



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA E GESTÃO AMBIENTAL

REINALDO FONTES CAVALCANTE

DEGRADAÇÃO DE ALQUILBENZENO SULFONATO LINEAR POR FUNGO
Aspergillus niger AN 400.

FORTALEZA

2014

REINALDO FONTES CAVALCANTE

DEGRADAÇÃO DE ALQUILBENZENO SULFONATO LINEAR POR FUNGO
***Aspergillus niger* AN 400.**

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

Orientadora: Prof. Dra. Glória Maria Marinho Silva

Coorientador: Prof. Dr. Rinaldo dos Santos Araújo

FORTALEZA

2014

C376d Cavalcante, Reinaldo Fontes .
Degradação de Alquibezeno Sulfonato Linear por Fungo
Aspergillus niger AN 400 / Reinaldo Fontes Cavalcante. - Fortaleza:
IFCE, 2014.
84f.

Dissertação (Mestrado Gestão Ambiental).
Orientadora : Prof. Dra. Glória Maria Marinho Silva

1.SURFACTANTE. 2. FUNGO. 3. BIORREMEDIAÇÃO I. Título.

CDD 628

REINALDO FONTES CAVALCANTE

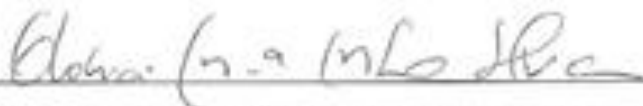
DEGRADAÇÃO DE ALQUILBENZENO SULFONATO LINEAR POR FUNGO

***Aspergillus niger* AN 400.**

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

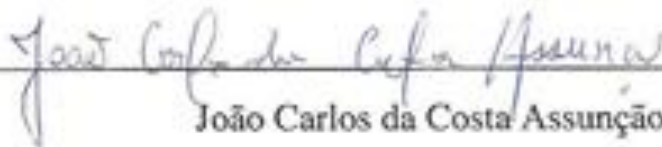
Aprovada em 25/07/14

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Glória Maria Marinho Silva (Orientadora)

Instituto Federal do Ceará - IFCE



João Carlos da Costa Assunção

Instituto Federal do Ceará - IFCE



Prof. Dr. Francisco José Freire de Araújo

Universidade de Fortaleza – UNIFOR

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a Deus, autor de minha existência, pela oportunidade e graça de viver momentos felizes, como a participação e conclusão deste trabalho.

À minha família, que de forma carinhosa me proporcionaram a força e motivação adequada, nos momentos certos, para o término desta jornada.

À minha orientadora professora Glória Marinho pela compreensão, suporte e carinho e zelo na condução e encaminhamento desta pesquisa, meu muito obrigado.

Ao professor e coorientador Rinaldo dos Santos Araújo pelo suporte, contribuições e conselhos importantes, por gentilmente ceder os padrões de LAS e a estrutura do LTQ (Laboratório de Tecnologia Química) para a execução das análises do HPLC desta pesquisa.

À professora Kelly Rodrigues por ceder a estrutura do LATAM (Laboratório de Tecnologia Ambiental) para as primeiras etapas do experimento e pelas sementes de *Aspergillus niger* AN 400.

À minha amiga Bárbara Barbosa pela ajuda, parceria e contribuição significativa nas etapas iniciais dos experimentos.

Aos bolsistas, Jorge Alisson, Geison Mesquita, Luciane Mara, Bárbara Costa e Carine Monte pela suporte operacional essencial para o êxito nos resultados da pesquisa.

Ao IFCE, Campus de Quixadá, pela compreensão, flexibilização de carga horária e apoio para viabilização do projeto de pesquisa no LAMIR (Laboratório de Microbiologia).

À CAPES e ao CNPQ pelo suporte e financiamento do projeto de pesquisa.

Aos professores participantes da banca julgadora com contribuições importantes para o melhoramento deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram com a finalização de um ciclo importante em minha vida profissional e pessoal. Muito obrigado.

RESUMO

Devido ao reconhecido poder de degradação ao ambiente do surfactante, Alquilbenzeno Sulfonato Linear, o presente estudo objetivou avaliar a eficiência da remoção do surfactante em reatores operados em regime de bateladas com biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 e biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400. A pesquisa ocorreu em três etapas distintas: Teste de toxicidade; Operação de reatores em batelada com biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400; Operação de reatores em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400. No teste de toxicidade foram utilizados placas de Petri inoculadas com a espécie fúngica na presença do poluente nas concentrações de 5; 10; 15; 20 e 30 mg.L⁻¹. Três reatores foram operados em batelada, por um período de 30 dias, com utilização de biomassa dispersa e um volume de 45 litros: Um reator Controle, um reator Fúngico e um reator Fúngico adicionado com 1 mg.L⁻¹ de Glicose, nas concentrações de 15 e de 30 mg.L⁻¹ de surfactante. Um reator com o volume de 4,5 litros foi utilizado para a operação de bateladas sequenciais repetidas com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400, em espuma de poliuretano, em concentrações iniciais de 15 e 30 mg.L⁻¹ de Alquilbenzeno Sulfonato Linear em 3 ciclos de 7 dias, seguida de 3 ciclos de 48 h. Durante a realização do teste de toxicidade não foi visualizado inibição ao desenvolvimento da espécie fúngica estudada pela presença do surfactante nas concentrações de 5, 10, 15, 20 e 30 mg.L⁻¹. A operação dos reatores em batelada com utilização de biomassa fúngica dispersa apresentaram valores de remoção do surfactante com 15 mg. L⁻¹ na ordem de 76,4%; 51,2% e 37,8% e com 30 mg.L⁻¹ de surfactante de 65,3%; 54,8% e 34,5% para os reatores Fungo e Glicose, reator Fúngico e o reator Controle, respectivamente. Já os reatores operados em Bateladas Sequenciais Repetidas em ciclos de sete dias se observaram valores de remoções do poluente de 38,2; 39,4 e 37,8% com concentração inicial de 15 mg.L⁻¹ e de 46, 48,2 e 48,5 %, para uma concentração inicial de surfactante de 30 mg.L⁻¹ nos ciclos 01, 02 e 03, respectivamente. Quando operados em ciclos de dois dias foi observado uma remoção de surfactante de 25,3; 31,3; 24,6% em 15 mg.L⁻¹ de surfactante e uma remoção de 28; 25,1 e 32,3% para uma concentração inicial de 30 mg.L⁻¹ de surfactante nos ciclos 01, 02 e 03 respectivamente. Assim, foi possível perceber o significativo poder de degradação da espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 ao surfactante Alquilbenzeno Sulfonato Linear, em especial nos ciclos de 07 dias com biomassa imobilizada, contribuindo para uma maior difusão da tecnologia fúngica na bioremediação de efluentes domésticos e industriais.

Palavras-chave: Surfactante. Fungo. biorremediação.

ABSTRACT

Due to the recognized power of the degradation of the surfactant environment, Linear Alkyl Benzene Sulfonate, this study aimed to evaluate the efficiency of removal of surfactant in reactors operated in batch regime with dispersed biomass of *Aspergillus niger* AN 400 and immobilized *Aspergillus niger* biomass AN 400. The research took place in three distinct stages: toxicity Test; Operation of batch reactors with dispersed *Aspergillus niger* AN 400 biomass; Operation sequencing batch reactors with immobilized *Aspergillus niger* biomass AN 400 in toxicity test Petri dishes inoculated with a fungal species of the pollutant in the presence of 5 concentrations were used; 10; 15; 20; 30 mg.L⁻¹. Three reactors were operated batchwise over a period of 30 days, with biomass and dispersed using a volume of 45 l: A reactor control, a fungal reactor and reactor Fungal added with 1 mg l⁻¹ Glucose concentrations 15 and 30 mg.L⁻¹ of surfactant. A reactor with a 4.5 liter volume was used for the sequencing batch operation repeated with biomass immobilized *Aspergillus niger* AN 400, in polyurethane foam, in the initial concentrations after 15 and 30 mg.L⁻¹ for Linear Alkylbenzene Sulfonate 3 cycles of 7 days, followed by 3 cycles of 48 h. During the toxicity test was visualized inhibiting the development of fungal species studied for the presence of the surfactant at concentrations of 5, 10, 15, 20 and 30 mg.L⁻¹. The operation of batch reactors using dispersed fungal biomass values showed removal of the surfactant with 15 mg.L⁻¹ in the order of 76.4%; 51.2% and 37.8% with 30 mg.L⁻¹ surfactant 65.3%; 54.8% and 34.5% for Fungus and Glucose reactors, reactor and the reactor Fungal Control, respectively. Already reactors operated in Sequential Batch Repeated cycles of seven days in values of pollutant removals of 38.2 were observed; 39.4 and 37.8% with initial concentration of 15 mg.L⁻¹ and 46, 48.2 and 48.5% for an initial surfactant concentration of 30 mg.L⁻¹ for 01 cycles, and 02 03, respectively. When operated in cycles two days removal of the surfactant was observed 25.3; 31.3; 24.6% at 15 mg.L⁻¹ and a surfactant removal 28; 25.1 and 32.3% for an initial concentration of 30 mg.L⁻¹ surfactant 01 cycles, 02, and 03, respectively. Thus, it was possible to realize significant power degradation of the fungal species *Aspergillus niger* AN 400 the surfactant sulfonate Linear Alkyl Benzene, especially in cycles of 07 days with immobilized biomass, contributing to the wider development of fungal bioremediation technology in domestic and industrial effluents.

Keywords: Surfactant. Fungus. bioremediation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	-	Fórmula estrutural do LAS (Alquilbenzeno Sulfonato Linear).....	17
Figura 02	-	Rota de degradação aeróbia do surfactante LAS.....	24
Figura 03	-	Operação dos reatores em batelada utilizando biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400.....	29
Figura 04	-	Operação dos reatores em batelada utilizando biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400.....	36
Figura 05	-	Placas inoculadas com <i>Aspergillus niger</i> AN 400 e o poluente LAS nas concentrações de 5 a 30 mg.L ⁻¹ do poluente 3º dia de cultivo.....	38
Figura 06	-	Placas inoculadas com <i>Aspergillus niger</i> AN 400 e o poluente LAS nas concentrações de 5 a 30 mg.L ⁻¹ do poluente 5º dia de cultivo.....	39
Figura 07	-	Placas inoculadas com <i>Aspergillus niger</i> AN 400 e o poluente LAS nas concentrações de 5 a 30 mg.L ⁻¹ do poluente 7º dia de cultivo.....	39
Figura 08	-	Monitoramento de matéria orgânica, expressa em DQO, em reatores em batelada com 15 mg.L ⁻¹ ,utilizando biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 40.....	41
Figura 09	-	Comportamento do pH ao longo de batelada aerada, com utilização biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	42
Figura 10	-	Comportamento da remoção de LAS em reatores em batelada aerada, com utilização de biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com concetração de 15 mg.L ⁻¹ do surfactante.....	43
Figura 11	-	Comportamento da remoção de Amônia ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	45
Figura 12	-	Comportamento da remoção de nitrito ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	46
Figura 13	-	Comportamento da remoção de nitrato ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	47
Figura 14	-	Comportamento da remoção de sulfato ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400,	

	com 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	48
Figura 15	- Monitoramento de matéria orgânica, expressa em DQO, em reatores em batelada com 30 mg.L ⁻¹ ,utilizando biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400.....	49
Figura 16	- Comportamento do pH ao longo de batelada aerada, com utilização biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	50
Figura 17	- Comportamento da remoção de LAS em reatores em batelada aerada, com utilização de biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com concetração de 15 mg.L ⁻¹ do surfactante.....	51
Figura 18	- Comportamento da remoção de Amônia ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	53
Figura 19	- Comportamento da remoção de Nitrito ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	53
Figura 20	- Comportamento da remoção de Nitrato ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	54
Figura 21	- Comportamento da remoção de Sulfato ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	55
Figura 22	- Teste de Adsorção no material suporte do restor da RBS nas concentrações de 15 mg.L ⁻¹ e 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	56
Figura 23	- Comportamento de materia orgânica, sob a forma de DQO bruta, em batelada sequenciais, utilizando biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com concentração de 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	57
Figura 24	- Comportamento de materia orgânica, sob a forma de DQO filtrada, em bateladas sequenciais, utilizando biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com concentração de 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	58
Figura 25	- Variação da concentração de pH em bateladas sequenciais, utilizando utilizando biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com concentração de 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	58

Figura 26	- Variação da concentração de Amônia em bateladas sequenciais, utilizando utilizando biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com concentração de 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	58
Figura 27	- Comportamento da remoção de nitrito ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	59
Figura 28	- Variação da concentração de Nitrato em bateladas sequenciais, utilizando utilizando biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com concentração de 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	60
Figura 29	- Variação da concentração de Sulfato em bateladas sequenciais, utilizando utilizando biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com concentração de 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	61
Figura 30	- Variação da concentração do Surfactante LAS em bateladas sequenciais, utilizando biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com uma concentração inicial de 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	62
Figura 31	Operação do reator em Bateladas Sequeunciais Repetidas e a intensa produção de biomassa ao longo da operação.....	64
Figura 32	- Comportamento da remoção de DQO bruta ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	65
Figura 33	- Comportamento da remoção de DQO filtrada ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 30 mg. L ⁻¹ de LAS.....	65
Figura 34	- Comportamento da remoção de pH ao longo de batelada com utilização de biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com a concentração de 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	66
Figura 35	- Comportamento da remoção do surfactante LAS ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	67
Figura 36	- Comportamento da remoção de Amônia ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	68
Figura 37	- Comportamento da remoção de Nitrito ao longo de batelada aerada,	

	com utilização de biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	68
Figura 38	- Comportamento da remoção de Nitrato ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	69
Figura 39	- Comportamento da remoção de sulfato ao longo de batelada aerada, com utilização de biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	69
Figura 40	- Comportamento de remoção de LAS em bateladas sequenciais repetidas em ciclos de 48h com 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	70
Figura 41	- Comportamento de remoção de LAS em bateladas sequenciais repetidas em ciclos de 48 h com 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	-	Composição do Vishniac.....	32
Tabela 02	-	Composição da água residuária sintética.....	33
Tabela 03	-	Remoção de matéria orgânica bruta ao longo de batelada aerada com biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400 com concentração de 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	44
Tabela 04	-	Comportamento de remoção de LAS ao longo de batelada aerada com biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, com uma concentração inicial de 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	50
Tabela 05	-	Comportamento da remoção de LAS em % ao longo da batelada aerada com biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400.....	52
Tabela 06	-	Comportamento da remoção LAS em % ao longo de bateladas sequencias, com biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400.	62
Tabela 07	-	Comparativo das taxas de remoção LAS em % entre as etapas II e III da pesquisa.....	63
Tabela 08	-	Comparativo de eficiência na operação de reatores em Bateladas Sequenciais Repetidas	72

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DQO	Demanda química de Oxigênio
EU-TGD	Technical guidance Document
IFCE	Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará
LAMIR	Laboratório de microbiologia
LAS	Alquilbenzeno sulfonato linear
LATAM	Laboratório de Tecnologia Ambiental
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
PAH	Hidrocarboneto poliaromático
PEC	Concentração de poluente estudada no solo ou água
PNEC	Concentração mínima da qual na se observa danos ao ambiente
RALF	Reator Anaerobio de leito fluidizado
RALHF	Reator Anaerobio de leito horizontal fluidizado
RBS	Bateladas Sequenciais Repetidas
RC	Reator Controle
RF	Reator com Fungo na ausência de Glicose
RFG	Reator com Fungo adicionado com 1g/L de Glicose
RQ	Coeficiente de risco
SAAM	Substâncias que reagem com o Azul de Metileno
SDS	Dodecilbenzeno sulfonato de sólido
SEMACE	Secretaria do meio Ambiente do Ceará
TDH	Tempo de Detenção hidráulica
UASB	Upflow anaerobic sludge blanket
USEPA	United States Environmental Protection Agency

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	OBJETIVOS.....	14
2.1	Objetivo Geral.....	14
2.2	Objetivo Específico.....	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3.1	Os Sabões e detergentes.....	15
3.2	O Alquilbenzeno sulfonato linear	16
3.2.1	<i>Efeitos ambientais adversos ao surfactante LAS</i>	17
3.2.2	<i>Efeitos tóxicos do LAS em ambientes aquáticos</i>	17
3.2.3	<i>Efeitos tóxicos LAS em ambientes terrestres</i>	19
3.3	Mecanismos de tratamento para remoção do LAS.....	22
3.3.1	<i>Mecanismos para a remoção química do LAS</i>	22
3.3.2	<i>Mecanismos para a remoção biológica do LAS</i>	23
3.4	Legislações relacionadas ao surfactante LAS.....	25
3.5	Os fungos.....	26
3.6	Tratamento de águas residuárias com fungo	28
4	MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1	Cultivo do <i>Aspergillus niger</i> AN 400	32
4.2	Inóculo	32
4.3	Composição da água residuária sintética	33
4.4	Teste de toxicidade em placas	33
4.5	Ensaio em reator biológico Aerado utilizando biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400.....	33
4.6	Ensaio em bateladas sequenciais repetidas (RBS) utilizando biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400	34
4.6.1	<i>Teste de Adsorção do material suporte ao surfactante LAS nas concentrações de 15 mg.L⁻¹ e 30 mg.L⁻¹</i>	35
4.6.2	<i>A imobilização da biomassa de Aspergillus niger AN 400</i>	35
4.6.3	<i>Montagem e operação do reator em regime RBS</i>	35
4.7	Métodos a serem utilizados para a determinação das variáveis	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38

5.1	Teste de toxicidade Etapa 01	38
5.2	Reator em batelada com utilização de biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400 Etapa 02.....	41
5.2.1	Operação dos Reatores em batelada com biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400 com 15 mg.L ⁻¹ de LAS	41
5.2.2	Operação dos Reatores em batelada com biomassa dispersa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400 com 30 mg.L ⁻¹ de LAS	49
5.3	Bateladas sequenciais repetidas (RBS) com biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400 com 15 e 30 mg.L ⁻¹ de LAS Etapa 03	55
5.3.1	Teste de Adsorção do surfactante ao material suporte em concentrações de 15 e 30 mg.L ⁻¹ de LAS	55
5.3.2	RBS com biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400 com 15 mg.L ⁻¹ de LAS.....	66
5.3.3	RBS com biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400 com 30 mg.L ⁻¹ de LAS.....	64
5.3.4	RBS com biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400 ciclos de 48 h.....	70
6	CONCLUSÃO	73
	REFERÊNCIAS.....	74

1 INTRODUÇÃO

O início do século XXI é marcado por grandes preocupações e profundas reflexões sobre nosso estilo de vida extremamente agressor e parasitário dos recursos naturais existentes no globo. Fatores como disponibilidade de água, alimento, energia, minérios e madeira têm conduzido a humanidade a passos largos para um colapso ambiental como nunca visto e a uma situação de escassez extrema de recursos indispensáveis a manutenção da vida na Terra. Desta maneira a diminuição da pressão sobre os fatores que diminuem a qualidade ambiental de uma determinada localidade se torna um ponto estratégico para o alcance do desenvolvimento de uma região (MUNGRAY; KUMAR, 2009).

Nas últimas décadas, presenciou-se um crescimento de forma exponencial na produção mundial de sabões, detergentes e outros produtos de limpeza, que devido as novas necessidades da sociedade moderna e os avanços tecnológicos, agregaram a suas composições moléculas e mecanismos mais complexos visando atingir maiores eficiências na retirada de materiais específicos, diminuição do tempo de remoção, preservação de objetos e estruturas.

O atendimento a estas necessidades pelo tensoativo LAS (Alquilbenzeno Sulfonato Linear) associados ao seu baixo custo de produção fez do LAS o surfactante aniônico mais utilizado em todo o globo (GARCIA-LUQUE *et al.* 2009).

De acordo com Boluda-Botela *et al.* (2010) estes surfactantes se tornaram substâncias essenciais para as indústrias de limpeza, petroquímicas, alimentícias, de cosméticos e de biotecnologia, participado ativamente em processos de catálise, lubrificação, flotação, permeação de membranas, desnaturação de proteínas e encapsulamento de fármacos.

