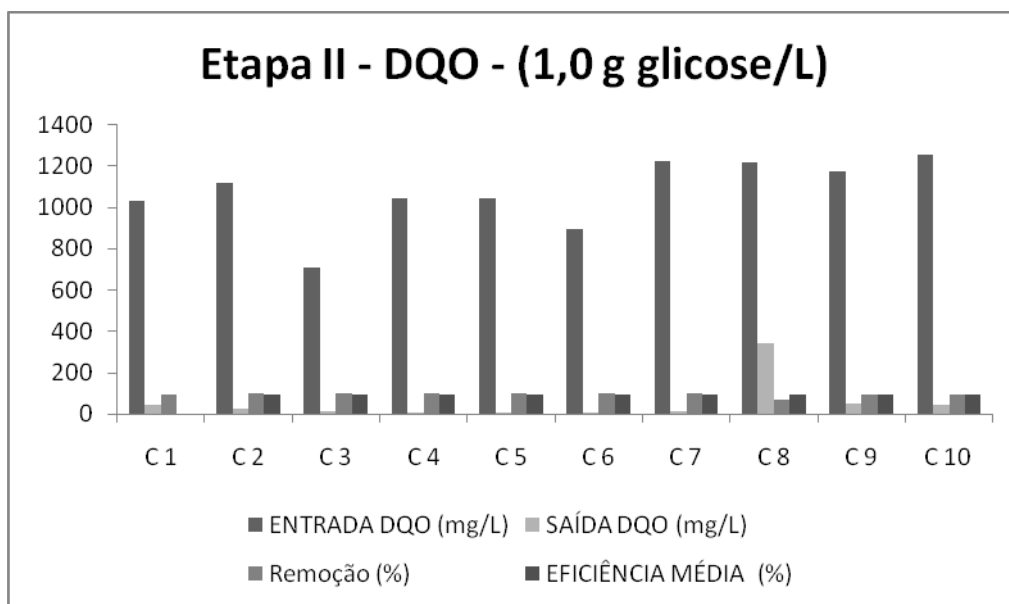


Figura 19 – Variação da concentração de DQO e eficiência de remoção para reatores em batelada sequencial na etapa II contendo 1 g/L de glicose em ciclos operacionais de 48 h.

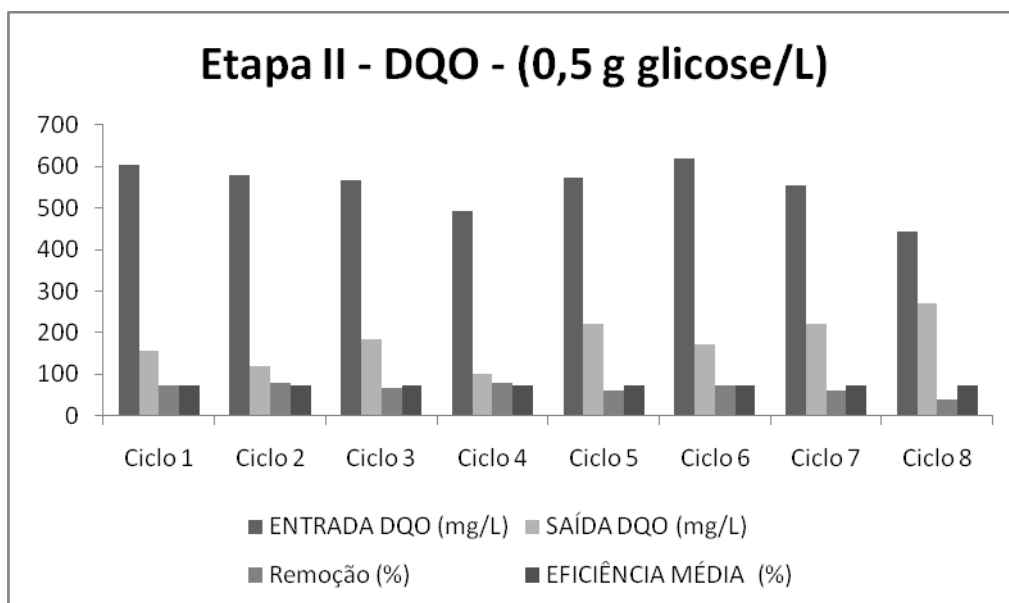


Figura 20 – Variação da concentração de DQO e eficiência de remoção para reatores em batelada sequencial na etapa II contendo 0,5 g/L de glicose e ciclos operacionais de 48 h.

Para este estudo, ao se observar as variações de matéria orgânica verificou-se que a maior remoção média (87%) obtida quando da adição de 1 g/L de glicose ratificou os resultados cinéticos obtidos na Etapa 1, quando foi estimado o maior parâmetro cinético k_2 (0,0317 L/mg.h), porém em um tempo reacional total de 7 dias no segundo ciclo de operação.