Com o crescimento do uso dos surfactantes, crescem também as preocupações com a destinação final destes efluentes domésticos e industriais, ricos em sabões e detergentes, exigindo das ETEs (Estações de tratamento de Esgoto) configurações mais específicas para o tratamento desta natureza (CASTRO *et al.*, 2013).

Em geral, efluentes com elevadas concentrações de surfactantes apresentam em sua composição relevantes concentrações de nutrientes como nitrogênio e fósforo, elementos essenciais para o crescimento dos organismos. Estes elementos são capazes de causar desequilíbrio das relações ecológicas dos corpos aquáticos, trazendo prejuízos ao saudável desenvolvimento da biota aquática. Esses problemas estão relacionados ao índice de trofia dos corpos aquáticos, variações no pH, no nível de oxigênio dissolvido e na tensão superficial da água (TELLES, 2010).

A partir desta preocupação podemos observar, nas legislações ambientais ao longo do globo, níveis de tolerância a estas substância cada vez mais restritivos, como de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de surfactante aniônico na resolução de nº 357/2005 do CONAMA no Brasil e de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ de surfactante aniônico na USEPA/2005.

O estudo de tecnologias relacionadas com a biorremediação para o tratamento de águas residuárias domésticas e industriais tem crescido nas últimas décadas. Dentre estas tecnologias o uso de fungos para o tratamento de compostos persistentes e de difícil degradação tem obtido resultados promissores nos últimos anos (RODRIGUES; MARINHO, 2012).

Segundo Rodrigues (2012) os fungos tem apresentado vantagens relacionadas como a produção de uma grande variedade de enzimas como proteases, celulasas, linguinases, lactases, o que tem potencializado a degradação de organopoluentes. Estes organismos têm respondido de maneira satisfatória a variações de pH, temperatura e umidade como também a variações nas concentrações de matéria orgânica e de oxigênio dissolvido. Desta forma os reatores fúngicos têm demonstrado a viabilidade necessária para estudos mais aprofundados sobre o tratamento de águas residuárias e a degradação de uma variedade de compostos inerentes aos processos produtivos.

Assim, este trabalho objetivou o estudo do uso da linhagem *Aspergillus niger* AN 400 na degradação do surfactante, Alquilbenzeno Sulfonato Linear (LAS), na operação de reatores em batelada utilizando biomassa fúngica dispersa e imobilizada.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Verificar a eficiência da linhagem *Aspergillus niger* AN 400 em reatores operados em regime de batelada na degradação de LAS (Alquilbenzeno Linear Sulfonato).

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar a eficiência do *Aspergillus niger* AN 400 na degradação de LAS utilizando um reator aeróbico com biomassa dispersa em regime de batelada.
- Verificar a eficiência do *Aspergillus niger* AN 400 na degradação de LAS utilizando um reator aeróbico em regime de batelada sequencial utilizando biomassa imobilizada.
- Estudar a influência da glicose na degradação do LAS em reatores em batelada utilizando biomassa dispersa e imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400.
- Otimizar o melhor tempo de retenção celular para a degradação do LAS em reatores em batelada.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Os Sabões e Detergentes

Os sabões e detergentes se constituem como elemento essencial ao estilo de vida moderno. Os primeiros relatos de sua utilização datam da antiguidade, como menções de seu uso no Antigo Egito e nas civilizações babilônicas, todos oriundos de origem animal. Estes produtos e suas formulações passaram pelos séculos com suas composições praticamente inalteradas até a segunda década do século XX, quando em 1916 motivados pela carência de gordura animal por conta da primeira guerra mundial, a Alemanha produziu o primeiro surfactante sintético onde se buscava a formulação de um composto com propriedades que viabilizassem a limpeza e ainda fosse capaz de resistir a combinação e dissolução com sais presentes nas águas (MUNGRAY; KUMAR, 2008).

Estes compostos passaram a ser produzidos em larga escala na Europa e ganharam o mercado Mundial na década de 1930. Eram utilizados principalmente na lavagem e higienização de tecidos e louças. Os Estados Unidos produziram em 1946 a primeira versão de detergentes reforçados. Estes produtos continham em suas formulações surfactantes e um adjuvante, o tripolifosfato de sódio. Com os avanços das pesquisas na combinação de produtos com propriedades removedoras, suas composições sofriam modificações dependendo de seu objetivo de uso, podendo conter: abrasivos, adjuvantes, agentes de branqueamento, agentes antimicrobianos, corantes, conservantes, controladores de espuma, enzimas, perfumes, além dos surfactantes (BECAGLI *et al.*, 2011).

Os surfactantes constituem um grupo de substâncias químicas de significativa relevância econômica no cenário mundial, seus usos variam desde o doméstico nos produtos de limpeza pessoal, lavagem de roupas, louças, e outros objetos, passando pelas industriais nas atividades que utilizam algum tipo de lavagem em sua linha de produção como exemplo as indústrias têxteis, papel e celulose, pintura, formulação de pesticidas, fármacos, e etc (TUBAU *et al.*, 2010).

Estas substâncias químicas possuem em sua estrutura dois grupamentos de átomos com características distintas: um grupamento polar, facilitando sua interação com a água e um grupamento apolar, facilitando sua interação com gorduras e outros, combinando assim na mesma molécula grupos denominados hidrofílicos e hidrofóbicos. O grupo apolar é formado por uma cadeia de hidrocarbonetos que pode ser linear ou ramificada e contém em geral de 8 a 20 átomos de carbono (MUNGRAY; KUMAR, 2008).

Os surfactantes podem ser classificados quanto aos radicais hidrofílicos em: catiônicos, quando possuem carga positiva; aniônicos quando possuem carga negativa; não iônicos quando não possuem carga e anfóteros, possuem em sua molécula um átomo de nitrogênio com carga positiva (BAUTISTA *et al.*, 2014).

A classe dos surfactantes aniônicos é a classe mais empregada nas atividades domésticas e industriais. Atuam na emulsificação de substâncias hidrofóbicas como óleos e gorduras sendo subdivididos em carboxilados, sulfatos, sulfonatos e fosfatos. O LAS o (Alquilbenzeno Sulfonato Linear) o grupo comercialmente mais representativo atingindo valores de produção mundial da ordem dos 18 milhões de toneladas por ano (SAGONG *et al.*, 2013).

Os surfactantes catiônicos apresentam um diminuto poder de detergência sendo mais utilizados nas formulações de amaciantes, germicidas e emulsificantes específicos, seu principal representante são os haletos de trimetilamônio quaternário (YIN *et al.*, 2011).

Os surfactantes anfóteros possuem grupos aniônicos e catiônicos ao longo de sua estrutura, podem ser utilizados em combinação com os aniônicos ou catiônicos e possuem utilização limitada. As betaínas são os principais anfóteros (YIN *et al.*, 2011).

Os surfactantes não iônicos possuem uma parte mais polar que a outra e são conhecidos pela atividade superficial de toda a molécula. Geralmente são utilizados em detergentes em pó e líquidos combinados com os aniônicos, sendo seus principais representantes os alquil fenólicos, etoxilados, esterres, carboxílicos, poliglicólicos e as aminas graxas (TUBAU *et al.*, 2010).

As configurações moleculares, descritas anteriormente, permitem a estas substâncias um maior contato com os objetos e estruturas a serem removidos devido a propriedades como: capacidade de diminuir a tensão superficial da água, emulsificar gorduras e formar micelas. Desta maneira, para se elevar a variedade de compostos que podem ser removidos é comum nos produtos de limpeza a existência de mais de uma classe de surfactante melhorando o desempenho de suas funções (GONZALES *et al.*, 2012).

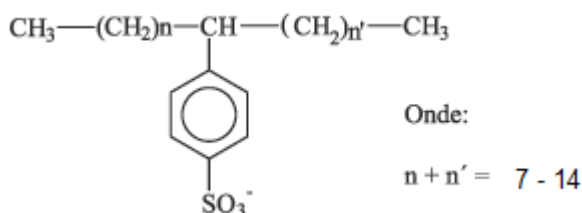
3.2 Alquilbenzeno sulfonato linear

O alquilbenzeno sulfonato linear (LAS) é o surfactante mais utilizado em todo o mundo representando cerca de 40% de todo o surfactante comercializado no globo. O composto foi introduzido no mercado em 1964 com o objetivo de substituir o tetrapropilbenzeno sulfonato ou Alquilbenzeno Sulfonato de Sódio (ABS), que apresentava

cadeia carbônica muito ramificada e muito resistente a degradação microbiana, pois são poucos os micro-organismos capazes de romper as ligações de carbonos quaternários (OLIVEIRA, 2010a).

O LAS comercial é constituído de uma mistura de vários homólogos e isômeros de posição de cadeias alquiladas lineares, com a quantidade de carbono variando principalmente entre 10 e 14 átomos. Na parte hidrofílica se observa um anel aromático sulfonato na posição *-para* ligado a cadeia linear alquil. Esta ligação pode aparecer em qualquer posição na cadeia linear com exceção dos carbonos localizados nas extremidades da cadeia alquílica como observado na Figura 01 (KONNERCKR, 2011).

Figura 01 - Fórmula estrutural do LAS (Alquilbenzeno Sulfonato Linear).



Fonte: Oliveira *et al.* (2010)

3.2.1 Efeitos ambientais adversos do surfactante LAS

Os surfactantes estão entre os principais constituintes orgânicos presentes nos efluentes das atividades antrópicas. São encontrados em concentrações suficientes para causar efeitos toxicológicos e afetar a dinâmica de ecossistemas aquáticos e terrestres.

Entre os principais impactos ambientais associados aos surfactantes, e ao LAS de maneira específica, são listadas de acordo com os trabalhos de Wibbertmann *et al.* (2011):

- Formação de espumas, que causam poluição visual e inibem o processos de depuração dos corpos aquáticos além de facilitar a difusão de impurezas e micro-organismos;
- Diminuição das trocas gasosas entre a atmosfera e a superfície aquática pela formação de uma película isolante na superfície da água;
- Relativa toxicidade a organismos aquáticos e terrestres relacionados com sua persistência no ambiente;

Os surfactantes têm sua toxicidade relacionada com o comprimento da cadeia alquílica apolar e com o tipo de grupamento polar ligado a cadeia. Cadeias alquílicas mais longas e/ou ramificadas, tem tido reconhecidamente efeitos mais severos, provocando destruição da membrana celular e desnaturação de proteínas. Na molécula do surfactante LAS

a posição do anel aromático mais próximo a extremidade da cadeia alquílica potencializa esta toxicidade (OLIVEIRA, 2010b).

Segundo Garcia *et al.* (2009) a desnaturação das proteínas ocorrem devido à natureza dos componentes das membranas plasmáticas dos organismos, lipídeos e proteínas, enfraquecendo a principal estrutura de proteção de organismos mais simples. Apresentam também alterações na fosforilação oxidativa e alterações estruturais das mitocôndrias, estas alterações variam com o número de carbonos presentes nas moléculas. Os autores também destacam as alterações nos mecanismos de absorção de potássio e na replicação de DNA de leveduras, observadas quando expostas a presença de surfactantes aniônicos como o LAS.

3.2.2 Efeitos Tóxicos do surfactante LAS nos ambientes Aquáticos

Os surfactantes se configuram como um dos componentes dos efluentes domésticos e industriais. Estes efluentes, nem sempre passam por um sistema de tratamento adequado para a remoção dos tensoativos, chegando aos corpos aquáticos de uma região. Estudos para a verificação dos efeitos tóxicos dos surfactantes nos ambientes aquáticos tem recebido atenção especial, por parte das autoridades ambientais de muitos países como Reino Unido, Rússia e Bélgica. Seu relevante valor estratégico tem sido evidenciado pelos mais intensos debates em várias partes do globo neste início de século XXI (ROSLAN *et al.*, 2010).

A intensidade dos efeitos tóxicos dos surfactantes varia de acordo com fatores como: classe do surfactante, tempo de exposição (aguda ou crônica), dinâmica do ecossistema natural e tipo de organismo exposto. Sendo o LAS o principal tensoativo comercializado no planeta, os estudos sobre os efeitos tóxicos a sua exposição são de significativo interesse para a manutenção da sanidade dos ambientes aquáticos de uma região, pois a substância pode percorrer grandes distâncias com a interligação de sub-bacias hidrográficas e do uso comum das águas dos corpos hídricos receptores das Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) nos reservatórios de águas para abastecimento em trechos mais abaixo do curso dos rios.

Entre os principais efeitos a exposição crônica ao LAS incluem retardamento do crescimento, variações nos comportamentos alimentares e inibição de órgãos quimiorreceptores a diversos micro-organismos aquáticos e terrestres. De acordo com os estudos de Wibertman *et al.* (2011) os efeitos subletais de surfactantes catiônicos são menos severos quando comparados ao efeitos dos surfactantes aniônicos, onde os efeitos e os parâmetros comportamentais se situam entre 0,002 mg.L⁻¹ a 40 mg.L⁻¹.

Existem elementos capazes de aumentar os efeitos da toxicidade dos detergentes, tais como as espumas, branqueadores e corantes. Segundo Garcia-Luque *et al.* (2009) o surfactante LAS teve sua toxicidade elevada em 50,7% com a adição destes elementos em uma concentração de $7,8 \text{ mg.L}^{-1}$, o teste foi realizado com o organismo *Cerodaphnia dubia*. Os autores destacam os crustáceos dafnídeos, organismos importantes na cadeia alimentar dos ambientes aquáticos, como um dos mais sensíveis aos surfactantes e por isso estão entre as espécies mais utilizadas nos ensaios toxicológicos. Quanto ao surfactante LAS, em uma concentração de $1,22 \text{ mg.L}^{-1}$ já foram percebidas seus efeitos tóxicos ao crustáceo.

De acordo com Mungray e Kumar (2008), nos peixes o contato com o surfactante ocorre principalmente nas brânquias, devido a sua grande área de contato e a presença de um fino epitélio branquial. O contato proporciona a formação e secreção de muco e por consequência a diminuição das taxas respiratórias, além de espasmos musculares, movimentos erráticos e torção dos corpos também foram relatadas pelos autores. Estes feitos foram observados pelos autores em indivíduos jovens de *Pomatoschistus microps* em concentrações de $0,002$ a $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de LAS. Singh *et al.* (2007) relatam alevinos de Truta Arco Íris, *Oncorhynchus mykiss*, demonstrando toxicidade ao LAS em uma concentração média de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$. Os autores também descrevem alterações e efeitos tóxicos dos alevinos de *Salmo gairdneri*, *Carassius auratus*, *Gambusia affinis* em concentrações de LAS de $3,63 \text{ mg.L}^{-1}$, $5,1 \text{ mg.L}^{-1}$ e $8,81 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente.

Mungray e Kumar (2009) afirmam que, em ambientes marinhos, concentrações de 40 mg.L^{-1} a 60 mg.L^{-1} de LAS são suficientes para que ocorram alterações no padrão de natação da larva do *Mytilus edulis*, molusco bivalve de grande importância na dinâmica dos processos de filtração natural da água do mar e de relevante valor econômico nas atividades de aquicultura.

Algas verdes, *Dunaliella sp.*, foram observadas por Ying (2006) e demonstraram toxicidade ao surfactante LAS com um tempo de exposição de 24 h em uma concentração de $3,5 \text{ mg.L}^{-1}$ do tensoativo. A inibição do crescimento da microalga *Tetraselmis chuii* com 96 horas de exposição também foi relatada pelo autor assim como sua influência negativa no crescimento do organismo em concentrações de $11,27 \text{ mg.L}^{-1}$ a $21,17 \text{ mg.L}^{-1}$ de LAS.

3.2.3 Efeitos tóxicos do LAS sobre o ambiente terrestre

De acordo com Gonzales *et al.* (2012) os surfactantes chegam ao solo principalmente pela disposição do lodo seco de Estações de Tratamento de Esgoto (ETE),

visando seu aproveitamento na agricultura, e nas áreas de vazantes dos corpos hídricos que recebem contribuições contínuas de esgoto bruto e/ou tratado. Mancuso (2010) afirma que a prática do reuso de águas residuárias domésticas e industriais tem crescido em todas as regiões do globo devido a mais recente crise ambiental a qual o planeta tem atravessado nas últimas décadas.

As práticas de reuso garantem não só uma significativa contribuição para a proteção e a conservação dos recursos hídricos de uma região, mais insere nos processos produtivos importantes variáveis econômicas, como o aumento da oferta hídrica e de fertilizantes, capazes de contribuir de forma significativa com o desenvolvimento econômico e social trazendo benefícios que ultrapassam os limites de Estados e Países (TELLES, 2010).

Porém os benefícios das práticas de reúso planejado e não planejado podem ser comprometidos com os efeitos adversos de determinados componentes presentes nas descargas domésticos e industriais como o LAS, presente nos esgotos domésticos em concentrações que variam de 1 a 21 mg.L⁻¹, e nos industriais em concentrações que variam de acordo com o tipo de atividades desempenhada podendo chegar a impressionantes níveis de 10.000 mg.L⁻¹ nas águas de lavanderias (MINGRAY; KUMAR 2009).

Garcia *et al.* (2009) destaca a influência do LAS no desenvolvimento de culturas alagadas, como o arroz, e sua interferência no crescimento e desenvolvimento da planta em uma concentração de LAS de 16 mg.L⁻¹. Hampel *et al.* (2007) mediram a toxicidade do surfactante LAS em uma espécie de molusco muito comum nas margens e terras alagadas de rios e estuários da Europa, o *H. ulvae*, e observaram teores de toxicidade ao LAS após 96 horas de exposição em concentração de 141 mg LAS/kg de solo oriundo de disposição do lodo seco de ETE.

Aksu *et al.* (2010) afirmaram que plantas expostas ao LAS apresentam altas taxas de destruição das membranas das células radiculares, alterações na permeabilidade e nos processos fotossintéticos e fisiológicos.

Krogh *et al.* (2007) observaram a toxicidade ao surfactante LAS ao *Enchytraeus crypticus*, invertebrado de grande importância devido suas atividades nos processos de decomposição e aeração de muitos tipos diferentes de solo, a toxicidade se deu após 28 dias de exposição a uma concentração de 120 mg.LAS/Kg de solo. Mungray e Kumar (2008) observaram que em concentrações que variavam entre 40 a 60 mg.LAS/Kg houve uma função toxicológica mais acentuada na reprodução e crescimento de minhocas que em colembolos e ácaros.

Gonzales *et al.* (2012) apresentam na Equação 01 uma forma de se mensurar e quantificar o chamado risco toxicológico dos compostos para o ambiente, sendo calculado através da metodologia europeia de Quociente de Risco (RQ), medido através da concentração média do composto na água ou no solo estudado (PEC) e dividido pela concentração onde não se observa relatos de efeitos ao ambiente (PNEC), (EU-TGD, 2003).

$$RQ = PEC/PNEC \quad (1)$$

Os autores destacam nas equações 2 e 3 a relação existente entre o PNEC no solo e o PNEC da água, sendo multiplicada por um coeficiente de correção K_d , este coeficiente de correção se deve ao fato de existirem diferenças de sensibilidade entre os organismos que vivem na água e os que vivem no solo (GONZALES *et al.*, 2012).

$$PNEC \text{ Solo} = PNEC \text{ Água} \times K_d \quad (2)$$

$$K_d = K_\alpha \times f_\alpha \quad (3)$$

sendo,

K_d = coeficiente de correção entre os ambiente aquáticos e terrestre

K_α = coeficiente de quebra e disponibilidade de carbono

f_α = fração de carbono orgânico no solo

O K_d , coeficiente de correção, está ligado a habilidade dos organismos na degradação dos átomos de carbono de acordo com os estudos de Ying (2006), através da equação 2 se percebe que o K_d é fruto da associação entre o K_α (coeficiente de quebra e disponibilidade de carbono para os organismo) e o f_α (fração de carbono orgânico no solo). De acordo com o mesmo autor, para as moléculas de LAS formadas por 10,11,12 e 13 átomos de carbonos os valores de K_α são respectivamente 4,02; 3,9; 4,83 e 3,39. O valor de f_α foi convencionado na EU standart soil em 0,02 g/Kg. (VAN VLAARDINGEN, 2003).