A menor remoção de matéria orgânica (64%) observada quando da fase II (0,5 g/L de glicose) pode estar relacionada a maior dificuldade de degradar os subprodutos gerados da quebra da molécula de corante, possivelmente, aminas aromáticas, conforme relatado por Barbosa (2008) que ao empregar *Aspergillus niger* como inóculo de reator de escoamento contínuo e TDH de 8 h verificou aumento da remoção de matéria orgânica de 55% (sem cossubstrato) para 82% (com cossubstrato) ao adicionar na alimentação 0,5 g/L de sacarose, outro açúcar de fácil metabolização, em meio sintético contendo Vermelho do Congo (30 ppm).

Conforme relatado por Eltaif *et al.* (2008) a melhor eficiência registrada na fase I (1 g/L de glicose) pode ser explicada pela facilidade dos fungos terem à sua disposição substratos de fácil assimilação quando expostos a moléculas de estrutura complexa (cometabolismo). Outrossim, Singh (2006) relatou que a glicose ao ser utilizada como cossubstrato gera produtos muito mais reativos que o corante, os quais reagem facilmente com o poluente, gerando compostos passíveis de serem metabolizados pelas enzimas produzidas pelo micro-organismo.

Nas Figuras 21 e 22 estão mostradas as variações de pH no RBS na etapa 2 com 1,0 e 0,5 g glicose/L, respectivamente.

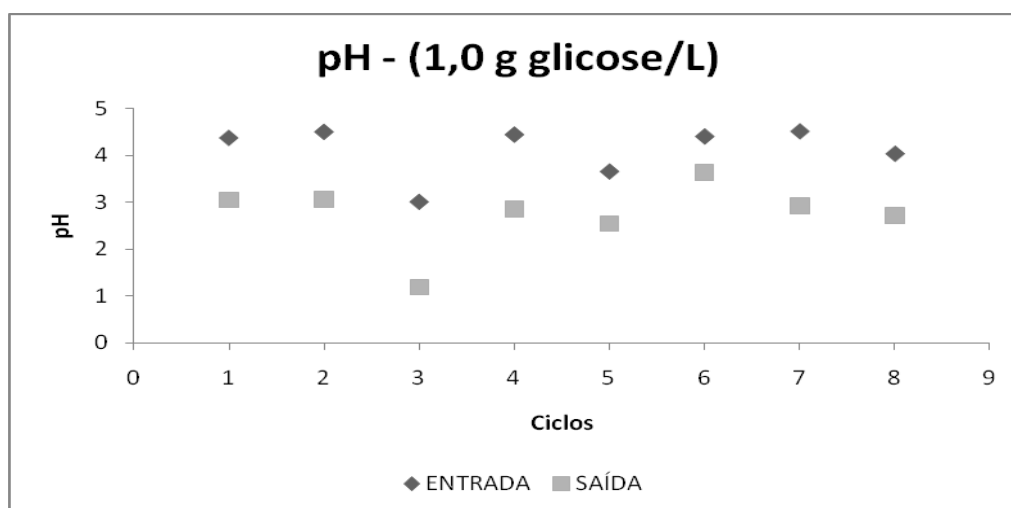


Figura 21 – Variação do pH para reatores em batelada seqüencial na etapa II contendo 1,0 g/L de glicose em ciclos operacionais de 48 h.