Segundo Mungray e Kumar (2009) uma concentração de surfactante como o LAS de 40 mg/Kg corresponde a uma concentração remanescente do surfactante no esgoto de 2 mg. L⁻¹ aproximadamente.

Assim de acordo com as equações 1, 2 e 3 a concentração média de LAS nos efluentes domésticos de 21 mg.L⁻¹ pode representar uma concentração no solo de até 442 mg/Kg possibilitando risco ao equilíbrio ecológico das áreas utilizadas ao reuso agrícola.

3.3 Mecanismos de tratamento para a remoção do LAS

A remoção de LAS ocorre com a combinação de basicamente três processos: precipitação, biodegradação e processos químicos. A biodegradação microbiana é a principal forma de remoção dos surfactantes contribuindo com valores que podem variar entre 40 até 80% da remoção. Os processos de precipitação e os processos químicos podem representar de 20 a 70% de remoção, dependendo da configuração do sistema de tratamento (HERA, 2007).

Adsorção e os chamados Processos Oxidativos Avançados (POAs) são as principais formas de degradação química dos surfactantes de modo geral.

O aumento da cobertura do saneamento e o aumento da eficiência na remoção de substâncias como o LAS em estações de tratamento de esgoto, através do uso de tecnologias combinadas, o tratamento químico e biológico são ações apontadas como os grandes desafios para este início de século XXI (PANIZA *et al.*, 2013).

3.3.1 Mecanismos de tratamento químico do LAS

O desenvolvimento de métodos de pré-tratamentos de efluentes que contêm significativas doses de surfactantes tem sido cada vez mais requisitado a fim de permitir uma mais segura disposição no ambiente terrestre e aquático. A degradação do surfactante pelos POAs é uma ferramenta adicional que vem sendo estudada e desenvolvida, demonstrando capacidade potencial em reduzir os problemas ecológicos relacionados ao uso destas substâncias (PANIZA *et al.*, 2013).

Uma concentração de 33 mg.L⁻¹ de LAS foi degradada em escala laboratorial com 94% de eficiência, por Jimenes *et al.* (2000), através de um processo fotocatalítico, utilizando a luz solar como fonte de luz UV, H₂O₂ como agente oxidante e óxido de titânio como catalisador. Em outro experimento os autores obtiveram 64% de remoção de LAS utilizando o processo fotocatalítico utilizando a luz solar como fonte de luz UV sem a utilização do óxido de titânio.

Lissens *et al.* (2002) empregaram o processo de oxidação eletrolítica para a degradação por via química de uma concentração de LAS 20 mg.L⁻¹ de LAS utilizando um eletrodo de diamante e boro obtendo 83% de remoção do tensoativo.

Sanchez *et al.* (2011) estudaram a cinética de mineralização de surfactantes aniônicos em concentrações de 50 a 200 mg.L⁻¹ através de fotocatalise por óxido de titânio

com os resultados das análises das cinéticas experimentais sugerindo a total mineralização dos compostos estudados.

Eng *et al.* (2012) estudaram fatores como cinética de degradação, intensidade da luz, concentração inicial do surfactante, concentração de oxigênio dissolvido e o pH capazes de influenciar na fotocatalise utilizando uma solução aquosa de óxido de titânio. Os autores perceberam concentrações exitosas de catalisador assim como no processo fotocatalítico com a mineralização do surfactante na ordem de $1,5 \text{ g.L}^{-1}$ e um pH neutro.

Paniza *et al.* (2013) registraram a total degradação de 50 mg.L^{-1} de LAS utilizando reações com o radical hidroxila gerados de processos fenton eletroquimicamente assistidas. A taxa de remoção foi obtida aplicando uma corrente de 200 mA, pH 3 e uma concentração de $0,3 \text{ mM}$ de Fe^{+2} como catalisador. Nestas condições após 180 min de oxidação eletrolítica houve a remoção total do surfactante.

Existem diversos fatores químicos e ambientais que influenciam na biodegradação do LAS, onde se pode citar a estrutura molecular do surfactante, condições químicas do meio, pH entre outras (YING, 2006). A decomposição incompleta do LAS gera compostos como carboxilados e sulfenilicos, estes podem ser encontrados em corpos hídricos receptores das ETEs merecendo atenção e monitoramento das autoridades ambientais.

3.3.2 Mecanismos Biológicos de remoção do LAS

O surfactante LAS é considerado biodegradável de acordo com OECD (1992), pois apresenta um potencial de degradação superior a 90%. Em estações de tratamento de esgoto e nos ambientes naturais a remoção da substância se dá principalmente por via aeróbia (SANCHEZ-PENEIDO *et al.*, 2009).

Nas Estações de Tratamento de Esgoto partículas de LAS são adsorvidas e ficam retidas nos sólidos em suspensão dos equipamentos que fazem parte do nível preliminar e primário das ETEs, sendo posteriormente degradados de forma anaeróbia. Nos níveis secundários de tratamento o surfactante LAS é degradado aerobiamente, tendo principalmente pelos gêneros *Nicothrix* e *Atrobacter* as maiores atividades de remoção. No primeiro estágio da degradação do surfactante são formados compostos carboxilatos sulfenilicos e nos últimos estágios da degradação CO_2 e H_2O . O consórcio de micro-organismos endógenos no esgoto sanitário são responsáveis pela degradação aeróbica do LAS com níveis que variam de 87-99% nos sistemas de Lagoas de estabilização e lodos ativados (MANCUSO, 2010).

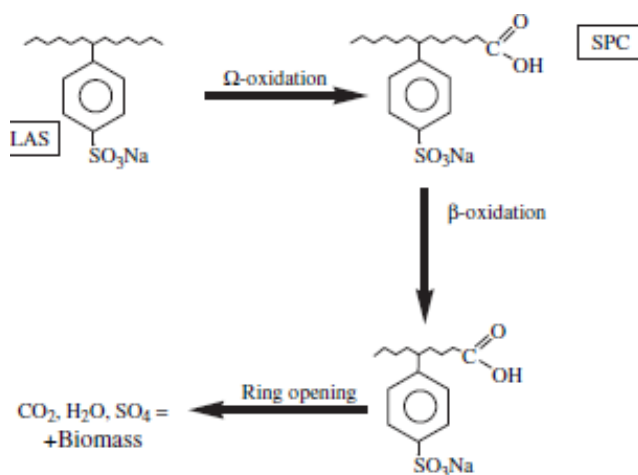
A bactéria *Citrobacter braaki* se destaca pela habilidade de degradar surfactantes aniônicos em comparação com as bactérias endógenas do esgoto sanitário. As taxas de remoção foram de 116 mg.L⁻¹ LAS com aumento de 83,5% das taxas de remoção de LAS em comparação com as bactérias convencionais de tratamento biológico (ROMANELLI *et al.*, 2004).

Schörbel (1989) descreveu a rota de degradação do LAS, em condições aeróbias, ocorrendo em etapas chamadas de biodegradação primária e final. Na biodegradação primária se observa a modificação da molécula ocorrendo mudanças nas características surfactantes do composto. Na biodegradação final se observa a formação de gás carbônico (CO₂), água (H₂O), sais minerais e biomassa como ilustrado na Figura 02 de Mungray e Kumar, (2009).

Os processos aeróbios de degradação do LAS ocorrem da seguinte maneira Schörbel (1989):

- Conversão oxidativa de um ou dois grupos metila terminais (ω -oxidação) da cadeia alquílica a um grupo carboxila. A β -oxidação do grupo carboxila poderá ocorrer, porém o tamanho da cadeia carbônica deverá ser considerada, pois cadeias carbônicas longas não favorecem a β -oxidação. Nestes casos a cadeia poderá ser degradada com a perda de um átomo de carbono por vez (α oxidação);
- Quebra da ligação C-S com liberação do sulfito e posterior oxidação a sulfato, podendo ocorrer através de dessulfonação oxidativa, catálise monoxigenase sob condições ácidas e dessulfonação redutiva;
- Degradação do anel aromático e a posterior mineralização da substância;

Figura 02 - Mecanismo de degradação aeróbica do tensoativo LAS



Fonte: Mungray e Kumar (2009).

Mungray e Kumar (2009) afirmaram que a velocidade de degradação tende a ser mais rápida para homólogos de LAS de maiores cadeias carbônicas alquílicas, e dentre estes, isômeros com grupo sulfenil mais próximos do centro da cadeia carbônica apresentaram degradação biológica mais lenta em relação aos demais. O favorecimento de relações sintróficas entre os micro-organismos com a participação de alguns para a degradação da cadeia alquílica e outros na mineralização do anel aromático também foram citadas pelos autores.

3.4 Legislações relacionadas aos surfactantes

O primeiro país a criar uma lei específica com a finalidade de controle e minimização dos impactos ambientais causados pela descarga de grandes concentrações de surfactantes no ambiente foi a Alemanha em 1974, a chamada “Primeira Lei alemã de detergentes.” A lei proibia a comercialização de detergentes e seus derivados com teores abaixo de 80% de biodegradabilidade. Seguindo o exemplo Alemão foram observadas leis semelhantes, sendo implantadas ao longo da década de 70 nos Estados Unidos, França, Japão, Reino Unido e Itália (VERGE *et al.*, 2001).

No Brasil a legislação relacionada ao uso dos surfactantes data de 1982 através da portaria de nº 112 do Ministério da Saúde. A legislação determinava a proibição da produção de surfactantes em todo território nacional que não fossem biodegradáveis (Brasil, 1982). A legislação brasileira não estabeleceu critérios mais precisos capazes de definir o termo de biodegradabilidade prevista na portaria 112 do Ministério da Saúde. Assim, em 1998 através da portaria de nº 874 o Ministério da Saúde estabeleceu uma metodologia para ser adotada na determinação e monitoramento da biodegradabilidade dos tensoativos aniônicos utilizados na produção de detergentes no país. A portaria brasileira considera biodegradável o surfactante que possui degradabilidade igual ou superior a 90% em relação ao padrão, o n-DBSS (n-dodecil Benzeno Sulfonato de Sódio), em um período máximo de 14 dias.

O método de determinação se baseia na atuação de Substâncias com Afinidade ao Azul de Metileno (SAAM), descrito pela primeira vez na década de 50, e se caracteriza por ser de fácil execução. A metodologia determinada pelo ministério da Saúde para o índice de biodegradabilidade dos surfactantes tem sido alvo de críticas de vários pesquisadores por ser pouco específico, uma vez que outras substâncias podem, além dos surfactantes, interferir e comprometer a execução do método. O método do SAAM detecta apenas a primeira etapa da degradação dos surfactantes a chamada α e β oxidação não permitindo o monitoramento das outras etapas da degradação até a sua mineralização: a dessulfonação e a abertura do anel

aromático, os subprodutos da primeira etapa da degradação dos surfactantes como o LAS, como por exemplo, os ácidos sulfenílicos, são conhecidos pela sua significativa toxicidade.

A resolução CONAMA de nº 357 de 2005 que altera e atualiza a resolução nº 20 de 1986, prevê limites para o monitoramento de surfactantes nos ambientes aquáticos de acordo com suas classes. Estabelecendo $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ como padrão para águas doces e uma concentração de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ para águas salinas. A resolução prevê ainda que estados e municípios podem estabelecer parâmetros específicos baseados na capacidade suporte dos corpos hídricos, como por exemplo o Rio de Janeiro com concentração limite de $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$ através da NT-202 R10 e o Rio Grande do Sul com $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de limite através da portaria nº 01 de 1989 da SSMA.

A portaria do ministério da Saúde nº 2914/2011 estabelece em um de seus parâmetros para águas de abastecimento a concentração máxima de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de LAS.

O documento técnico da União Europeia estabelece o padrão para os limites do surfactante LAS para os ambientes aquáticos e terrestres através do quociente de risco com valor de $0,027 \text{ mg.L}^{-1}$ (EU-TGD, 2003).

Nos Estados Unidos a Agência de Proteção Ambiental considerando a capacidade suporte dos rios da região estabeleceu um limite de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ de LAS (USEPA, 2005).

3.5 Os fungos

Os fungos são seres vivos eucariotos, heterotróficos e aeróbios, muito embora possam ser encontrados em alguns casos de crescimento em condições anaeróbicas facultativas, podendo ser unicelulares ou pluricelulares (RODRIGUES; MARINHO, 2012). Podem ser encontrados na maioria dos ecossistemas do globo e suas utilizações têm sido exploradas pelo homem na produção comercial com um destacável aumento de atividades envolvendo os fungos na segunda metade do século XX, sendo mais intensa, a atividade comercial de enzimas e metabolitos das espécies fúngicas com uma previsão de comercialização na ordem dos 15 bilhões de dólares em 2014 (MAZOTTO *et al.*, 2013).

A produção de gêneros alimentícios, enzimas e antibióticos são as principais atividades em que são empregados os fungos. Mais recentemente tem-se observado seus usos em atividades relacionadas com a biorremediação favorecendo e potencializando suas características decompositoras sendo capazes de degradar uma grande variedade de poluentes úteis no cotidiano moderno onde se busca ganho de tempo e a utilização de substâncias com as mais variadas funções (ZHANG *et al.*, 2011).

As substâncias orgânicas necessárias ao crescimento dos fungos, pelo fato de não serem aclorofilados, são obtidas pela ação de enzimas intracelulares e extracelulares capazes de hidrolisar macromoléculas e as tornar assimiláveis por mecanismos de transporte. Desta maneira os fungos vivem em situações de saprofitismo, parasitismo, ou em simbiose (MANAN *et al.*, 2005).

A energia utilizada pelos micro-organismos fúngicos é obtida através de via oxidativa ou fermentação. O processo de respiração traz como consequência a oxidação de compostos orgânicos a dióxido de carbono e água, com energia gerada por um processo denominado fosforilação oxidativa. Os seres capazes de obter energia por respiração ou fermentação desenvolvem a habilidade de se desenvolver em condições aeróbias e anaeróbias (CARLILE ; WATKINSON, 2001).

O gênero *Aspergillus* pertence a um grupo de fungos filamentosos de grande relevância industrial por conta de produção de enzimas como a glutanases, bastante importante nos processos de produção de pães, sucos, alimentos, indústria têxtil e outras (MAZOTTO *et al.*, 2013).

De acordo com Kim *et al.* (2006) a espécie *Aspergillus niger* é bastante útil para a indústria de bebidas na obtenção do ácido cítrico, utilizado na conservação de bebidas. Segundo Carlile e Watkinson (2001) a espécie possui uma faixa de pH para a germinação que varia 5 a 7, porém devido ao acúmulo de ácidos orgânicos podem fazer o pH decair a uma faixa de 2, inibindo o crescimento de outros micro-organismos. Outra característica desta espécie está na utilização simultânea da amônia e do nitrato como fonte de nitrogênio, em geral a maioria dos fungos fazem esta utilização de forma distinta (AINSWORTH; SUSSMAN, 1996).

Gauthier *et al.* (2010) utilizaram com êxito na biodegradação de fármacos as espécies fúngicas, *Rhodococcus rhodochrurs* e *Aspergillus niger*, em situações combinadas e isoladas obtendo a degradação total de carbamazepina , sulfametizole e sulfametoxazol.

Mazotto *et al.* (2013) estudaram o emprego de *Aspergillus niger* na degradação de resíduos de abatedouro e utilização da queratina produzida por fermentação, obtendo valores mais significativos quando utiliza biomassa fúngica submersa e mantida a um pH 5 durante sete dias em relação ao cultivo da espécie fúngica em substrato sólido sob as mesmas condições.

A espécie *Aspergillus niger* tem sido utilizada no tratamento biológico de águas residuárias contendo nitrito, amônia, proteína e glicose, como inóculo em reatores de fluxo de escoamento contínuo e de leite em placas, sendo observada a utilização simultânea de nitrito,

amônia e proteína pelo fungo (HWANG *et al.*, 2004). Seus resultados tem sido satisfatórios e suas potencialidades na degradação das substâncias diversas têm sido aprofundadas.

3.6 Tratamento de águas residuárias com fungo

A utilização de micro-organismos fúngicos para degradação de poluentes tem sido observada nas últimas décadas do século XX, com o uso de biomassa viva e morta. Esta degradação ocorre principalmente por um processo definido como bioadsorção, que se divide basicamente em duas etapas independentes entre si: a adsorção, processo que não depende do metabolismo do micro-organismo e envolve forças físicas e químicas; a assimilação, processo que depende diretamente das ações metabólicas do micro-organismo, inviável para o uso de biomassa morta (DEL RIO, 2004).

Na etapa da adsorção do poluente pelo micro-organismo, o material fica retido no micélio do fungo sem a transformação da substância em biomassa. Desta maneira não há modificações nas características do poluente havendo apenas uma transferência de meios. Assim, as etapas de adsorção proporcionam a reutilização da substância adsorvida para uma posterior reutilização ou será necessária outra etapa de pré-tratamento para a disposição final dos resíduos (ZANG *et al.*, 2010).

Na etapa da assimilação o poluente é degradado a partir de uma série de reações químicas proporcionadas por um conjunto de enzimas específicas, que podem ser produzidas de maneira intracelular ou extracelular pelo micro-organismo, modificando a composição das substâncias tornando-as total ou parcialmente assimiláveis. (XU *et al.*, 2005).

As plantas de estações de tratamento de esgoto que utilizam a degradação biológica visam a maximização das etapas de assimilação pela biomassa fúngica, em reatores das mais variadas configurações, de acordo com as características do efluente, da espécie de fungo utilizada e dos padrões de purificação requeridos, removendo compostos persistentes, matéria orgânica e nutrientes do meio (ZANG *et al.*, 2010).

Kunz *et al.* (2001) estudaram com êxito o uso de enzimas *ligninases*, *peroxidases*, específicas de espécies fúngicas *Phanerochaete chrysosporium* acompanhada da *saccharomyces cerevisiae* e do gênero *Aspergillus* na degradação de compostos persistentes em efluentes têxteis. Devido aos bons resultados obtidos principalmente nas últimas décadas do século XX e na primeira década do século XXI e com a evolução dos mecanismos de produção de enzimas por espécies fúngicas, como *ligninases*, *peroxidases* e *manganês peroxidases*, as pesquisas com estes micro-organismos tiveram uma maior intensidade e

representam a ponta dos processos biotecnológicos na atualidade (RODRIGUES e MARINHO 2012).

Prasertsan *et al.* (1996) utilizaram a espécie *Phanerochaete crysosporium* em um regime de batelada com concentração inicial de água residuária de 10000 mg DQO/L como pré- tratamento da digestão anaeróbica de efluentes de uma indústria de azeite de oliva com uma eficiência de 50% na remoção de DQO e degradação de compostos fenólicos. Justino *et al.* (2009) utilizaram o processo de degradação biológica pela espécie fúngica *Pleurotus soja caju* seguido de um processo oxidativo foto fenton para a degradação de efluentes de indústrias de azeite de oliva com um rendimento de 76% na remoção de DQO e 92% na remoção de compostos fenólicos.

Winqvist *et al.* (2014) estudaram a ação do fungo *Phanerochaete velutina* na degradação de 16 tipos diferentes de hidrocarbonetos poliaromáticos, PAH, e verificaram uma eficiência que chegou a 94% em 4 deles com um tempo de retenção celular de três meses. Kundsén *et al.* (2013) utilizaram hifas do fungo *Mortierella* sp para estimular o crescimento da bactéria *Aminobacter* para a degradação do pesticida de 2,6 diclorobenzenoamino com a degradação completa do mesmo.

Maestre *et al.* (2007) estudaram o uso de fungos na formação de biofiltros em diversas condições ambientais e nutricionais para a remoção de poluentes em águas residuárias contaminadas com tolueno com resultados de remoção de variam de 75 a 95 g.m⁻³ h⁻¹ de tolueno removido. Dorado *et al.* (2008) estabeleceram modelagens matemáticas para a degradação de tolueno em uma concentração 77 g.m⁻³ h⁻¹ e eficiência de 80% utilizando como material suporte a fibra de coco.