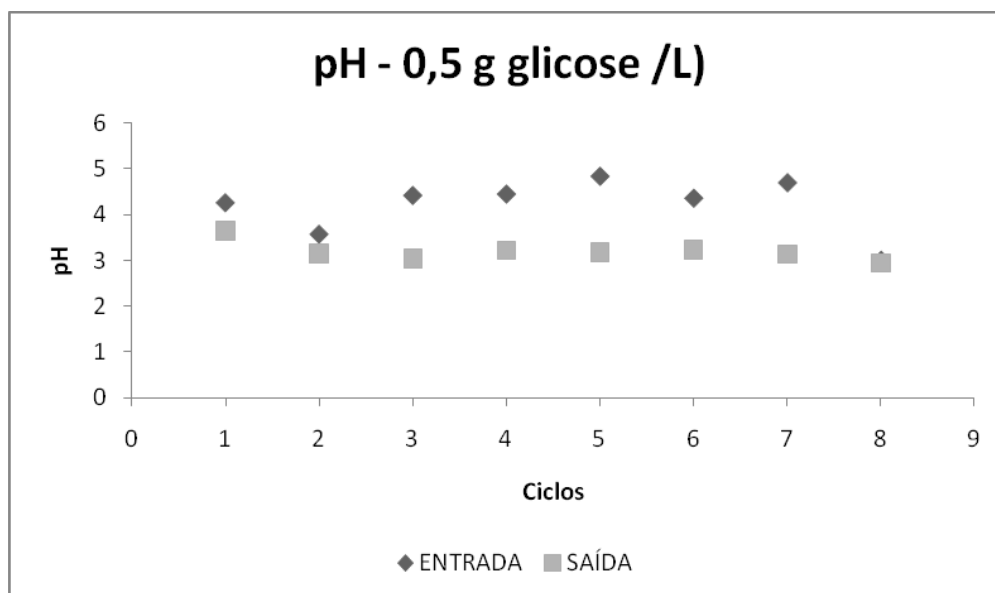


Figura 22 – Variação do pH para reatores em batelada sequencial contendo 0,5 g/L de glicose em ciclos operacionais de 48 h.

Os valores de pH médios registrados no final dos ciclos operacionais foram de 3,2 e 2,7; respectivamente nas fases I e II, o que foi benéfico aos fungos, conforme a microscopia realizada no final da operação do reator que confirmou a presença da espécie fúngica, *Aspergillus niger*.

Nas Figuras 23 e 24 estão apresentadas as variações dos compostos nitrogenados (amônia e nitrato) ao longo da biodegradação de Vermelho do Congo.

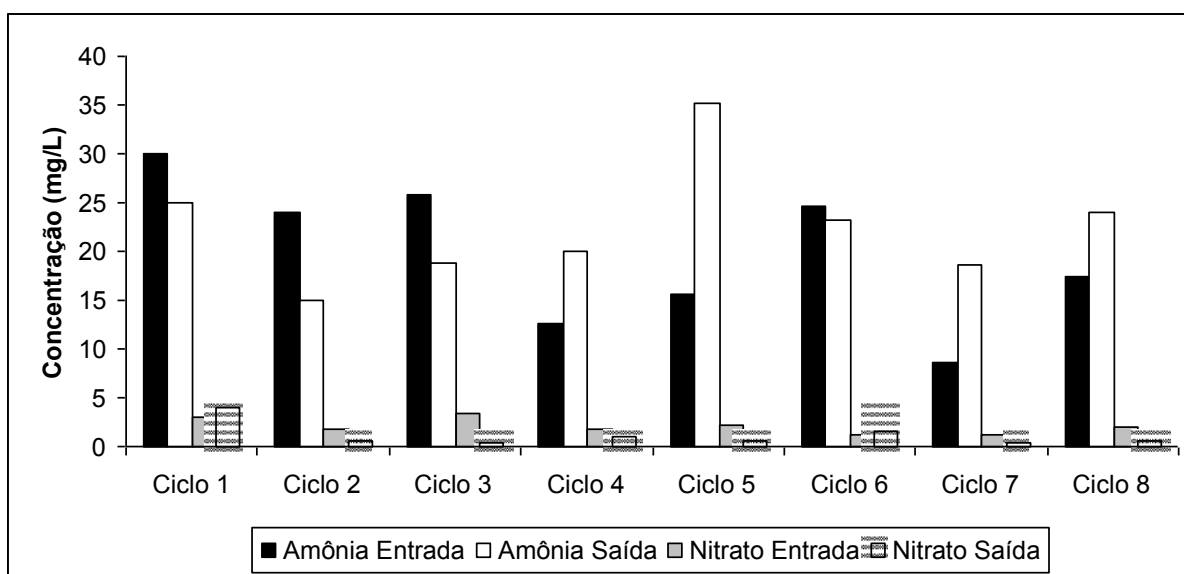


Figura 23 – Variação da concentração de amônia e nitrato para reatores em batelada sequencial na Etapa II com 0,5 g/L de glicose em ciclos operacionais de 48 h.