Clemene-Ortega *et al.* (2009) investigaram a ação fúngica no pós tratamento de águas residuárias contendo compostos recalcitrantes obtendo 54% de remoção na cor e 68% na remoção de compostos ligninotícos. Yang *et al.* (2013a) obtiveram 90% de remoção de bisfenol e 55% na remoção de diclorofenol utilizando biorreatores fúngicos em batelada.

Kapoor *et al.* (1999) relataram utilização da espécie fúngica *Aspergillus niger* para a remoção de águas residuárias contaminadas com metais pesados, sendo capazes de realizar a remoção de cádmio e cobre. Sierra-Alvarez *et al.* (2007) descreve a eficiência do fungo *Antrodia vaillantii* de 52,3 % na remoção de águas contaminadas com cromo e 15,2 % na remoção de cobre. Em 2009 o mesmo autor estudou a remoção de arsênico, cromo e cobre com eficiência de remoção de 100, 87, 80% respectivamente em águas residuárias contaminadas de minas utilizando a espécie fúngica *Anporia vaillantii*.

Zhang e Geiben (2012) realizaram teste em batelada e em fluxo contínuo com várias culturas de fungos e estudaram a produção de enzimas específicas para a degradação de compostos orgânicos traços, resistentes a degradação bacteriana. Nguyen et al. (2013) observou a atuação da enzima lacasse produzida em biorreator membranosos proporcionado a degradação da atrazina. Estrada et al. (2013) realizaram a comparação da ação isolada da espécie fúngica *Paecilomyces variotii* com o consórcio de micro-organismos bacteriano, oriundo de lodos de estação de tratamento de esgoto doméstico, e da espécie fúngica verificando um aumento da eficiência de degradação médio de 63% na remoção de compostos orgânicos voláteis na seguinte ordem: propanal > hexanol > tolueno.

A utilização de fungos para a remoção de efluentes têxteis foram relatadas recentemente por Khalaf (2008). Descreve a propriedade dos fungos *Aspergillus niger* e *Spirogyra* sp na biossorção do corante synazol red HF6BN e synazol yellow HF2GR com 88 e 85% de remoção respectivamente. Yang et al. (2013b) descreve a remoção fúngica de corantes do tipo azo, red M-3BE, com 65% de eficiência. Nguyen et al. (2013) descrevem a performance dos fungos *Aspergillus terreus* SA3, com eficiência média na remoção de cor de 84,5% e DQO de 72,5% de diversos corantes sulfurados em uma concentração inicial de 50 mg.L⁻¹ dos corantes, e o consórcio entre *Galactomyces geotrichum* e *Bacillus* sp. com eficiência de 100% na remoção do corante Brilliant Blue G, nas concentrações de 50, 100 e 200 mg.L⁻¹ de corante.

Watanabe et al. (2009) verificaram a eficiência do fungo *Hansenula anomalia* J224 PAWA na remoção, da ordem de 80%, de fósforo total dissolvido em efluentes na indústrias de batatas e destilarias de álcool, com altas concentrações de orgânicos. Os autores revelaram a potencialidade da espécie na atuação do pós tratamento de reatores UASB.

Pranjal et al. (2013) utilizaram com êxito efluentes domésticos tratados por *Aspergillus niger* para a síntese do dihidropirano. Fiedurex e Skowronek (2006) utilizaram *Aspergillus niger* para a biossíntese da enzima inulinase. Papagiani (2007) estudou a possibilidade do aproveitamento do ácido cítrico produzido pela espécie *Aspergillus niger* como subproduto do tratamento de efluentes industriais de laticínios e têxteis, esclarecendo as formas de síntese e transporte do ácido pela espécie fúngica.

Assim, podemos perceber as potencialidades da tecnologia microbiológica fúngica para a degradação de uma grande quantidade de compostos. Porém pouco se sabe sobre o comportamento de espécies fúngicas como o *Aspergillus niger* AN 400 na degradação de surfactantes como o LAS (alquilbenzeno linear sulfonato) tornando necessário o estudo do

emprego da espécie em reatores biológicos para a degradação do tensoativo comercial mais utilizado em todo planeta.

4- MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada utilizando reatores biológicos inoculados com *Aspergillus niger* AN 400, dividida em três fases distintas: Teste de toxicidade em placas; Operação de reator biológico em batelada aerada utilizando biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400; Operação reator biológico de batelada sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 em ciclos de 168 horas (sete dias) e 48 horas (dois dias). A seguir são apresentadas a sequência cronológica do desenvolvimento da pesquisa.

4.1 Cultivo do *Aspergillus niger* AN 400

O cultivo e produção dos fungos foram realizados de acordo com os procedimentos descritos em Sampaio (2005). *Aspergillus niger* AN 400 foram cultivados em placas de petri com meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose, acrescido 0,10 g cloranfenicol/L (antibiótico para minimizar a proliferação bacteriana) e de 1mL de solução Vishniac por litro de meio de cultura. A solução Vishniac tem sua constituição apresentada na Tabela 01.

Tabela 01 - Composição do Vishniac

Composição	Concentração g.L ⁻¹
EDTA	10,00
ZnSO ₄ . 7.H ₂ O	4,00
MnCl ₂ . 4H ₂ O	1,00
CoCl ₂ . 6.H ₂ O	0,32
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4.H ₂ O	0,22
CaCl ₂ . 2H ₂ O	1,47
Fe SO ₄ . 7H ₂ O	1,00

Fonte: Sampaio (2005).

4.2 O inóculo

A utilização da espécie *Aspergillus niger* AN 400 como inóculo para a degradação de compostos em reatores biológicos toma como base os estudos de Kotsou *et al.* (2004) e Rodrigues (2006). A espécie foi cedida e cultivada pelo Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM) do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Fortaleza, na forma de suspensão de esporos e utilizou-se a concentração de 2×10^6 esporos/ml no decorrer dos experimentos.

4.3 Composição da água residuária sintética

A composição da água residuária sintética foi elaborada de acordo com os estudos de Oliveira *et al.* (2009b). A constituição de seus componentes são apresentados na Tabela 02 e devidamente dissolvidos em água de abastecimento, acrescida da concentração de 1ml/L Vishniac e uma concentração de LAS comercial de 15 mg.L⁻¹ ou 30 mg.L⁻¹ de LAS com 80% de pureza.

Tabela 02 - Composição da água residuária sintética.

Composição	Concentração em mg.L ⁻¹
(NH ₄) ₂ SO ₄	300
NaNO ₃	300
KH ₂ PO ₄	600
MgSO ₄ .7H ₂ O	75
CaCl ₂ .2H ₂ O	30
CuSO ₄ .5H ₂ O	240
H ₂ MoO ₄	150
MnSO ₄ . 7H ₂ O	150
Fe ₂ (SO ₄) ₃	150
ZnSO ₄ .7.H ₂ O	120

Fonte: Oliveira *et al.* (2009) adaptado.

4.4 Teste de toxicidade em placas de *Aspergillus niger* AN 400 - ETAPA 01

Aspergillus niger AN 400 foi inoculado em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Sabouraud e meio aquoso com LAS nas concentrações de 5, 10, 15, 20 e 30 mg.L⁻¹ a fim de verificar seu crescimento sob a ação do poluente. Cada placa foi inoculada com 2 x 10⁶ esporos *Aspergillus niger* AN 400/mL. As placas foram incubadas em estufa microbiológica a 28°C durante 7 dias, ao longo dos quais foi visualizado seu crescimento sob as condições de exposição ao poluente LAS.

4.5 Reatores em batelada aerada com biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 - ETAPA 02

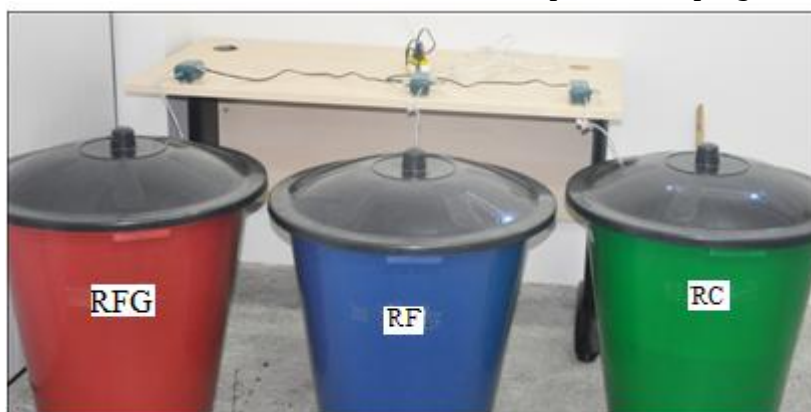
Os reatores foram operados sob a modalidade de batelada dispersa em duas concentrações, 15 e 30 mg.L⁻¹ do poluente LAS.

Foram adicionadas uma concentração de 2×10^6 esporos/mL em cada um dos reatores. O procedimento foi realizado na proximidade da chama do bico de Bunsen, a fim de evitar contaminação.

O ensaio em batelada utilizando biomassa dispersa foi realizado inicialmente na concentração de 15 mg.L^{-1} de LAS, no Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM) do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, campus de Fortaleza. Em um segundo momento o ensaio em batelada dispersa na concentração de 30 mg.L^{-1} de LAS ocorreu no laboratório de Microbiologia (LAMIR) do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, campus Quixadá. Os ensaios consistiam em 03 recipientes com 100 litros de capacidade, dispostos da seguinte maneira: 01 reator controle (RC); 01 reator com inóculo fúngico de *Aspergillus niger* AN 400 (RF) e 01 reator com inóculo de *Aspergillus niger* AN 400 adicionado a 1 mg.L^{-1} de glicose (RFG). Cada reator foi preenchido com 45 litros de água residuária sintética. Utilizou-se aeração artificial com uma capacidade de injeção de 1,35 litros de ar/min. Na Figura 03 se observa os referidos reatores em operação.

Os reatores foram operados de janeiro a fevereiro na concentração de 15 mg.L^{-1} de LAS e de abril a maio de 2013 na concentração de 30 mg.L^{-1} de LAS. As análises utilizadas para o estudo da degradação do poluente nesta fase do estudo foram: DQO, Amônia, pH, Nitrato, Nitrito, Sulfato e LAS. As retiradas de alíquotas para o monitoramento e o estudo da eficiência dos reatores ocorreram nos tempos de retenção de 24, 48, 72, 120, 192, 240, 260, 480, 600 e 720 horas.

Figura 03 – Reatores em batelada utilizando biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400.



Fonte: Autor (2014).

4.6- Ensaio em batelada sequencial (RBS) utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 - ETAPA 03.

O ensaio em batelada sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 foi realizado no laboratório de Microbiologia (LAMIR) do Instituto Federal de

Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, campus Quixadá. Esta etapa da pesquisa se desenvolveu em duas fases distintas: imobilização da biomassa fúngica; montagem e operação do reator.

4.6.1 Teste de Adsorção com 15 mg.L^{-1} e 30 mg.L^{-1} de LAS.

Os ensaios de adsorção foram realizados com base nos estudos de Rodrigues (2006), utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400, com concentrações de 15 mg.L^{-1} e 30 mg.L^{-1} de LAS. O teste teve por finalidade verificar a capacidade do material empregado como meio suporte, espuma de poliuretano, de adsorver o surfactante LAS. Este ensaio foi efetuado antes da inoculação dos reatores e portanto, sem interferência do fator biológico. A realização do teste de adsorção permite a observação do comportamento da aderência do poluente sobre o material suporte sendo uma importante ferramenta para a observação e estudo da eficiência da degradação biológica nas etapas subsequentes. O tempo de detenção hidráulica empregado para o ensaio, em ambos os reatores, foi de 2 h, com retirada de alíquotas a cada 20 minutos.

4.6.2 A imobilização da biomassa no material suporte.

Foram utilizados como material suporte, cubos de poliuretano medindo 1 cm de aresta totalizando 15 g de massa, acondicionados em três redes de polietileno no interior do reator, como ilustrado na Figura 05. A massa de poliuretano foi esterilizada em autoclave a temperatura de 121°C por 15 minutos.

O material suporte foi transferido para o reator e após o preparo do meio sintético, o reator foi preenchido até o volume de 4,5 L. Glicose foi adicionada no reator para ser utilizada como fonte primária de carbono em uma concentração de 1 g.L^{-1} . Em seguida ocorreu a inoculação do fungo em uma concentração de 2×10^6 esporos/ml. A aeração do reator foi fornecida por um mini compressor e difundida por meio de pedra porosa. O compressor tinha uma capacidade de injeção de 1,36 L de ar/min.

Gradativamente ocorreu a colonização e imobilização do material suporte pela espécie fúngica. O teste teve uma duração de 20 dias, sendo o meio sintético renovado a cada três dias com a finalidade de aceleração do crescimento da biomassa fúngica.

4.6.3 Montagem do reator em batelada sequencial

O reator se consistiu como um frasco com volume útil de 5 L, preenchido até 4,5 L e vedado com uma tampa plástica. O ar foi fornecido por um compressor com capacidade de injeção de 1,36 L de ar/min. A alimentação do reator ocorreu pela inserção da água residuária sintética em uma concentração de 15 mg.L⁻¹ de LAS e adicionada de 1 g.L⁻¹ de glicose. Em um segundo momento o reator operou com a inserção da água residuária sintética com uma concentração de 30 mg.L⁻¹ de LAS.

O reator foi operado por 3 ciclos com duração de 7 dias cada, nas concentrações de 15 e 30 mg.L⁻¹, em 3 ciclos com duração de 2 dias nas concentrações de 15 e 30 mg.L⁻¹. A matriz aquosa foi renovada a cada novo início de ciclo. O volume amostral foi retirado, para o monitoramento do desempenho do reator, não ultrapassando os 10% do volume útil, a fim de não descaracterizar o meio. Na figura 04 é possível observar o reator operado em bateladas sequenciais repetidas, utilizado na presente pesquisa, em operação.

As análises utilizadas para o estudo da degradação do poluente nesta fase do estudo foram: DQO bruta e filtrada, Amônia, pH, Nitrato, Sulfato, LAS. Os tempos reacionais foram 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dias para os ciclos com duração de 7 dias. Nos ciclos de 48 h, foram marcados os pontos 0 h 24 h e 48 h com medição de remoção de LAS.

Figura 04 - Reator em batelada sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400



Fonte: Autor (2014).

4.7 Métodos para determinação das variáveis

As análises de DQO bruta, DQO filtrada, pH, amônia, nitrato, nitrito e sulfato foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos em APHA (2005). A determinação do LAS foi adaptado ao estudo descrito por Mattihs et al. (1987) com a

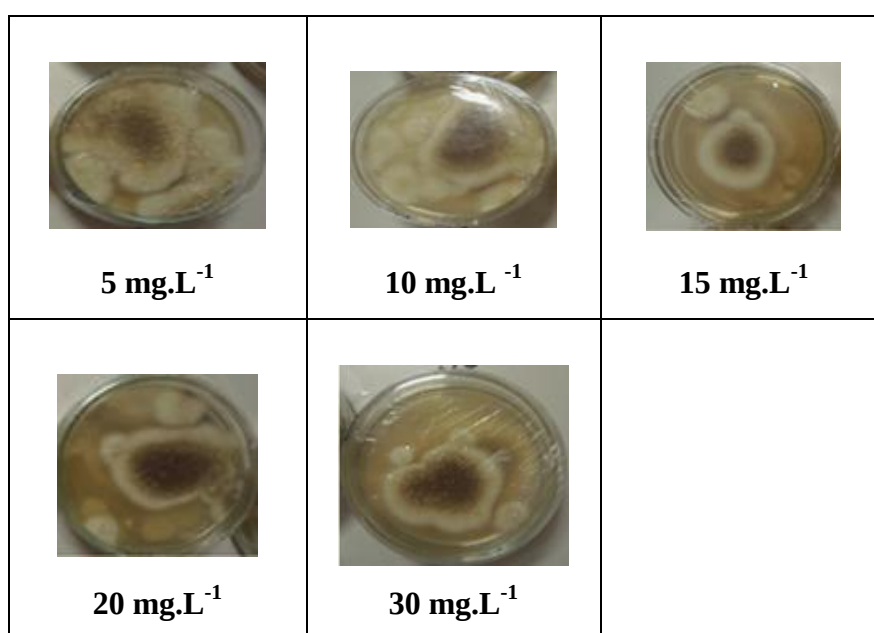
seguinte configuração: HPLC Varian ProStar com detector de arranjo de diodo (DAD/HPLC), coluna C18 ODS Hypersil (25 cm x 4,6 mm x 5µm), fase móvel acetonitrila 100% a uma vazão de 1,0 mL/min, comprimento de onda de 228 nm. Tempo de retenção de 5 minutos. e curva de Calibração de $Y=3,1367X + 0,53333$ com $R^2 = 0,9978$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Teste de toxicidade – Etapa 01

Durante a realização do teste de toxicidade observou-se o crescimento e colonização da espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 em todas as placas, como observado nas Figuras de 05 a 07, indicando bom desenvolvimento do micro-organismo nas concentrações testadas.

Figura 05 - Placas inoculadas com *Aspergillus niger* AN 400 e o poluente LAS nas concentrações de 5 a 30 mg.L⁻¹ no 3º dia de cultivo.

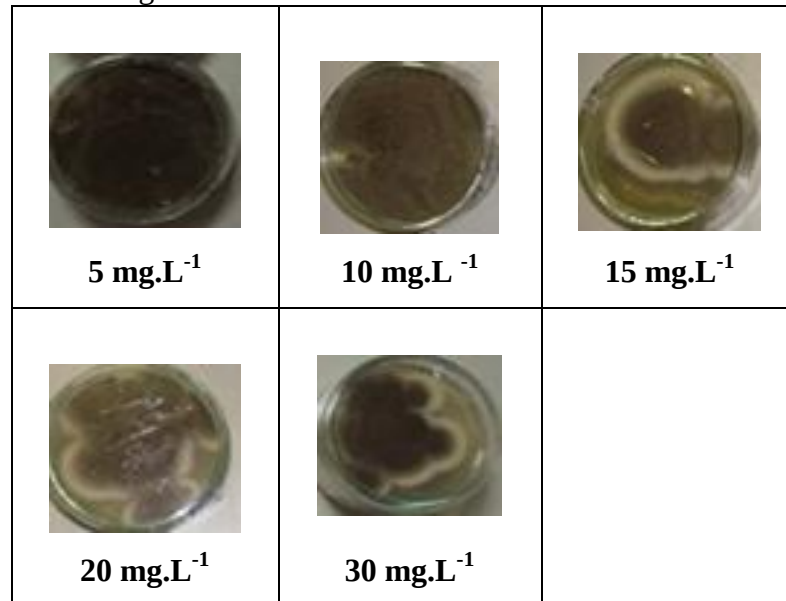


Fonte: Autor (2014).

De acordo com os resultados do teste de toxicidade foi possível perceber nas primeiras 72 h (3º dia de cultivo) esporos da espécie fúngica em todas as placas cultivadas. No 5º dia (120 h) de cultivo, nas placas com concentrações até 10 mg.L⁻¹ de LAS, observou-se a colonização e desenvolvimento dos micélios do fungo, com o preenchimento em toda a superfície das placas. Nas placas com as concentrações entre 15 e 30 mg.L⁻¹ de LAS foi observado um ritmo de crescimento mais lento, com a colonização de praticamente toda a superfície da placa pelos esporos apenas no 7º dia de cultivo.

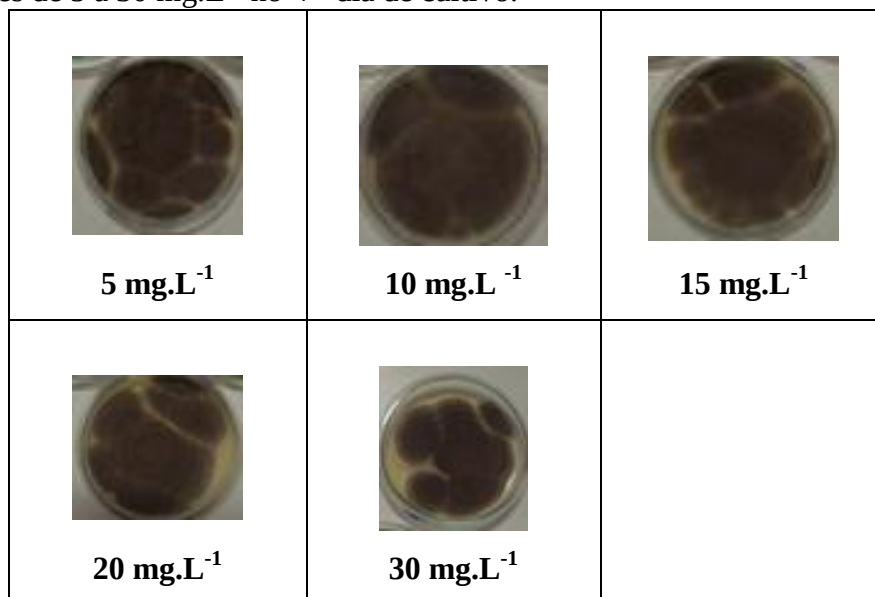
Estes resultados indicam boas perspectivas para utilização do mesmo para a degradação do poluente, nas concentrações testadas, tendo em vista que as concentrações do poluente não inibiram o desenvolvimento, esporulação e crescimento micelar da espécie fúngica estudada.

Figura 06 - Placas inoculadas com *Aspergillus niger* AN 400 e o poluente LAS nas concentrações de 5 a 30 mg.L⁻¹ no 5º dia de cultivo.



Fonte: Autor (2014).

Figura 07 - Placas inoculadas com *Aspergillus niger* AN 400 e o poluente LAS nas concentrações de 5 a 30 mg.L⁻¹ no 7º dia de cultivo.



Fonte Autor (2014).

Outras espécies demonstraram não apresentaram o mesmo desenvolvimento em concentrações relativamente elevadas de surfactantes, como observado por Garcia-Luque *et al.* (2009). Realizando o teste de toxicidade junto ao crustáceo *Cerodaphnia dubia*, bioindicador de poluição, se percebeu que em 96 horas de exposição a concentrações de 1,22 mg.L⁻¹ de LAS, com inibição no crescimento e desenvolvimento do crustáceo. A micro alga

verde *Dunaliella* sp responde negativamente a uma concentração de 3,5 mg.L⁻¹ de LAS após 24 h de exposição (MUNGRAY; KUMAR, 2009).

A concentração medida no teste de até 30 mg.L⁻¹ de LAS pode representar no lodo seco de uma ETA um valor aproximado de até 600 mg/Kg de solo de acordo com a metodologia de Gonzales *et al.* (2012). Nestas concentrações, foi observado pelos autores efeitos severos ao desenvolvimento de invertebrados e moluscos como minhocas, ácaros e colembolos, com toxicidade ao LAS em valores entre 40 e 60 mg/Kg ou *H. ulvae* em concentrações de 141 mg/kg. Grãos de Mostarda, Nabo e Aveia também mostraram deficiências em seu desenvolvimento quando expostos a 300, 200 e 50 mg/kg de surfactante. (HAMPEL *et al.*, 2007; MUNGRAY; KUMAR, 2008).

Bautista-Toledo *et al.* (2014) observaram alterações nas taxas de crescimento de bactérias promotoras de adsorção em filtros de carvão ativado em concentrações abaixo de 5 mg. L⁻¹ de SDS (dodecilsulfonato de sódio) em 115 horas de exposição ao surfactante.

A Espécie *Aspergillus niger* AN 400 tem apresentado significativos resultados no que diz respeito ao seu desenvolvimento em outras substâncias de reconhecida toxicidade, como apresentado por Sampaio (2005) com o estudo da degradação de água residuária sintética contendo atrazina e metil paration. A autora trabalhou com concentrações dos poluentes que variavam de 0,05 mg.L⁻¹ a 60 mg.L⁻¹ para a atrazina e 0,05 a 25 mg.L⁻¹ de metil paration. Ao final do teste se observou crescimento em todas as concentrações para o pesticida metil paration e um relativo desenvolvimento da espécie fúngica até a concentração de 7,5 mg.L⁻¹ de Atrazina. Já Souza Neto (2012) estudando a degradação dos pesticidas: atrazina; metil paration; paraquat e deltametrina observou no teste de toxicidade um expressivo desenvolvimento da espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 em uma concentração de até 15 mg.L⁻¹.

Bons resultados na remoção de compostos petroquímicos e corantes têxteis foram verificados por Damasceno *et al.* (2012) e Silva *et al.* (2012), indicando as significativas propriedades da espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 no desenvolvimento na presença de compostos persistentes no ambiente, possibilitando boas perspectivas na remoção do tensoativo LAS.

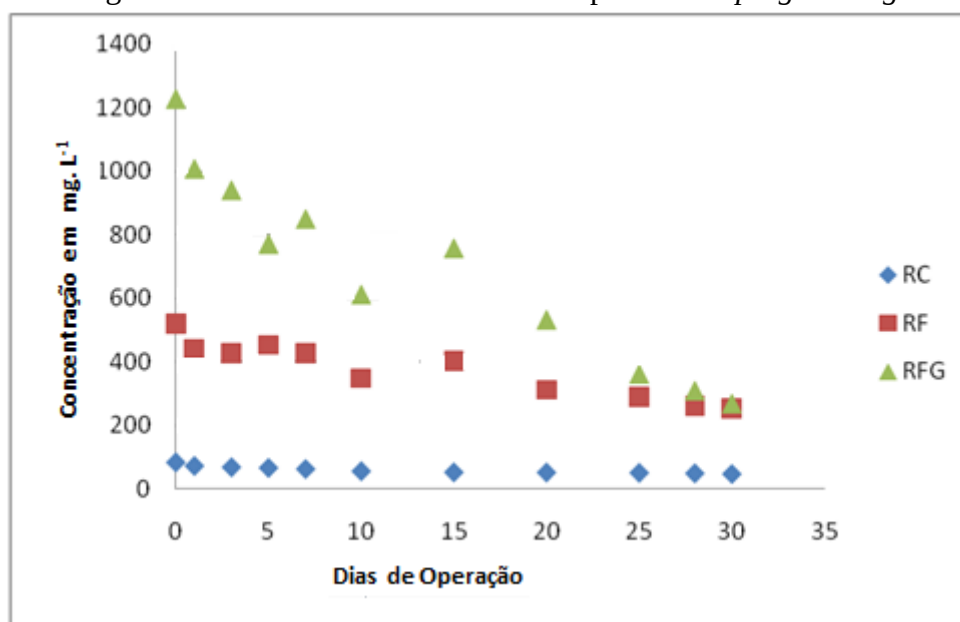
Diante dos resultados obtidos no teste de toxicidade, somados a reconhecida habilidade de degradação da espécie fúngica de outras substâncias, optou-se pela operação dos reatores nas fases subsequentes da pesquisa com as concentrações de 15 e 30 mg.L⁻¹ de Alquilbenzeno Sulfonato Linear (LAS), tendo em vista representarem concentrações que englobam a maioria dos significativos perigos a biota aquática e terrestre.

5.2-Batelada com biomassa dispersa - Etapa 02

5.2.1- Desempenho dos reatores biológicos com biomassa de *Aspergillus niger* AN 400 com concentração de 15 mg.L^{-1} de LAS.

Na Figura 08 se observa o comportamento da variação de DQO ao longo dos ciclos de operação dos reatores. A intensa atividade de degradação da matéria orgânica é facilmente detectada nos primeiros dias de operação. Percebeu-se no RFG uma maior degradação da matéria orgânica induzida pela oferta de uma fonte de carbono de fácil assimilação. Papagianni (2007) descreve a importância da fonte de carbono de fácil assimilação para o crescimento de culturas filamentosas submersas. Este fato pode ser confirmado com o trabalho de Dhillon *et al.* (2013), onde os autores descrevem processos de biossíntese e otimização da produção de ácido cítrico com *Aspergillus niger* sendo de relevância estratégica a fonte de carbono composta por polissacarídeos. Lopes (2012) em seu estudo no emprego de *Aspergillus niger* AN 400 na degradação de fenol, utilizando várias doses de cossubstrato, destaca a relevância da fonte de carbono de fácil assimilação no alcance de significantes índices de remoção de compostos específicos.

Figura 08 - Monitoramento de Matéria Orgânica Bruta, expressa em DQO, em reatores em batelada de 15 mg.L^{-1} de LAS utilizando biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400.



Fonte: Autor (2014).

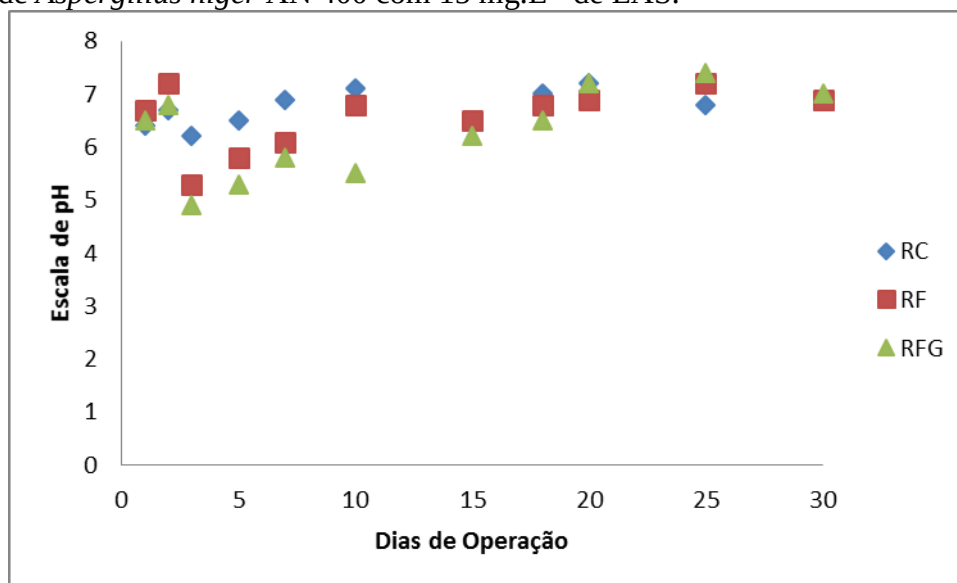
O reator RFG apresentou remoção na ordem de 73%, no final do ciclo de trinta dias, com uma concentração remanescente de $328,5 \text{ mg.L}^{-1}$, seguido pelo reator fúngico (RF) com 40% e $322,8 \text{ mg.L}^{-1}$, fora dos padrões de lançamento da portaria 154/2002 da SEMACE

que é de 200 mg.L^{-1} de DQO. Já o reator controle apresentou uma remoção de 23% com concentração remanescente de 68 mg.L^{-1} . Este fato pode ser atribuído a mais intensa produção de biomassa nos reatores RFG e RF e consequente maior consumo de compostos orgânicos. Os estudos de Gauthier *et al.* (2010) destacam o aumento da produção da biomassa associada a elevação das taxas catabólicas dos fungos *Rhodococcus rhodochrous* e *Aspergillus niger* e sua maior degradação de fármacos, também observado por Pinheiro *et al.* (2012) no estudo da degradação de compostos petroquímicos por *Aspergillus niger* AN 400.

Djelal *et al.* (2013) estudaram a bioaugmentação com a intensa produção de sólidos na degradação de águas residuárias domésticas com um consórcio de espécies fúngicas que envolviam: *Aspergillus niger*, *Mucor hiemalis*, *Galactomyces geotrichum* em reatores em batelada em escala laboratorial e em escala piloto.

Na Figura 09 é possível observar o comportamento do pH ao longo do ciclo de batelada aerada com utilização de biomassa dispersa. Foi percebido o decaimento do pH nos primeiros dias de operação, principalmente do RFG, o que pode estar relacionado a produção de ácidos orgânicos como o ácido cítrico formado no processo de metabolização da glicose (EL RAHIM *et al.*, 2009).

Figura 09 – Variação do comportamento do pH ao longo da batelada aerada com biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L^{-1} de LAS.



Fonte: Autor (2014).

Papagiani (2007) afirma que na operação de reatores em batelada, as altas taxas de glicose no início dos ciclos, influenciam nas taxas de fermentação e na morfologia do organismo produtor, ocasionando o decaimento do pH. De acordo com de Freitas e Satadnik (2012) os fungos tendem a sintetizar enzimas em faixas de pH mais baixas. El Rahim *et al.*

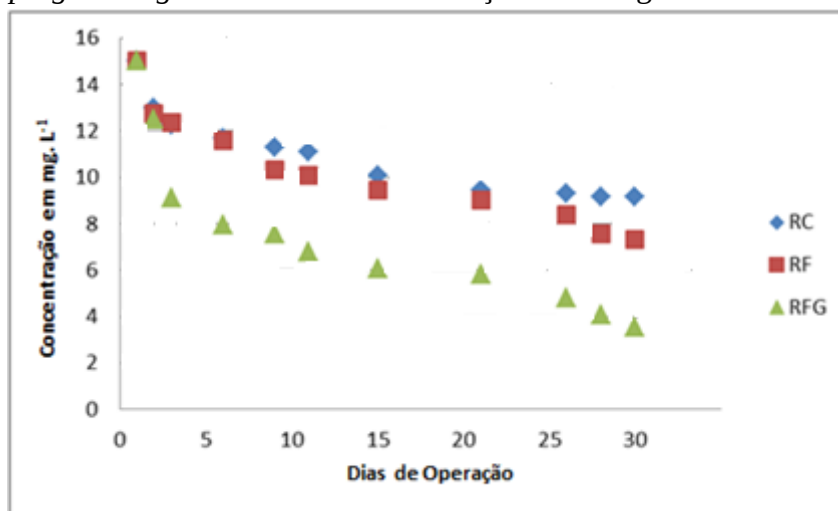
(2009) em seus experimentos de remoção do corante Direct violet com *Aspergillus niger*, também descrevem a acidez do meio durante o início da operação dos reatores em faixas intermediárias de pH. Os autores observaram altas taxas de eficiência do fungo em uma ampla faixa de pH variando de 2 a 9, com valores de remoção do corante de 92,4 %, 64,0%, 91,4 % e 61% na operação do reator biológico, com TDH de 24 h, nas faixas de 2, 3, 8 e 9, respectivamente.

Após os primeiros 10 dias de operação nos reatores RF e RFG se observa um crescente aumento e estabilização do pH, gravitando próximo da neutralidade na última quinzena do ciclo. De acordo com Santos (2008) uma faixa de pH levemente ácida possibilita a aglomeração de esporos dos fungos, com seu crescimento sob a forma de pellets, caso ocorrido na presente pesquisa. El Rahim *et al.* (2009) afirmaram que em geral o aumento do Temo de retenção celular proporciona uma maior estabilização e equilíbrio no meio com melhor adaptação da cultura ao poluente.

As variações de pH coincidem com o período de grande remoção de amônia pelos reatores fungicos. Souza Neto (2012) encontrou comportamento semelhante da espécie *Aspergillus niger* AN 400 na degradação de pesticidas e Amiri *et al.* (2012) na utilização de *Aspergillus niger* na degradação de compostos petroquímicos.

Na Figura 10 e na Tabela 03 pode-se observar o comportamento de remoção do surfactante LAS ao longo dos dias de operação. Foram registradas as maiores taxas de remoção do tensoativo na primeira quinzena de operação.

Figura 10 – Remoção de LAS em reatores de batelada aerada com utilização de biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 na concentração de 15 mg.L^{-1} .



Fonte: Autor (2014).

O reator RFG apresentou uma taxa de remoção do poluente LAS de 76,4%, o reator fúngico na ausência de glicose (RF) de 52,2%. Já o reator controle, sem a presença fúngica, registrou uma taxa de remoção ao final da operação de 37,8 %. Os estudos de Elena *et al.* (2009) destacam o relevante poder da espécie *Aspergillus niger*, na remoção de compostos de difícil degradação por conta de um potente e variado sistema de produção de enzimas.

Tabela 03 – Percentual da remoção de LAS ao longo da batelada aerada com biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 ao longo da operação com 15 mg.L⁻¹ de LAS.

Tipo de reator	1 dia	3 dia	5 dia	10 dia	15 dia	20 dia	25 dia	30 dia
RC	2,5	13,4	18,3	24,5	32,9	37,0	37,8	37,8
RF	3,8	15,1	22,8	31,07	37,13	39,8	44,2	52,2
RFG	5,4	16,7	39,3	46,9	54,4	59,5	68,1	76,4

Fonte: Autor (2014).

Verificou-se a aparente ação da glicose como auxiliador dos processos de remoção do surfactante LAS, com significativa eficiência. O uso da glicose como indutor de crescimento fúngico, para desenvolvimento micelar e produção de enzimas foi relatado por Papagiani (2007), Fiedurek e Skowronek (2006) e Vrbl *et al.* (2008). Kundsén *et al.* (2013). Os autores apresentaram resultados onde o uso da glicose como fonte de carbono de fácil assimilação teve uma participação preponderante. Kundsén *et al.* (2013) descrevem a relevância da glicose como ferramenta para mais rápido crescimento dos micélios do fungo *Mortierella sp* sendo de vital importância para o desenvolvimento do consórcio bacteriano para a degradação do 2,6 diclorobenzenoamino.

A influência do substrato no auxílio a degradação do surfactante LAS por micro-organismos também foi estudado por Okada *et al.* (2013), onde o autor aponta em seus estudos a eficiência da remoção de LAS de acordo com diferentes cossustratos como etanol, metanol e extrato de levedura em uma concentração de 14 mg.L⁻¹ de LAS em reatores UASB em escala laboratorial. Okada *et al.* (2013) obtiveram 50% de eficiência na degradação do surfactante pelo reator quando utilizou extrato de levedura, 29% com metanol e 41% na utilização de etanol, como cossustratos.

Nos sistemas de tratamento de efluentes convencionais Mancuso (2010) registra taxas de remoção de 95% de surfactantes em um sistema de Lagoas de Estabilização utilizando um tempo de detenção hidráulica, para efluentes domésticos, de 45 dias. O mesmo

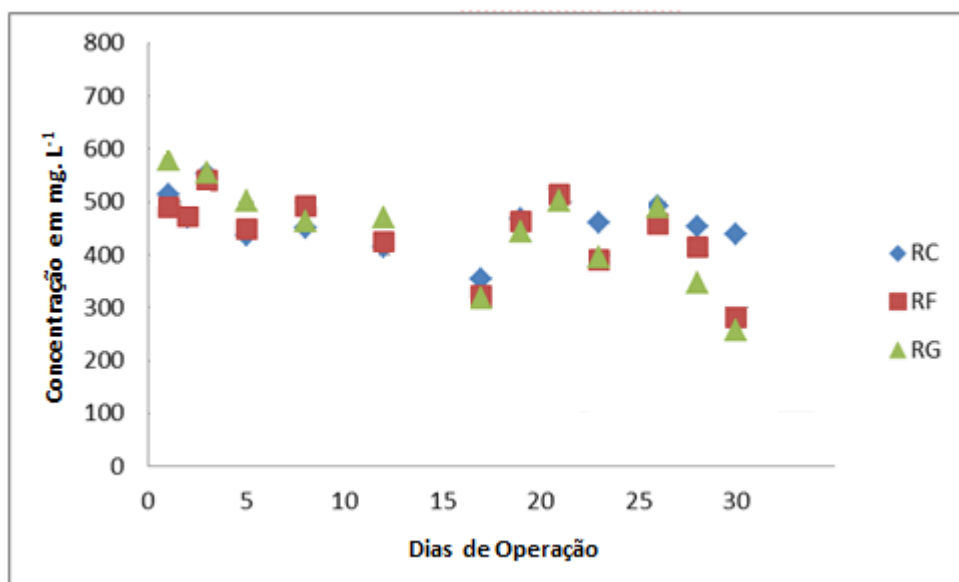
ainda registra uma taxa de 90% de degradação de surfactante pelo o sistema de Lodos Ativados no tratamento de efluentes domésticos, percentual pouco superior aos registrados pela presente pesquisa em apenas 30 dias de operação.