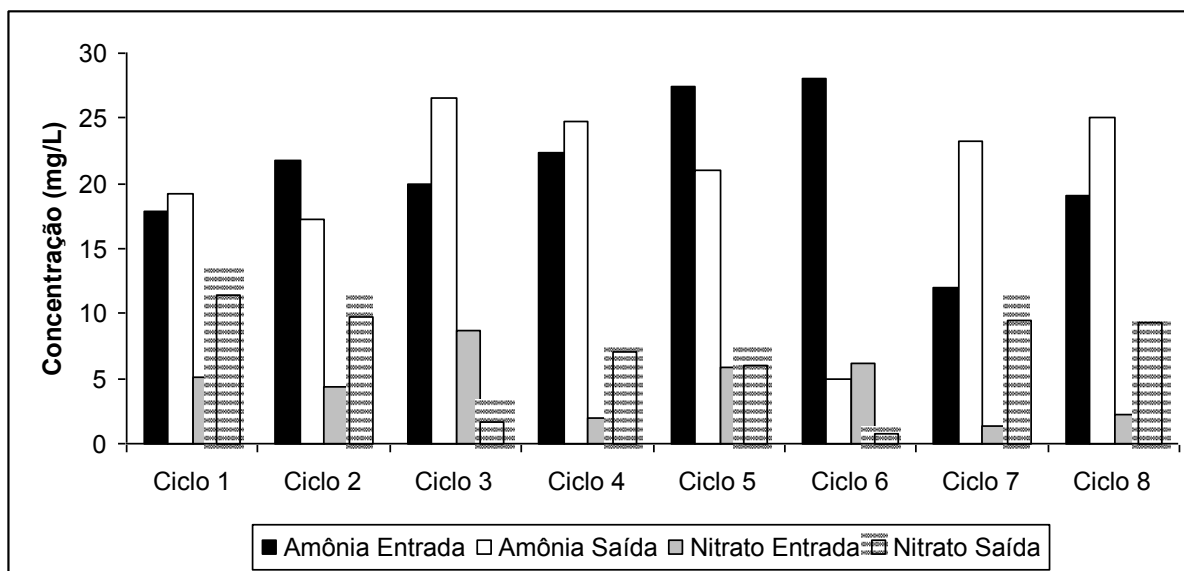


Figura 24 – Variação da concentração de amônia e nitrato para reatores em batelada sequencial na Etapa II com 1,0 g /L de glicose e ciclos operacionais de 48 h.

No tocante às variações das concentrações de nutrientes nitrogenados, na fase I com adição de 1,0 g/L de glicose foi registrada a maior remoção de nitrogênio amoniacal (83%), obtida no ciclo 6, enquanto a menor remoção 11,6% foi verificada no terceiro ciclo de operação.

De forma semelhante, na fase II (0,5 g/L de glicose) a maior remoção de nitrogênio amoniacal foi de apenas 50% no segundo ciclo de operação e a menor de 15,7% no quinto ciclo operacional. Papagianni *et al.* (2005) afirmaram que íons amônio armazenados no interior da célula fúngica reagem com a glicose para formar glucosamina, composto energético de reserva utilizado pelos fungos. Desta forma, a maior eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal registrada na fase I provavelmente está relacionada à maior disponibilidade de glicose nesta condição do estudo experimental.

Particularmente, na fase I (1 g/L de glicose) em quase todos os ciclos operacionais observou-se baixa eficiência de remoção de nitrato, e na prática houve grande acúmulo deste íon no meio durante os ciclos de degradação biológica. Neste caso a maior concentração de nitrato produzida foi observada no primeiro ciclo de operação (6,8 mg/L) e a média de acúmulo observada foi de 82,3%. Em contra partida, na fase I não se verificou acúmulo de nitrato nos ciclos operacionais, sendo a menor remoção observada ainda no primeiro ciclo de operação (18%). Os maiores acúmulos de nitrato no meio na fase I estão provavelmente relacionados ao fato de que nesta fase o nitrogênio amoniacal foi melhor assimilado do meio, o que restringiu a ação das enzimas nitrito e nitrato redutase.

6 CONCLUSÕES

Na Etapa I (ciclo operacional de 7 dias) o reator em bateladas seqüenciais com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN400 apresentou boa eficiência para a remoção de Vermelho do Congo (90%) e de matéria orgânica carbonácea (86%). O processo foi otimizado pelo uso da glicose como cossubstrato na concentração de 1 g/L (fase I), resultando no maior valor estimado para a velocidade de remoção de corante ($k_2 = 0,0317$ L/mg.h).

Os resultados mostraram um maior ajuste dos dados experimentais ao modelo de segunda ordem em todos os ciclos operacionais com valores de R^2 variando entre 0,785 e 0,994, cujos valores foram de 0,0317 L/mg.h, 0,0145 L/mg.h e 0,0100 L/mg.h para as fases com 1g glicose/L, 0,5 g glicose/L e sem glicose, respectivamente

Na Etapa II (ciclo operacional de 48 horas), o reator apresentou boa eficiência para a remoção de Vermelho do Congo correspondente a 84% na fase I com 1,0 g/L de glicose e 83% na fase II com 0,5 g/L de glicose e de matéria orgânica carbonácea (expressa em DQO), correspondente a 64% na fase II (0,5 g/L de glicose) e 87% na fase I (1,0 g/L de glicose).