Oliveira *et al.* (2009) estudaram a degradação de LAS 14 mg.L^{-1} em um reator anaeróbico horizontal de leito fluidizado (RAHLF) e um filtro com carvão ativado, registrando um percentual de remoção de 28% de LAS em reator RAHLF e 27% de remoção para o filtro com carvão ativado.

Bautista-toledo *et al.* (2008) estudaram a remoção do surfactante dodecil benzenossulfonato (SDS) por adsorção e verificaram que a presença de micro-organismos na superfície do filtro de carvão ativado eleva as taxas de remoção por adsorção do surfactante no material adsorvente. Aksu *et al.*, (2010) verificaram a influência do surfactante SDS na concentração de 1 mM no aumento da eficiência na degradação do corante catiônico azul de metileno pela espécie fúngica *Rhizopus arrhizus*.

Na Figura 11 é possível observar o comportamento da variável amônia no reator em batelada aerada com utilização de biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com uma concentração de LAS de 15 mg.L^{-1} .

Figura 11 – Variação da concentração de amônia ao longo do ciclo do reator em batelada aerada com utilização de biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L^{-1} de LAS.



Fonte: Autor (2014).

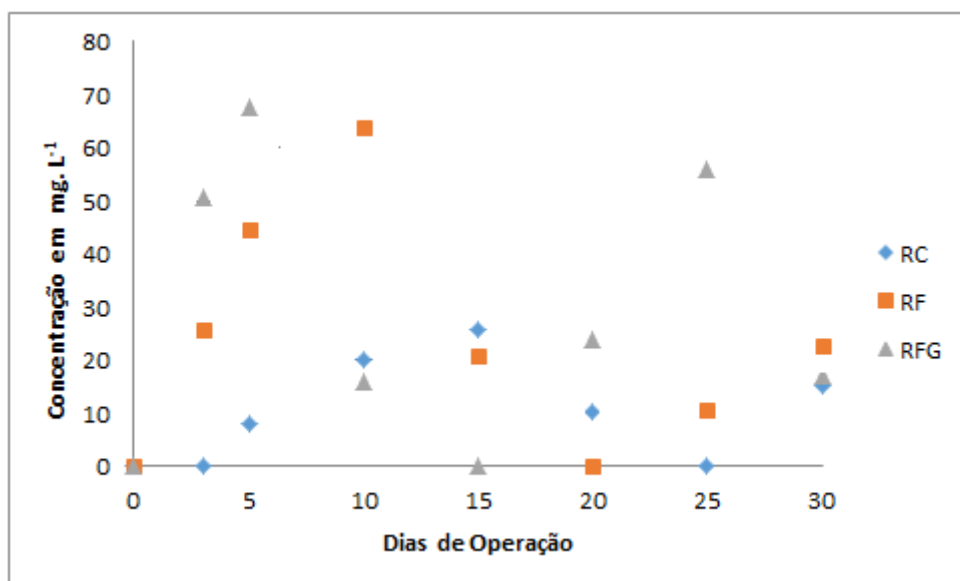
A remoção da amônia ocorreu em percentuais de 55,7% para o RFG, 44% para o RF e 14,2% para o reator controle RC. De acordo com Eltaief (2002) a espécie fúngica *Aspergillus niger* pode utilizar concomitantemente as duas fontes de nitrogênio, amônia e

nitrato. Este fato foi observado por Souza Neto (2012), em seu estudo com biomassa imobilizada de *Asperillus niger* AN 400 na remoção dos pesticidas metil paration e atrazina, obtendo 56% de remoção de amônia e 85% de remoção de nitrato. Damasceno (2012) observou a remoção de nitrogênio em compostos petroquímicos por *Aspergillus niger* AN 400 com percentuais de remoção que variavam de 65 a 85%.

Rodrigues (2012) afirma que o íon amônio atua como o principal regulador da utilização de nitrogênio pelo fungo, sendo essencial para o metabolismo anabólico do nitrogênio nas espécies fúngicas na absorção e produção de biomassa. A presença do íon garante o crescimento e desenvolvimento do fungo com a produção de aminoácidos e posteriormente biomassa em meio ácidos e levemente alcalinos (GRIFFIN, 1994). Mazoto *et al.* (2013) destacaram o controle da amônia exercido pelo pH e a importância da disponibilidade desta substância no desenvolvimento e produção de enzimas pelas espécies filamentosas como o *Aspergillus niger*.

Na Figura 12 se pode observar o comportamento do íon nitrito, com picos de produção e consumo ao longo da operação. De acordo com Papagiani (2007) na operacionalização do metabolismo fungico é comum se observar picos de produção e consumo do íon intermediário nitrito que pode indicar a amonificação ou a nitrificação de acordo com outros fatores do meio como pH, temperatura e fonte de nitrogênio disponível.

Figura 12 – Variação da concentração de nitrito ao longo do ciclo do reator em batelada aerada com utilização de biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L⁻¹ de LAS.

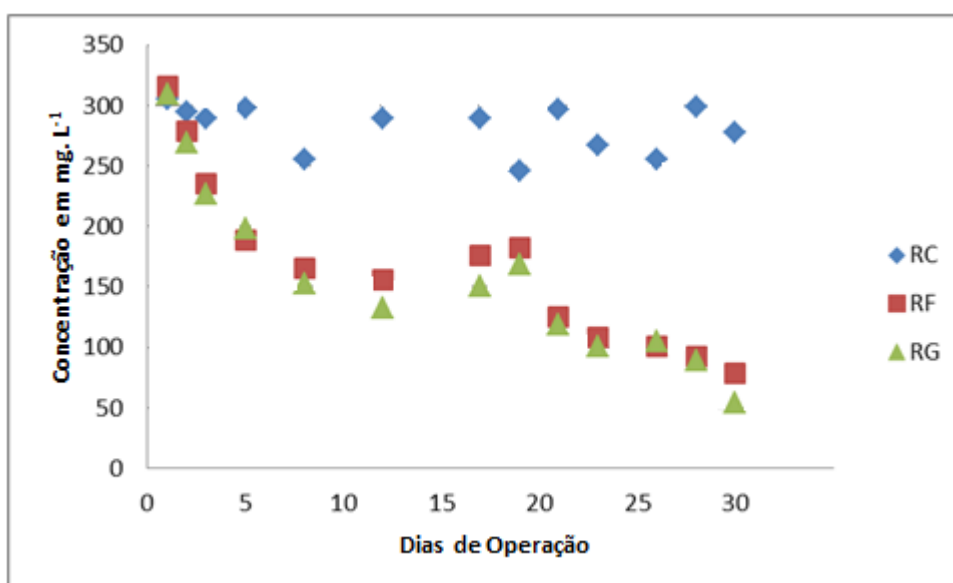


Fonte: Autor (2014).

O aumento de compostos nitrogenados sob a forma de amônia em alguns períodos do ciclo, assim como a relativa baixa eficiência na remoção de amônia, podem ser explicados de acordo com os estudos de Li e Kane (2009) e Wei *et al.*, (2014). Os autores destacam a propriedade dos fungos na produção e armazenamento dos aminoácidos em vacúolos no citoplasma como reserva de nitrogênio, sendo estas reservas de nitrogênio podendo ser liberadas após um determinado período, o que pode contribuir para a prevalência da amônia em meio aquoso. Hwang *et al.* (2004) destacam a liberação de nitrogênio pelo metabolismo fúngico por certas enzimas a partir do processo de excreção do glutamato, etapa que antecede o processo de transaminação.

Na Figura 13 é possível observar o comportamento da espécie fúngica na utilização de nitrato nos reatores em batelada aerada com biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L⁻¹ de LAS. Foram observadas taxas de remoção de 82,5% para o RFG, 75,2% para o RF e 8% para o RC.

Figura 13 – Variação da concentração de Nitrato ao longo do ciclo do reator em batelada aerada com utilização de biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L⁻¹ de LAS.



Fonte: Autor (2014).

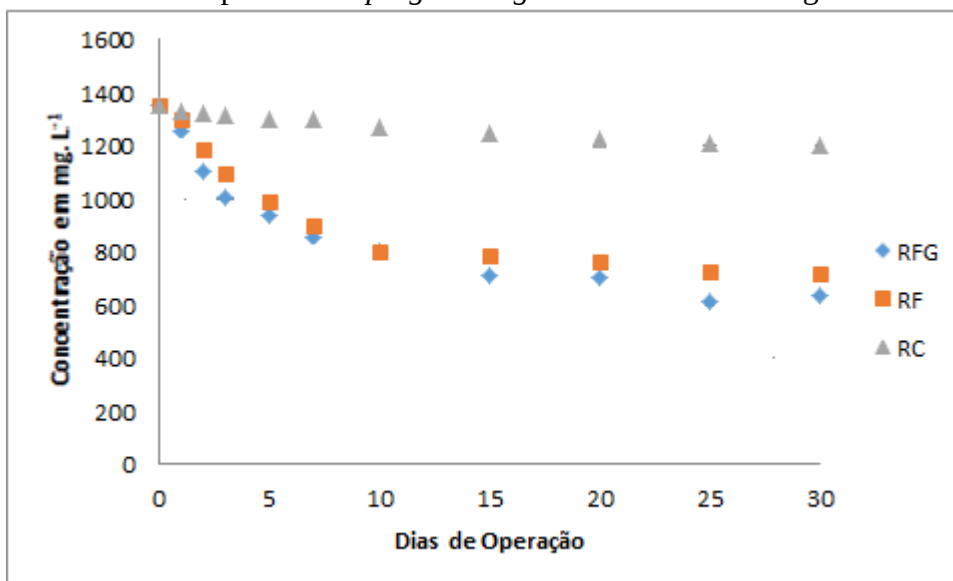
Ao analisar os dados das Figuras 12, 13 e 14 é possível perceber a utilização simultânea de amônia e nitrato, com preferência pela espécie fúngica pelo nitrato principalmente nos primeiros 10 dias do ciclo, onde se observa uma queda mais acentuada na concentração de nitrato do meio. Damasceno (2012) destacou o equilíbrio osmótico da célula fúngica como fator chave para o equilíbrio entre o consumo do íon amônio e o nitrato tendo o íon nitrito como intermediário.

Hwang *et al.* (2007) relataram que a utilização do íon nitrato é a forma preferencial de assimilação pelos fungos filamentosos onde seu transporte para o interior da célula é realizado através da enzima permease. Uma vez no interior da célula o íon sofre repetidas reduções a forma de nitrito e amônia, pelas enzimas nitrato e nitrito redutase, para então ser protonada a íon amônio.

Souza Neto (2012) obteve resultados de remoção de nitrato na ordem de 86% com *Aspergillus niger* AN 400 na degradação de pesticidas. Em contra partida Damaceno *et al.* (2012) em seu estudo da degradação fúngica de efluentes petroquímicos utilizando *Aspergillus niger* AN 400 não observou grandes taxas de remoção de nitrato do meio. Os autores atribuem este fato aos valores de pH no qual se encontravam os efluentes, na ordem de 5, onde se percebe uma maior concentração do íon amônio nesta faixa de pH, o tornando mais facilmente assimilável sem a necessidade de redução intracelular, fato este não observado no RFG, RF e RC com taxas de pH quase sempre gravitando em torno de 7.

Os valores e o comportamento do íon sulfato ao longo da operação dos reatores em batelada com biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 são descritos na Figura 14, onde é possível verificar a assimilação do íon sulfato durante os ciclos de operação com um percentual de remoção de 50,02% para o reator de fungo e glicose (RFG), 47% para o RF e 11% de remoção para o RC.

Figura 14 - Concentração de Sulfato ao longo do ciclo do reator em batelada aerada com utilização de biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L⁻¹ de LAS.



Fonte: Autor (2014).

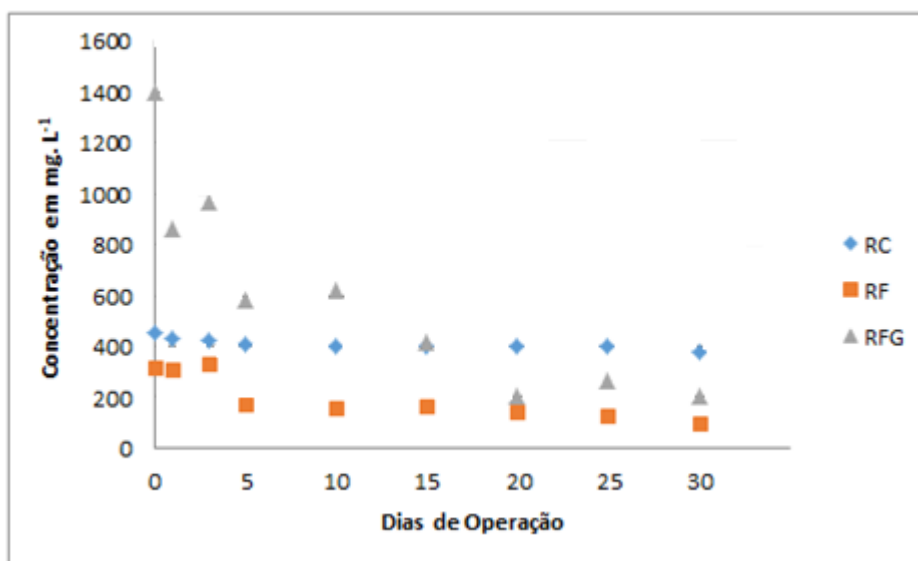
Os sulfatos são necessários a espécie fúngica para a produção de aminoácido sulfatados e metabólitos secundários, sendo importantes fontes de nutrientes para os micro-

organismos. Este íon se constitui como a forma mais facilmente assimilável pelos micro-organismos e sua presença pode proporcionar alcalinidade no meio, influenciando nas taxas de consumo de nutrientes (CHEN *et al.*, 2008). Desta forma, seu consumo indica sua utilização no desenvolvimento da cultura, contribuindo para o equilíbrio do pH do meio e a manutenção da assimilação das fontes de nitrogênio.

5.2.2 Desempenho dos reatores biológicos com utilização de biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com concentração de 30 mg.L^{-1} de LAS.

Na Figura 15 e na Tabela 04 se pode observar o comportamento de remoção da matéria orgânica sob a forma de DQO bruta, onde se percebe uma intensa atividade microbiana nos primeiros dias de operação. É possível perceber um melhor desempenho do reator de fungo e glicose RFG, na remoção de DQO, com 82,7% de eficiência na remoção variando de uma concentração inicial de 1551 mg.L^{-1} para 268 mg.L^{-1} no final da operação, em comparação, o reator RF apresentou uma eficiência na remoção de DQO de 72,7% e reator controle de 13,6%. Sumathi e Manju (2000), afirmam que os fungos necessitam de cossustrato para remoção mais eficiente de compostos orgânicos. Como verificado nesta pesquisa.

Figura 15 - Variação da concentração de matéria orgânica bruta, em reatores de batelada utilizando biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com concentração de 30 mg.L^{-1} de LAS.



Fonte: Autor (2014).

Eltaief *et al.* (2007) e Muniraj *et al.* (2013), atribuíram a influência do cossustrato de fácil assimilação, como a glicose, no aumento da remoção e eficiência de

reatores biológicos. Os autores afirmam que no estudo do comportamento de fungos expostos a compostos de estrutura complexa, a oferta de substratos de mais fácil assimilação ativam mecanismos específicos do metabolismo conhecido como cometabolismo.

De acordo com os dados da Tabela 04 pode-se perceber o quantitativo das variações da concentração de DQO ao longo do ciclo de operação dos reatores e eventuais diminuições nas remoções de matéria orgânica nos reatores de RFG, RF podem ser explicitadas pela produção de biomassa e liberação de excretas e subprodutos pelos micorganismos (ZNAD *et al.*, 2004), o que pode ser observado na presente pesquisa principalmente nos tempos de retenção entre o 3º e o 5º e entre o 15º e o 20º dia.

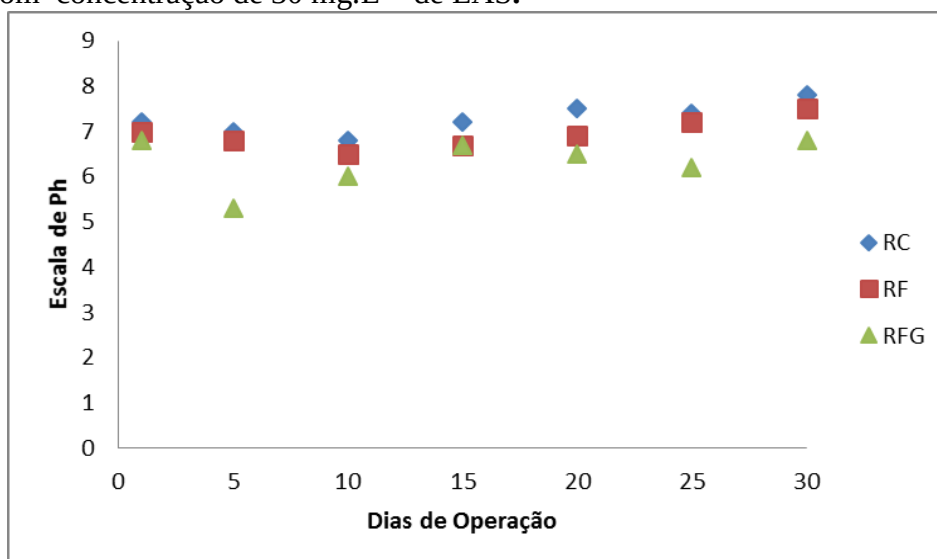
Tabela 04 - Remoção de DQO bruta ao longo da batelada aerada com biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400.

Tipo de reator	1 dia	3 dia	5 dia	10 dia	15 dia	20 dia	25 dia	30 dia
RC	1,04	5,8	7,9	11,3	12,3	12,6	13,4	13,6
RF	31,7	32,6	27,10	62,7	65,8	63,9	69,4	72,7
RFG	9,25	44,15	37,3	62,5	59,3	72,9	86,62	82,7

Fonte: Autor (2014).

Na Figura 16 se observa um comportamento de queda no pH do RFG durante a primeira semana de operação chegando ao valor de 5,77. Sumathi *et al.* (2000) afirmam que a degradação da glicose em reatores biológicos geram diminuição do pH devido a produção de ácidos orgânicos, como o ácido cítrico.

Figura 16 - Comportamento do pH em reatores em batelada dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com concentração de 30 mg.L⁻¹ de LAS.

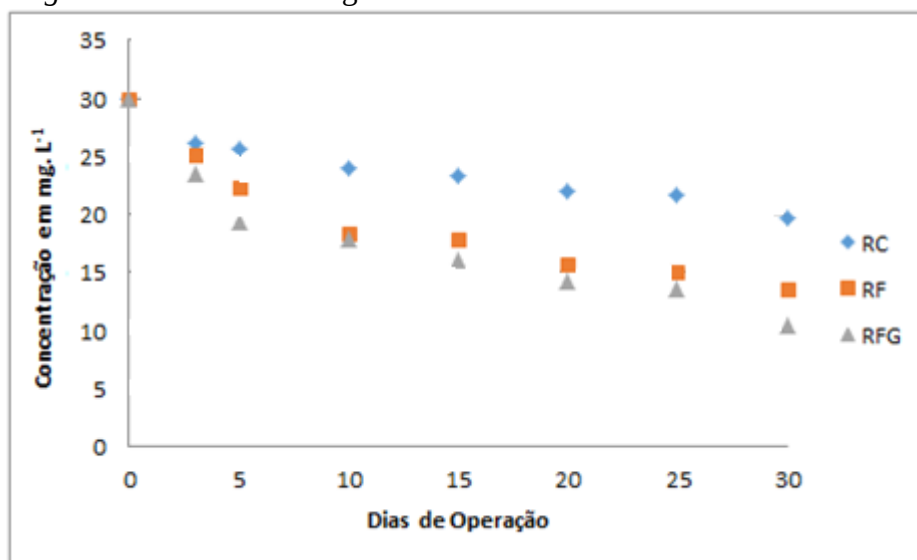


Fonte: Autor (2014).

O reator de RFG obteve valores de pH que variaram de 5,77 a 7,83. Já no RF foi observado uma taxa de variação de 7,88 a 8,27. As variações do pH aparentemente influenciaram na diminuição das taxas de remoção de matéria orgânica e remoção de LAS, apresentado na Figura 17. A partir do 20º dia de operação se verificou o aumento do pH nos reatores que continham fungo, devido possivelmente ao consumo dos ácidos orgânicos e liberação de substâncias localizadas nos vacúolos das células microbianas, fato descrito nos estudos de acordo com El Rhaim *et al.* (2009) e Arimi *et al.* (2011).

No que diz respeito à degradação do LAS, o comportamento dos reatores são observados na Figura 17 e na Tabela 05, onde se percebeu um melhor desempenho na remoção do poluente no reator contendo fungo e glicose (RFG) com um desempenho total na remoção de 65,3 % correspondendo a uma concentração de 19,6 mg.L⁻¹ do surfactante LAS removido do meio. A remoção de LAS no RF foi de 54,4% correspondendo a uma concentração de aproximadamente 17,4 mg.L⁻¹ removido. As significativas taxas de remoção do reator RF confirmam o potencial de degradação do surfactante LAS pela espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400.

Figura 17 - Remoção de LAS em reator de batelada aerada utilizando biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com 30 mg.L⁻¹ de LAS.



Fonte: Autor (2014).

Percebe-se a aparente influência positiva da adição da fonte de carbono de fácil assimilação como cossubstrato na maximização do poder de remoção da espécie fúngica *Aspergillus niger* sobre o poluente surfactante LAS. O aumento do poder de degradação da espécie *Aspergillus niger*, foi verificado com exitosos resultados nos estudos com a espécie *Aspergillus niger* por More *et al.* (2010) em efluentes ricos em fenol, por Ali *et al.* (2012) na

remoção de corantes e Dejeal *et al.* (2013) em seus estudos sobre elevação do poder de degradação fúngica através do consórcio de micro-organismos.

Verifica-se que a propriedade de utilizar fontes de carbono como indutor para a remoção de poluente pelas espécies fúngicas pode variar de acordo com a natureza da molécula, o tipo de micro-organismo e a modalidade de reator biológico com o qual se trabalha. Djeal *et al.* (2013) buscaram descrever a capacidade de degradação dos fungos e suas enzimas assim como as principais diferenças de operação entre os reatores fúngicos em escala laboratorial e em escala piloto.

Na presente pesquisa da degradação do surfactante LAS, ação da glicose parece ter acelerado a fase de crescimento exponencial microbiana, podendo ser verificada no comportamento dos reatores nos primeiros 15 dias de operação com alcance de valores significativos na remoção do poluente LAS, matéria orgânica e remoção de nutrientes. Após este período se percebeu-se um ritmo de remoção mais lento do surfactante LAS assim como um decaimento na remoção de DQO se devendo possivelmente ao fato da diminuição da oferta e biodisponibilidade de nutrientes e fontes de carbono, natural nesta configuração de reator biológico.

Este fato foi observado durante a operação dos reatores em batelada aerada com utilização de biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 na concentração de 15 mg.L^{-1} de LAS.

Vale ressaltar que embora a remoção tenha sido significativa em todas as etapas as taxas da concentração do poluente ainda estiveram muito acima das permitidas pela legislação federal vigente que é a resolução 357/2005 do CONAMA, a que estabelece para compostos surfactantes, limite de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ para a presença da substância nos ambientes aquáticos no Brasil.

Tabela 05 - Comportamento da remoção LAS em % ao longo da batelada aerada com biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com 30 mg.L^{-1} .

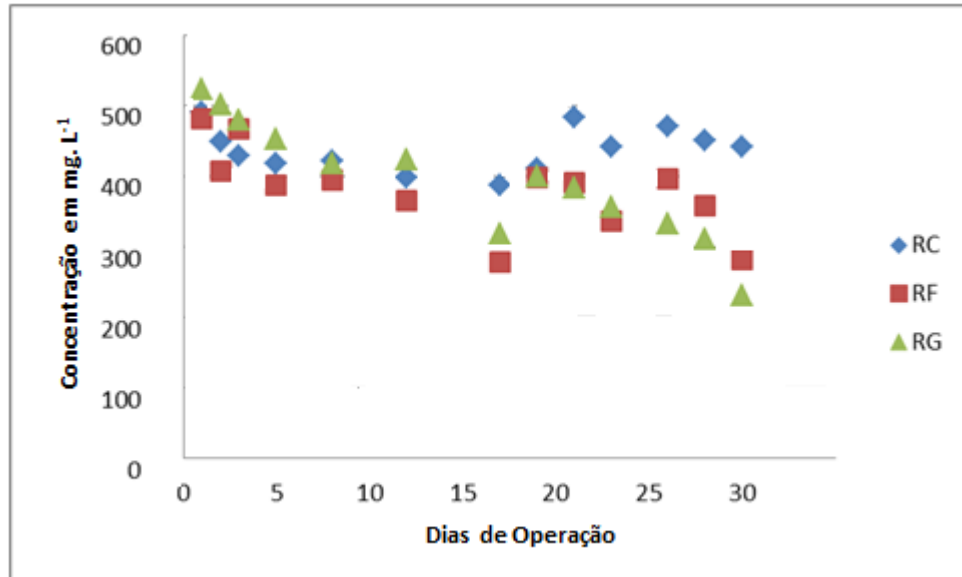
Tipo de reator	3 dia	5 dia	10 dia	15 dia	20 dia	25 dia	30 dia
RC	13,2	14,6	19,9	22,1	26,7	27,8	34,5
RF	16,4	25,6	38,6	40,3	47,7	49,9	54,8
RFG	21,6	35,7	40,5	46,5	52,4	54,6	65,3

Fonte:Autor (2014).

O comportamento dos reatores no consumo de amônia, nitrito e nitrato, expressos nas Figuras 18, 19 e 20 se percebe um comportamento semelhante aos dos reatores operados

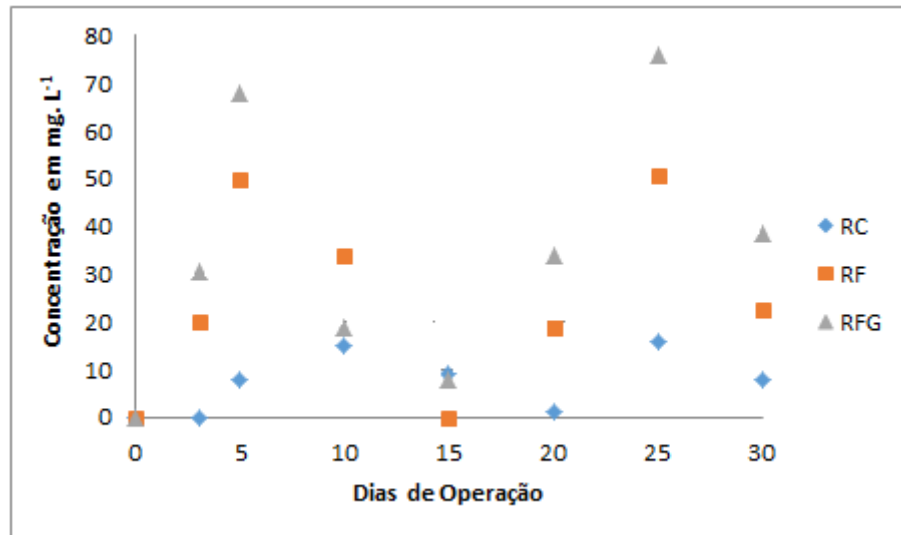
em batelada aerada com utilização de biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L⁻¹ de LAS, com uma remoção de 56,7% no RFG, 58% no RF e 11% no RC para amônia e 89% para o RFG, 71,5% para o RF e 9% no para o nitrato.

Figura 18- Variação de Amônia em reatores em Batelada com utilização de biomassa dispersa e concentração de 30 mg.L⁻¹ de LAS.



Fonte: Autor (2014).

Figura 19- Variação de Nitrito em reatores em Batelada com utilização de biomassa dispersa e concentração de 30 mg.L⁻¹ de LAS.



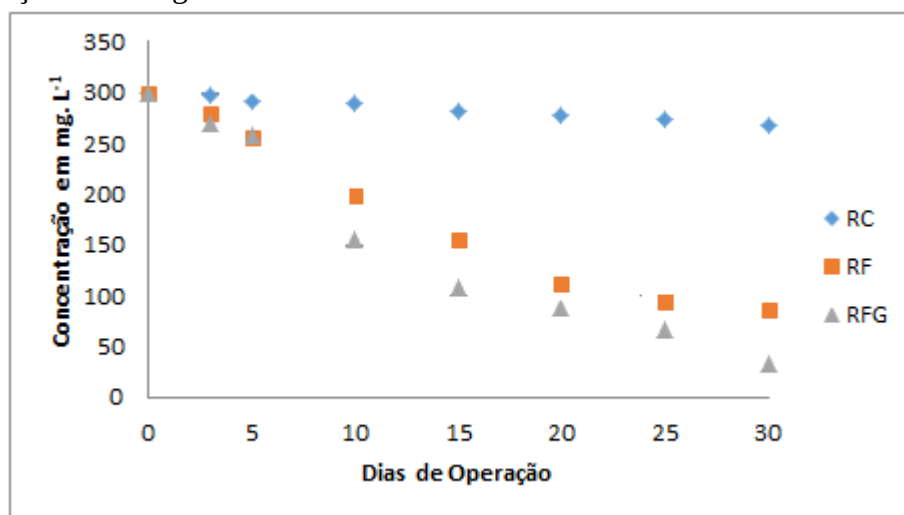
Fonte: Autor (2014).

A produção e o consumo do íon nitrito em reatores biológicos está diretamente associada a dinâmica da variação do pH, do substrato fornecido ao meio e das características dos micro-organismos estudados. Neste sentido ora se observa a oxidação da amônia a nitrito

e posteriormente a nitrato, ora a redução de nitrato a nitrito e este a amônia (PAPAGIANI, 2007).

A oscilação dos valores de nitrito associados aos valores de remoção de amônia e nitrato indicam a utilização em concomitância das duas fontes de nitrogênio pela espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400, uma das características desta espécie. Na presente pesquisa se observou picos na produção de nitrito ocorridos em períodos de variações mais acentuadas nas remoção de amônia, Figura 19, e decaimento do pH, Figura 17, o que pode indicar uma maior facilidade pela espécie fúngica nas condições encontradas no experimento na oxidação da amônia ao íon nitrito, como foi observado por Eltaief *et al.*(2007) em seus estudo na remoção de corante vermelho do congo por *Aspergillus Alliaceus strain 121C*.

Figura 20- Variação de Nitrato em reatores em Batelada com utilização de biomassa dispersa e comcentração de 30 mg.L⁻¹ de LAS.



Fonte Autor (2014).

Os valores apresentados, indicam a preferência da espécie fúngica estudada pelo uso do nitrato como fonte de nitrogênio em relação ao nitrito e a amônia. Foi possível observar variações nas taxas de consumo da amônia tendo em alguns dias o incremento na concentração, este fato pode estar associados aos processos naturais do *Aspergillus niger* na conversão de nitrato a amônia em faixas de pH levemente alcalinos, fato ocorrido nos últimos dias de operação e também descrito por Papagiani (2007), por Elena *et al.* (2009) em suas observações da espécie *Aspergillus niger* e produção de enzimas.

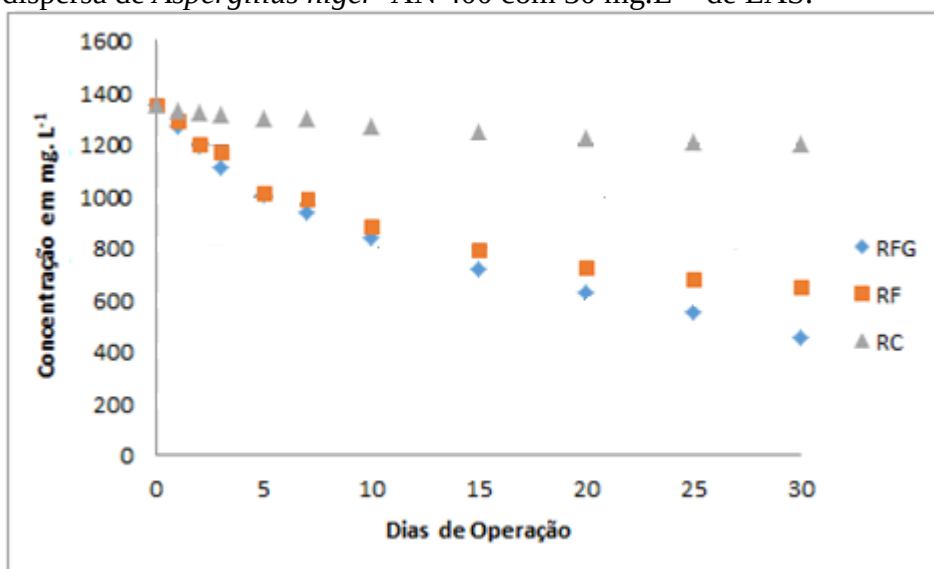
O comportamento da produção e consumo de sulfato ao longo da operação é descrito na Figura 21, pode indicar a utilização do íon sulfito da fase da degradação do LAS em todos os reatores e sua posterior oxidação a sulfato no meio aquoso, ocorrendo atarvés da

dessulfonação oxidativa do grupo sulfônico ligado a cadeia aromática (MUNGRAY; KUMAR, 2008).

Durante a primeira quinzena de operação se observou as maiores taxas de produção assimilação do sulfato coincidindo com o período das maiores taxas de remoção do LAS com valores que chegam a 58,5% e 49,3% e 9 % no RFG, RF e RC respectivamente. É possível observar um comportamento semelhante no reator em batelada com utilização de biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 na concentração de 15 mg.L⁻¹.

Os estudos de Gonzalez *et al.* (2012) afirmam que este tipo de transformação se caracteriza como uma das principais rotas de degradação biológica do surfactante LAS.

Figura 21 - Comportamento da produção de sulfato nos reatores em batelada aerada utilizando biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com 30 mg.L⁻¹ de LAS.



Fonte: Autor (2014)

5.3-Batelada Sequenciais Repetidas (RBS) – Etapa 03

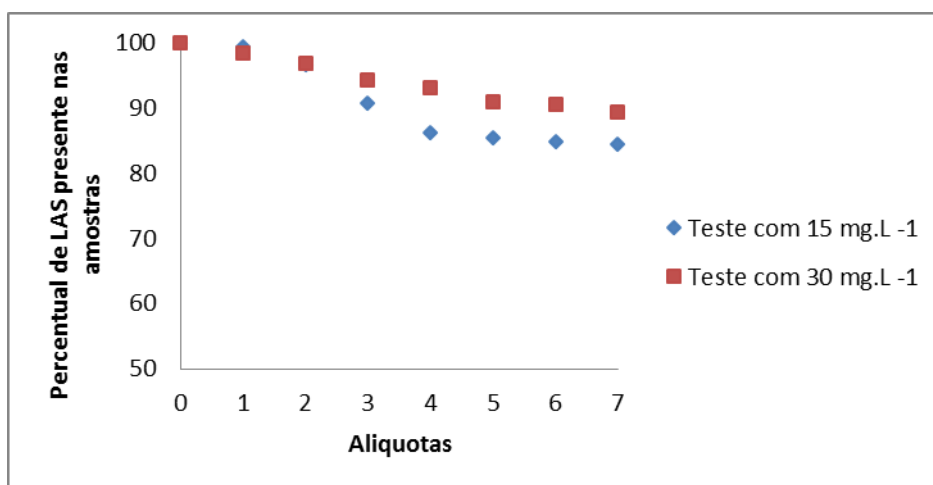
5.3.1 Teste de adsorção do surfactante no material suporte em concentrações de 15 mg.L⁻¹ e 30 mg.L⁻¹ de LAS.

Na Figura 22 é possível verificar o comportamento do tensoativo LAS na adsorção ao material suporte utilizado para a imobilização da biomassa de *Aspergillus niger* AN 400, nas concentrações de 15 mg.L⁻¹ e 30 mg.L⁻¹ de LAS. É possível perceber a aparente estabilização da adsorção de LAS pelo material suporte, espuma de poliuretano, a partir da aliquota de número 5 correspondendo a um tempo de 100 minutos aproximadamente. Ao final

do ciclo, os valores obtidos foram da ordem de 15,53% e 10,50% de adsorção no material suporte respectivamente.

Estes valores correspondem a 2,4 mg.L⁻¹ de surfactante adsorvido no material suporte na situação de 15 mg.L⁻¹ de LAS, como concentração inicial e 3,2 mg.L⁻¹ de surfactante de surfactante adsorvido no material suporte na situação de 30 mg.L⁻¹ de LAS, como concentração inicial. O conhecimento destes dados são importantes para o estudo da biodegradação pela espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 ao poluente LAS.

Figura 22 - Percentual de remoção de LAS no reator durante a realização do teste de adsorção.



Fonte: Autor (2014).

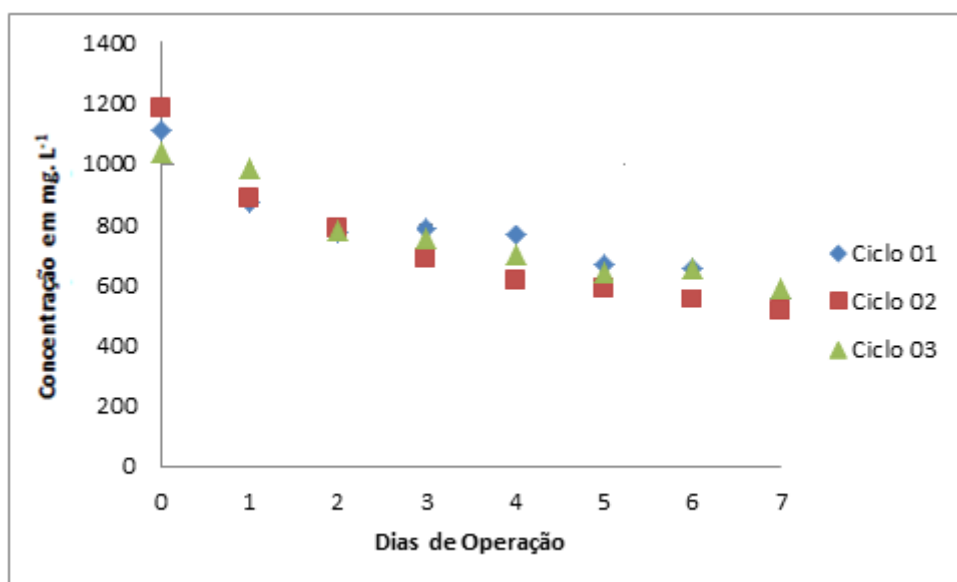
Lemos *et al.* (2007) destacaram as características da espuma de poliuretano na adsorção de compostos de águas contaminadas e sua eficiente contribuição quando combinadas com outras de degradação de poluentes em águas contaminadas. Eliene *et al.* (2008) realizaram testes com adsorção induzida de SDS (dodecil sulfonato de sódio) para maximizar a remoção do corante azul de metileno chegando a resultados de 95% na remoção do corante.

Sharari *et al.* (2013) em seus estudos de remoção de cor de efluentes de indústrias de canaviais descrevem a exitosa combinação entre a espuma de poliuretano, utilizada como material suporte na imobilização do espécie fúngica *Phanerochaete chrysosporium* atuando de forma protagonista tanto na adsorção de matérias, favorecendo sua posterior degradação, como na difusão de oxigênio que resultou em aumento da atividade enzimática da espécie.

5.3.2- RBS com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 em concentração de 15 mg.L⁻¹ de LAS (168 h).

Nesta etapa do estudo percebeu-se uma eficiência de 66,8% , 69,88% e 63% nos ciclos 01, 02 e 03, respectivamente, na remoção de DQO, como ilustrado na Figura 23, que mostram o comportamento de remoção ao longo da operação dos reatores, este fato se atribui a intensa atividade microbiana com maior produção de biomassa. Comportamento semelhante ao ocorrido nos estudos de Rodrigues *et al.* (2010) e Araujo (2012) na operação de reatores em bateladas sequenciais utilizando *Aspergillus niger* AN 400 na remoção de corantes textéis. Miron *et al.* (2010) descrevem o papel protagonista da glicose como facilitador dos processos de imobilização e fermentação realizada pela espécie fúngica *Aspergillus niger* utilizando como material suporte espumas de poliuretano.