Os resultados obtidos na presente pesquisa indicam a viabilidade do sistema empregado para o tratamento de águas residuárias têxteis contendo corante Vermelho do Congo, devendo ser realizados novos experimentos que confirmem sua potencialidade para a ação em efluentes “*in natura*”.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para dar continuidade ao trabalho sugere-se:

- Testar outros tipos de meio suporte para o reator de bateladas seqüenciais;
- Verificar a eficiência de remoção do corante e DQO com ciclos operacionais de 24 h para reatores de bateladas seqüenciais;
- Utilizar um reator de fluxo contínuo e leito fixo a fim de otimizar uma melhor eficiência com um menor tempo de detenção hidráulica (12 h; 6 h);
- Estudar o metabolismo de nitrogênio e fósforo em reatores de bateladas seqüenciais alimentado com água residuária rica em corante Vermelho do Congo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIT. **A cadeia têxtil e de confecção do Brasil**. Têxtil Brasil: Panorama Têxtil, 2009.

AGGELIS, G.; EHALIOTIS, C.; NERUD, F.; STOYCHEV, I.; LYBERATOS, G.; ZERVAKIS, G. I. Evaluation of white-rot fungi for detoxification and decolorization of effluents from the green olive debittering process. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 59, p.353–360, 2002.

AKSU, Z.; DÖNMEZ, G. A comparative study on the biosorption characteristics of some yeasts for Remazol Blue reactive dye. **Chemosphere**. v. 50, n. 8, p. 1075-1083, 2003.

ALI, N., IKRAMULLAH, M., LUTFULLAH, G. HAMEED, A and AHMED, S. Decolorization of Acid red 151 by *Aspergillus niger* SA1 under different physicochemical conditions. **World J. Microbiol. Biotechnol**. v. 24, p.1099-1105, 2008.

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

ASSADI, M.M.; JAHANGIRI, M. R. Textile wastewater treatment by *Aspergillus niger*.. **Desalination**, v. 141, p.1-6, 2001.

BARBOSA, B. C. A. **Biorremediação de água residuária sintética têxtil por uso de tratamento biológico conjugado anaeróbio/aeróbio**. Trabalho de Conclusão de Curso em Tecnologia Ambiental, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Brasil, 2009.

BENDING, G. D.; FRILOUX, M.; WALKER, A. Degradation of contrasting pesticides by white hot fungi and its with ligninolytic potencial. **FEMS Microbiology Letters**, v. 212, p. 59-63, 2002.

BENNET, J. W.; WUNCH, K. G.; FAISON, B. D. Environmental Microbiology. Second Edition, ASM Press Washington, D.C. 2002.

BITTON, GABRIEL. **Wastewater microbiology**. New York, p. 17-19, 1994.

BOLLAG, J. M.; CHU, H.L.; RAO, M. A.; GIANFREDA, L. Enzymatic Oxidative Transformation of Chlorophenol Mixtures. **J. Environ. Qual.**, v. 32, p. 63–69, 2003.

BRUCE, C. A.; BRUCE, E. L.; ROBERT, L.G. Degradation of pentachlorophenol by fixed films of white rot fungi in rotating tube bioreactors. **Wat. Res.**, v. 29, p. 61-67, 1995.

CORAL, G.; ARIKAN, B.; ALDI, M. N.; GUVENMEZ, H. Some properties of crude carboxymethyl cellulase of *Aspergillus niger* Z10 wild-type strain. **Turk J. Biol.** v. 26, p. 209-213, 2002.

D'ANNIBALE, A.; CRESTINI, C.; VINCIGUERRA, V.; SERMANI, G. G. The biodegradation of recalcitrant effluents from an olive mill by a white-rot fungus. **Journal of Biotechnology**, v. 61, p. 209–218, 1998.

DÁVILA-VAZQUEZ, G.; TINOCO, R.; PICKARD, M. A.; VAZQUEZ-DUHALT, R. Transformation of halogenated pesticides by versatile peroxidase from *Bjerkandera adusta*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 36, p. 223-231, 2005.

DENIZLI, A.; CIHANGIR, N.; YOUSEFI RAD, A.; TANER, M.; GÜLEREN, A. Removal of chlorophenols from synthetic solutions using *Phanerochaete chrysosporium*. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 2025–2030, 2004.

DIAS, A. A.; BEZERRA, R. M.; PEREIRA, A. N. Activity and elution profile of laccase during biological decolorization and dephenolization of olive mill wastewater. **Bioresource Technology**, v. 92, p. 7–13, 2004.

DOS SANTOS, A. B. **Pré-tratamento de Águas Residuárias de Indústrias Têxteis Empregando o Processo de Lodos Ativados em Batelada**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, Brasil, 2001.

EL-RAHIM, W. M. A.; EL-ARDY, O. A., MOHAMMAD, F. H. A. The effect of pH on bioremediation potential for the removal of direct violet textile dye by *Aspergillus niger*. **Desalination**, v.249, p.1206-1211, 2009.

FACÓ, A. M.; SANTAELLA, S. T.; SAMPAIO, G. M. M. S.; SANTOS, E. M. A. **Tratamento biológico de percolado de aterro sanitário através de processo biológico com fungos**. III Encontro de Pesquisa e Pós-Graduação – CEFET – CE, 2003.

FASANELLA, C. C. **Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”**, Universidade de São Paulo, Brasil, 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**. XVII Simpósio Nacional de Bioprocessos, Natal, 2009.

FITZ-GIBBON, F.; SINGH, D.; McMULLAN, G.; MARCHANT, R. The effect of phenolic acids and molasses spent wash concentration of destillery wastewater remediation by fungi. **Process Biochemistry**, v. 33, p. 799-803, 1998.

FU, Y.; VIRARAGHAVAN, T. Dye biosorption sites in *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**, v. 82, n. 2, p. 139-145, 2002.

FU, Y.; VIRARAGHAVAN, T. Removal of Congo Red from an aqueous solution by fungus *Aspergillus niger*. **Advances in environmental research**, v. 7, p. 239-247, 2002.

GARCIA, I. G., PEÑA, P. R. J., VENCESLADA, J. L. B., MARTIN, A. M., MARTIN, M. A. S., GÓMEZ, E. R. Removal of phenol compounds from olive Mill wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*. **Process Biochemistry**, v. 35, p. 751-758, 2000.

GIFFONI, D. A. Filtros Biológicos aplicado ao tratamento de água residuária sintética de laticínios. Fortaleza. 159p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental), Universidade Federal do Ceará), 2000.

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

HASSEMER, M. E. N.; SENZ, M. L. Tratamento do efluente de uma indústria têxtil. Processo físico-químico com ozônio e coagulação/floculação. **Engenharia sanitária e**

ambiental, v. 7, n. 1, p. 30-36, 2002.

KAPDAN, I. K.; KARGI, F. Biological decolorization of textile dyestuff containing wastewater by *Coriolus versicolor* in rotating biological contactor. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 30, p. 195-199, 2002.

KAUFFMANN, C.; B.R. PETERSEN, B.R.; BJERRUM, MORTEN J. Enzymatic removal of phenols from aqueous solutions by *Coprinus cinereus* peroxidase and hydrogen peroxide. **Journal of Biotechnology**, v.73, p.71-74, 1999.

KHALAF, A. MAHMOUD. Biosorption of reactive dye from textile wastewater by non-viable biomass of *Aspergillus niger* and *Spirogyra* sp. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 6631-6634, 2008.

KHELIFI, E.; AVED, L.; BOUALLAGUI, H.; TOUHAMI, Y.; HAMDI, M.; Effect of nitrogen and carbon sources on Indigo and Congo red descolourization by *Aspergillus alliaceus* strain 121C. **J. Hazardous Materials**., v.163, p. 1056-1062, 2009.

KIM, S. J.; SHODA, M. **Decolorization of molasses and a dye by a newly isolated strain of the fungus *Geotrichum candidum* Dec 1**. Institute of Technology, Japan, 1999.

KNAPP, J. S.; NEWBY, P. S. The descoulorization of a chemical industry effluent by white rot fungi. **Water Research**, v. 33, p. 575-577, 1999.

KUNZ, A.; PERALTA-ZAMOTRA, P.; MORAES, S. G.; DURÁN, N. Novas tendências no tratamento de Efluentes têxteis. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 78-82, 2000.

LEMOS, J. L. S.; BARROS, C. A. OLIVEIRA, S. D., REICHE, A. P. **Fungos Filamentosos: agentes de degradação de petróleo e de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs)**. CETEM/MCT, Série Tecnologia Ambiental, p.58, 2008.

LEVIN, L.; PAPINUTTI, L., FORCHIASSIN, F. Evaluation of Argentinean white rot fungi for their ability to produce lignin-modifying enzymes and decolorize industrial

dyes. **Bioresource Technology**, v.94, n.2, p.169-176, 2004.

LOPES, M. S.; CELESTINO, P.; ANDRADE, M.; MARINHO, G.; RODRIGUES, K. Uso de reator em batelada repetida com biomassa fúngica imobilizada para tratamento de água residuária da indústria de beneficiamento da castanha de caju. **Anais da II Jornada da Produção Científica da Educação Profissional e Tecnológica da Região Sul**, Pelotas, Brasil, 2008.

MARTIRANI, GIARDINA, MARZULLO, SANNIA, Reduction of phenol content and toxicity in olive mill wastewaters with the ligninolytic fungus *pleurotus ostreatus*. **Wat. Res.**, v. 30, n. 8, p. 1914-1918, 1995.

MASAPHY, S.; HENIS, Y.; KRINFELD, B.; LEVANON, D. In-vitro N-de-ethylation of atrazine by cell-free extract of *Pleurotus pulmonarius* is induced by Mn^{2+} . **Biotechnology Letters**, v.19, n.9, p. 861-864, 1997.

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B.; **Bioquímica básica**. 2º ed: Ganabara Koogan, Rio de Janeiro, 1999.

MICHNIEWICZ, A.; LEDAKOWICZ, S.; ULLRICH, R.; HOFRICHTER, M. Kinetics of the enzymatic decolorization of textile dyes by laccase from *Cerrena unicolor*. **Dyes and Pigments**. v. 77, p. 295-302, 2008.

OLIVEIRA, E. C.; SANTAELLA, S. T.; FÉLIX, J. P. L.; LEITÃO, R. C.; MELO, V. M. M. **Phenol degradation by fungi present in oilrefinary wastewaters**. VII Simposio Internazionale di Ingegneria Sanitaria Ambientale. Taormina – Itália. 2004.

OZFER, Y.; ASMA, D.; CING, S. Decolorization of textile dyes by fungal pellets. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 933-938, 2003.

PAPAGIANNI, M., MATTEY, M. Physiological aspects of free and immobilized *Aspergillus niger* cultures producing citric acid under various glucose concentrations. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 1967-1970, 2004.

PAPAGIANNI, M.; MATTEY, M.; KRISTIANSEN, B. The influence of glucose concentration on citric acid production and morphology of *Aspergillus niger* in batch and culture. **Process Biochemistry**, v. 25, p. 710-717, 1999.

PAPAGIANNI, M.; MOO-YOUNG, M. Protease secretion in glucoylase producer *Aspergillus niger* cultures: fungal morphology and inoculum effects. **Process Biochemistry**, v. 37, p. 1271-1278, 2002.

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

PARSHETTI, G. K.; KALME, S. D.; GOMARE, S. S; GOVINDWAR, S. P. Biodegradation of Reactive blue-25 by *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146; **Bioresource Technology**, v.98, n.18, p.3638-3642, 2007.

PASHOVA, S.; SLOKOSKA, L.; SHEREMETSKA, P.; KRUMOVA, E.; VASILEVA, L. ANGELOVA, M. Physiological aspects of immobilized *Aspergillus niger* cells producing polymethylgalacturonase. **Process Biochemistry**, v. 35, p. 15-19, 1999.

PELCZAR, M.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2^a ed. São Paulo: McGraw-Hill. v. I, p.517, 1996.

PESSOA-WANDERLEY, C. R. ***Aspergillus niger* AN 400 como inóculo de reatores em batelada para remoção do corante vermelho do congo em meio aquoso sintético**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, 2007.

PINHEIRO, Z. B.; RODRIGUES, K. A.; PESSOA WANDERLEY. C. R.; ARAÚJO, R. S.; MARINHO, G. Remoção biológica de fenol por uso de reator contínuo com inóculo de *Aspergillus niger*. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.15, n.1, p.47-52, 2010.

PRENAFETA-BOLDÚ, F. X. **Growth of on aromatic hydrocarbons: Environmental technology perspectives**. Thesis Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 2002.

QUINGXIANG, Y.; LINGXIA, T.; MIN, Y.; HAO, Z. Effects of glucose on the decolorization of Reactive black 5 by yeast isolates. **Journal of Environmental Science**, v. 20 p. 105–108, 2008.

RADHA, K. V.; REGUPATHI, I.; ARUNAGIRI, A.; MURUGESAN, T. Decolorization studies of synthetic dyes using immobilized and free cells of *Phanerochate chrysosporium* and their kinetics. **Process Biochemistry**, v.40, p.3337-3345, 2005.

RAO, M. B.; TANKSALE, A. M.; GHATGE, M. S.; DESHPANDE, V. V. Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 6, p. 597–635, 1998.

ROBLES, A.; LUCAS, R.; DE CIENFUEGOS, G. A.; GALVEZ, A. Biomass production and detoxication of wastewaters from the olive oil industry by strains of *Penicillium* isolated from wastewater disposal ponds. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 217-221, 2000.

RODRIGUES, K. A., SANTAELLA, S. T. **Remoção de DQO por biodegradação fúngica em água residuária sintética de laticínios**. In: WETLAND, E., SCHALCH, V. Pesquisas em meio ambiente: subsídios para gestão de políticas públicas, v. 2, São Carlos: Rima, 2003.

RODRIGUES, K. A. **Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética**. Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo, Brasil, 2006.

RODRIGUES, K. A.; ZAIAT, M.; SAMPAIO, G. M. M. S.; SANTAELLA, S. T. **Redução da concentração de fenol em água residuária sintética em reatores biológicos com fungos**. VI Simpósio Luso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. CD rom. Natal - RN, 2004.

RODRIGUES, K. A.; VIDAL, C. B.; Barbosa, B. C. A.; PESSOA, C. R.; DUARTE, I. S.; Marinho, G. Viabilidade do tratamento de água residuária sintética têxtil em reator aeróbio de leito fixo. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 15, p. 99-106, 2010.

RYAN, D.; LEUKES, W.; BURTON, S. *Improving the bioremediation of phenolic*

wastewaters by Trametes versicolor. **Bioresource Technology**. v. 98. P. 579–587, 2006.

SÁ, I.M.B. **Biotratamento de efluente de uma indústria de laticínios por ação de fungos decompositores**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, 1997.

SAMPAIO, G. M. M. S., SANTOS, E. 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. **Remoção de metil paration e atrazina em reatores de bancada com fungos**. Tese Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo, Brasil, 2005.

SANTAELLA, S. T. **Estudos de tecnologias apropriadas para tratamento de efluentes da indústria de castanha de caju**. Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, p.31. (Relatório Institucional de Pesquisa), 1997.

SANTAELLA, S. T. **Estudos de tecnologias apropriadas para tratamento de efluentes da indústria de castanha de caju**. Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, p.31. (Relatório Institucional de Pesquisa), 1999.

SANTAELLA, S. T.; JÚNIOR, F.; GADELHA, D.; COSTA, K.; AGUIAR, R.; ARTHAUD, I.; LEITÃO, R. **Eng. Sanitária Ambiental**, v. 14, n. 1, p. 139, 2009.

SANTOS, E. M. A.; SAMPAIO, G. M. M. S.; LEITÃO, R. C.; FACÓ, A. M.; MENEZES, E. A., SANTAELLA, S. T. 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 e Ambiental**, v.11, n.1, p.39-45, jan./mar. 2006.

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**. III Encontro de Pesquisa e Pós-Graduação, CEFET–CE, 2003.

SHARMA, P., SINGH, L., DILBAGHI, N. Response surface methodological approach for the decolorization of simulated dye effluent using *Aspergillus fumigatus fresenius*. **J. Hazard. Mater**, v.161, p.1081-1086, 2009.

SILVA, K. M. L. **Biodegradação de corante AZO em meio sintético por *Aspergillus Níger* AN400 em reatores em batelada**. Trabalho de Conclusão de Curso, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Brasil, 2009.

SILVA FILHO, H. A. **Tratamento de água residuária de indústria têxtil com fungos**. Trabalho de Conclusão de Curso, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Brasil, 2006.

SINGH, H. **Mycorremediation**; John Wiley & Sons, New Jersey, 2006.

TRABUSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMTERTZ, O. S.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. São Paulo. Editora Ateneu, v.3, p.588, 1999.

TSIOULPAS, A.; DIMOU, D.; ICONOMOU B, D.; AGGELIS, G. Phenolic removal in olive oil mill wastewater by strains of *Pleurotus spp.* in respect to their phenol oxidase (laccase) activity. **Bioresource Technology**, v. 84, p. 251–25, 2002.

VAN DER ZEE, F.; VILLAVERDE, S. Combined anaerobic–aerobic treatment of azo dyes - A short review of bioreactor studies. **Water Research**, v.39, p.1425-1440, 2005.

VASSILEV, N.; FENICE, M.; FEDERICI, F.; AZCON, R. Olive mill waste water treatment by immobilized cells os *Aspergillus niger* and its enrichment with soluble phosphate. **Process Biochemistry**, v. 32, p. 617-620, 1997.

VICINGUERRA, V.; D’ANNIBALE, A.; GACS-BAITZ, E.; DELLE MONACHE, G. GIOVANNOZZI SERMA, G. Correlated effects during bioconversion of waste olive mater by *Lenitula edodes*. **Bioresourse Technology**, v. 51, p. 221-226, 1995.

VOLKE-SPULVEDA, T. L.; GUTIERREZ-ROJAS, M.; FAVELA-TORRES, E.

Biodegradation of hexadecane in liquid and solid-state fermentations by *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**, v. 87, pp. 81-86, 2003.

ZAMORA, P. P.; KUNZ, A.; MORAES, S. G.; DURÁN, N. **Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis**. Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná e Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas – SP, 2001.

ZHANG, Y.; VAN DER BRUGGEN, B.; CHEN, G. X.; BRAEKEN, L. VAN DE CASTEELE, C. Removal of pesticides by nanofiltration: effect of the water matrix. **Separation and Purification Technology**, v.38, p.163, 2004