Figura 23 - Comportamento de matéria orgânica sob a forma de DQO bruta em Batelada sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L⁻¹ de LAS.

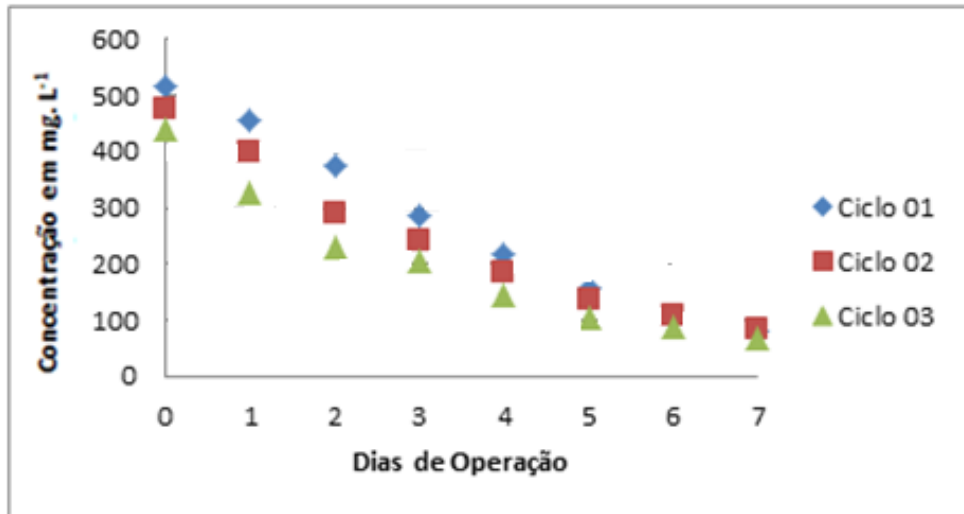


Fonte:Autor (2014).

Na Figura 24 se observa o decréscimo da DQO filtrada com uma média de remoção de 68,5%, 82,5% e 79,6% nos ciclos 01, 02 e 03 respectivamente. O pico de remoção de matéria orgânica dissolvida ocorreu no segundo dia de operação atingindo os valores de 23% para o ciclo 01, 26% para o ciclo 02 e 29% no ciclo 03.

Os valores discrepantes entre a DQO bruta e a DQO filtrada indicam a intensa produção de biomassa e a rápida metabolização da glicose pelas células fúngicas. Musfafa e Alarmi (2012) relataram o significativo poder de diminuição de DQO pela espécie fúngica *Aspergillus niger* J4 imobilizada, possibilitando sua utilização tanto econômica na produção de ácido cítrico como na degradação efluentes.

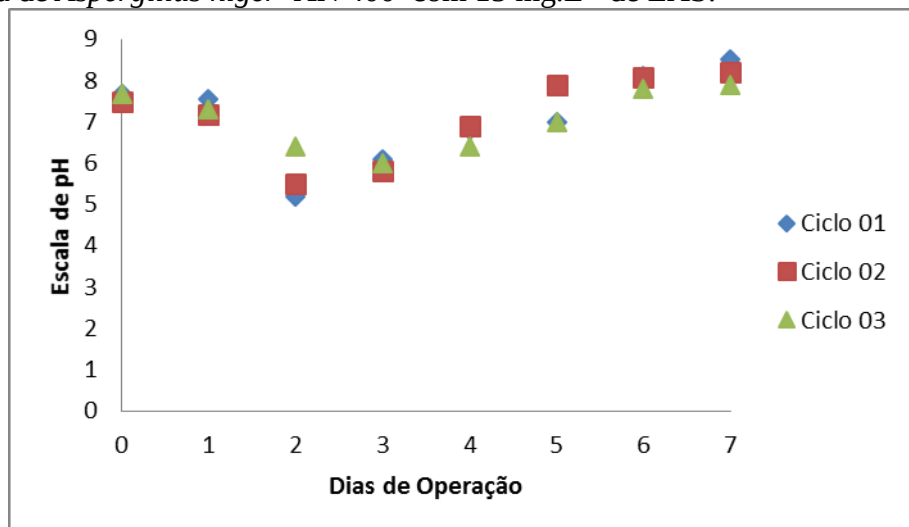
Figura 24 - Comportamento de matéria orgânica sob a forma de DQO filtrada em Batelada sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400.



Fonte: Autor (2014).

O pH ao longo dos ciclos se mostrou levemente alcalino durante a operação do reator, como apresentado na Figura 25. Nos primeiros dias de operação observou-se os valores de pH mais baixos, em especial entre os dias 2 e 3 podendo ser correlacionado com os dias de maiores remoção de matéria orgânica, como ilustrado na Figura 23 e 24. Este comportamento se deve provavelmente as fases iniciais da degradação da glicose e geração de ácidos orgânicos (GRIFFIN, 1994; MUSTAFA; ARIMI, 2011).

Figura 25 - Variação do pH ao longo da operação da Batelada Sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L⁻¹ de LAS.



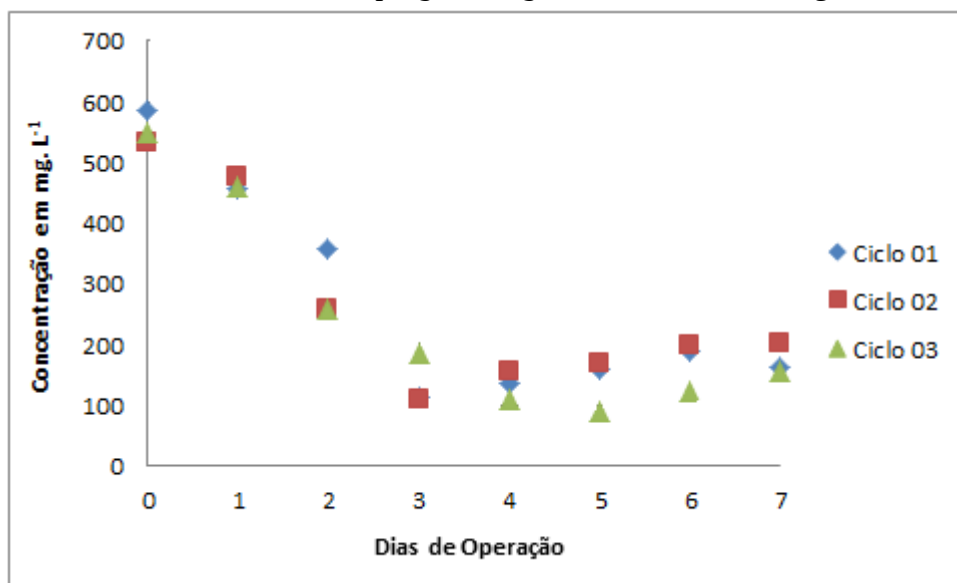
Fonte : Autor (2014).

É importante destacar os maiores índices observados na remoção de LAS nos últimos dias de operação onde o pH esteve sempre próximo de 8, como observado na Figura

30 e Tabela 06, se devendo possivelmente, a predileção inicial do micro-organismo a fonte de carbono e fácil assimilação, conforme afirmado por Miron *et al.* (2010), e ação de enzimas específicas para a degradação do surfactante. Santos *et al.* (2008) em seus estudos utilizando *Aspergillus niger* no tratamento de efluentes de refinaria de petróleo observaram faixas de pH entre 8,8 e 9,1 ainda com atividade biológica intensa, demonstrando que o metabolismo fúngico pode também ser relacionado com o aumento do pH. Os valores do comportamento do pH também se relaciona com os mecanismos de adsorção de fontes nitrogenadas, expressas nas Figuras 26 a 28.

Na Figura 26, 27 e 28 pode-se observar o comportamento do consumo de amônia, nitrito e nitrato respectivamente, ao longo dos ciclos de operação dos reatores em batelada utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400.

Figura 26 - Variação da concentração de Amônia ao longo dos ciclos da batela sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L^{-1} de LAS.



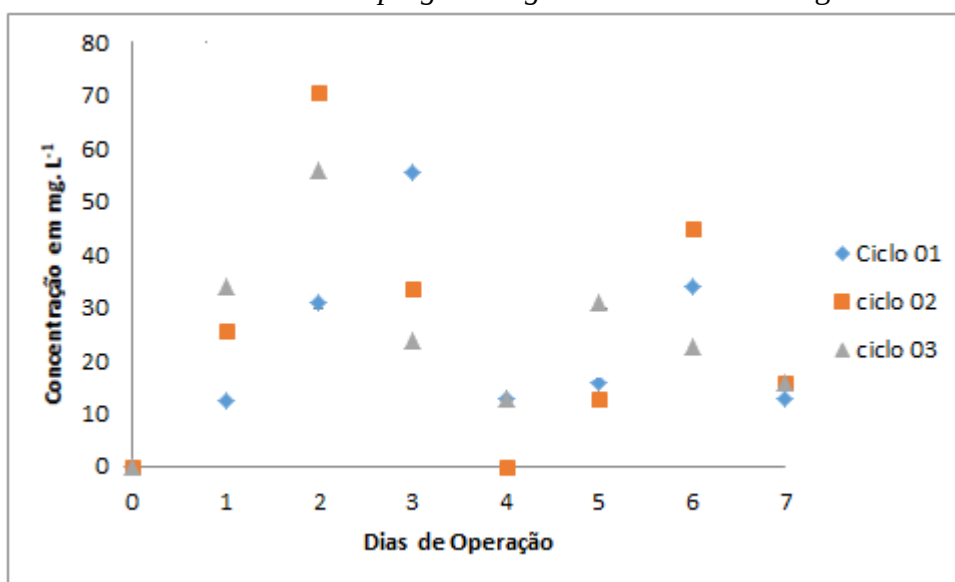
Fonte: Autor (2014).

Diferentemente dos reatores RFG, RF e RC utilizados sob a forma de biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 nas concentrações de 15 e 30 mg.L^{-1} de LAS, onde se percebeu maiores taxas de remoção de nitrato em relação às taxas de remoção de amônia, na modalidade de operação utilizando bateladas sequenciais repetidas com biomassa imobilizada na concentração de 15 mg.L^{-1} de LAS, as maiores remoções foram de amônia em relação às taxas e remoção de nitrato. Percebeu-se um acelerado consumo das taxas de amônia nos primeiros dias de operação atingindo uma concentração mínima no terceiro dia de operação. Após este período, observou-se um movimento de estabilidade com um suave aumento na concentração do quinto ao sétimo dia.

As taxas de remoção foram de 75,5% para o primeiro ciclo, 87% no segundo ciclo e 81% no terceiro ciclo para a remoção de amônia e 74,6% no primeiro ciclo, 70,1% no segundo ciclo e 78,6% no terceiro ciclo na remoção de nitrato do meio.

Na Figura 27 se observa o comportamento de produção e consumo de nitrito, durante os ciclos, com pico de produção no segundo dia e sexto dia de operação. Correlacionando as Figuras 26 e 28 se observa uma intensa utilização do íon nitrito na transformação a nitrato ou amônia e de acordo com os valores de pH na Figura 25 sugerem a nitrificação assim como na operação dos reatores em batelada com biomassa dispersa. (PAPAGIANI, 2007).

Figura 27 - Variação da concentração de Nitrito ao longo dos ciclos da batela sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L⁻¹ de LAS.

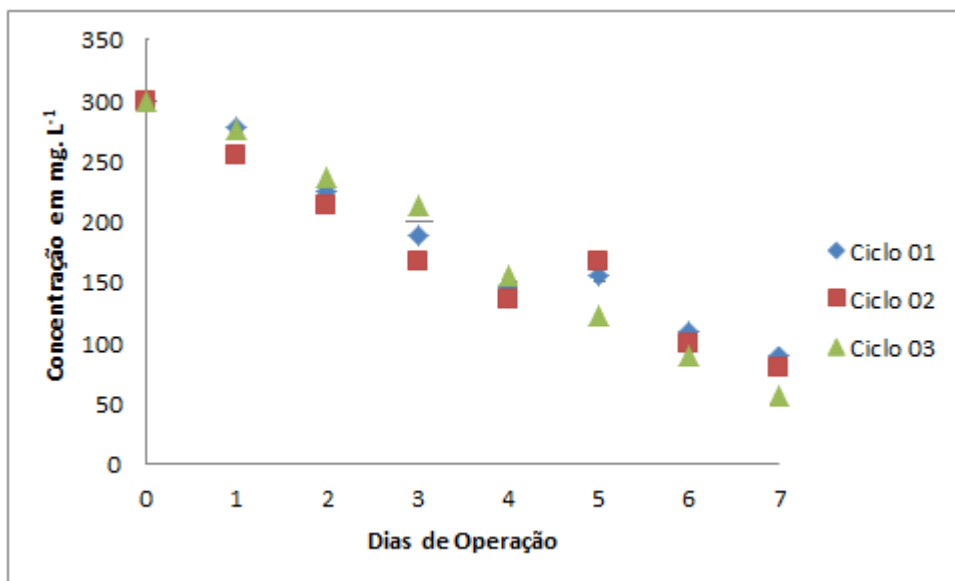


Fonte: Autor (2014).

A remoção de compostos nitrogenados está intimamente relacionada com o comportamento do pH nos sistemas microbiológicos em geral como afirma Sant'Ana (2010), este fato pode ser evidenciado nesta pesquisa onde nos intervalos de pH mais baixos se observou maiores taxas de remoção de amônia e nos períodos de pH mais elevado se percebe um aumento na concentração da substância.

Segundo Wei *et al.* (2014) a utilização em concomitância de amônia e nitrato como fonte de carbono é uma das características destas espécies fúngicas submersas. De acordo com Gautheir *et al.* (2010) o aumento da população microbiana proporcionada pela modalidade de operação do reator batelada sequenciais com utilização de biomassa imobilizada proporciona uma maior exigência da fonte de nitrogênio possibilitando bons níveis de remoção tanto de amônia como de nitrato.

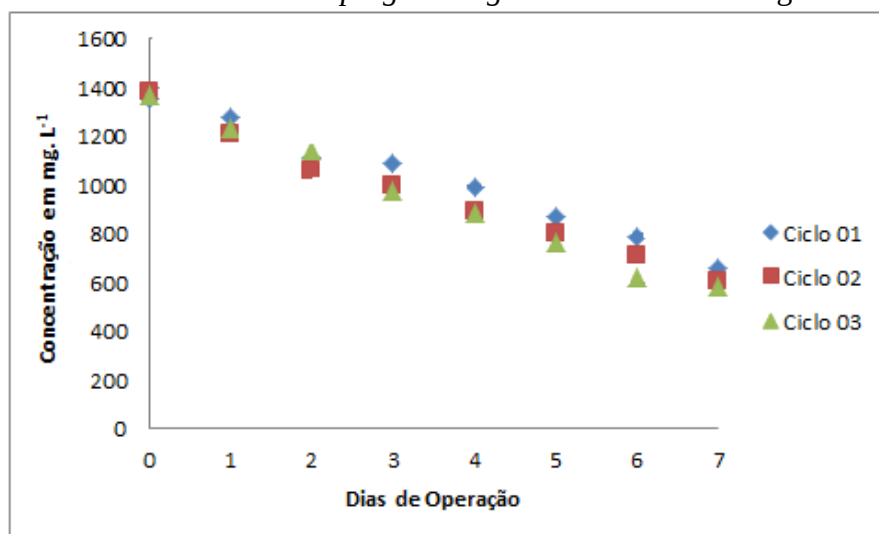
Figura 28 - Variação da concentração de Nitrato ao longo dos ciclos da batela sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L⁻¹ de LAS.



Fonte: Autor (2014).

O comportamento da variação do consumo de sulfatos, Figura 29, apresentaram percentuais de remoção de 45% no primeiro ciclo, 44,7 no segundo ciclo e 42,3% no terceiro ciclo. Ao se realizar a comparação entre o comportamento de consumo de sulfatos nos reatores em batelada com utilização do reator com biomassa dispersa com 15 e 30 mg.L⁻¹ de LAS e o ensaio em batelada com utilização de biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 observou-se nos percentuais de remoção um consumo mais acelerado nos ciclos de biomassa imobilizada.

Figura 29 - Variação da concentração de Sulfato ao longo dos ciclos da batela sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L⁻¹ de LAS.

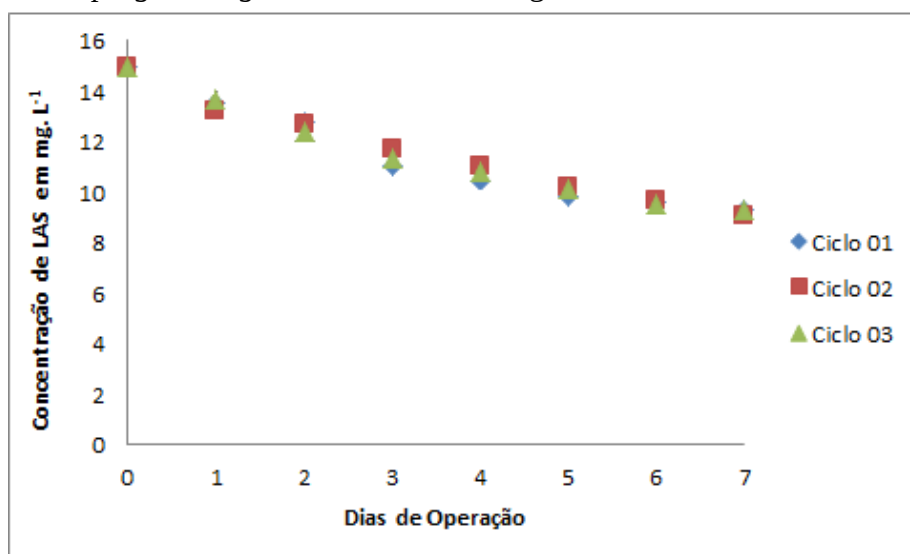


Fonte: Autor (2014).

A influência do material suporte no incremento da população microbiana e nas exigências nutricionais das fontes de carbono, nitrogênio e sulfato são relatadas por Gautheir *et al.*, (2010). A remoção de sulfatos do meio ocorreu mais acentuadamente nos últimos dias de operação do reator, coincidindo com o período de maior remoção de LAS e uma faixa mais alcalina de pH. Este comportamento se repetiu tanto no estudo dos reatores em batelada utilizando biomassa dispersa como nos reatores utilizando biomassa imobilizada, sugerindo uma maior facilidade da espécie fúngica na metabolização de sulfatos em faixas de pH próximas a 8.

O desempenho do reator em batelada sequencial com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 na remoção do surfactante LAS está ilustrado na Figura 30 e na Tabela 06. As médias de remoção do surfactante nos ciclos variaram em torno de 30% de eficiência, com uma maior velocidade de remoção nos últimos dias dos ciclos.

Figura 30 – Remoção do surfactante LAS em Batelada Sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L⁻¹ de tensoativo.



Fonte: Autor (2014).

Tabela 06 - Comportamento da remoção LAS em % ao longo da batelada sequencial com imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L⁻¹ de LAS.

Tipo de reator	1 dia	2 dia	3 dia	4 dia	5 dia	6 dia	7 dia
Ciclo 01	0,5	3,3	6,6	18,2	23,6	24,5	38,2
Ciclo 02	0,4	2,9	6,6	8,0	14,7	22,9	39,4
Ciclo 03	0,5	2,7	5,1	5,9	11,7	16,4	37,8

Fonte: Autor (2014).

Este comportamento pode ser explicado pela provável predileção e maior oferta de glicose nos primeiros dias de operação. Kim *et al.* (2006), afirmaram que a adição de glicose, como fonte primária de carbono, auxilia no tratamento de efluentes por biorremediação. Estas substâncias possibilitam aos micro-organismos a obtenção de energia para secreção de enzimas que culminam na degradação de compostos mais complexos.

Polizel, (2010) em seus estudos de degradação anaeróbia de LAS utilizou um reator de leito expandido e uma concentração média de LAS 15 mg.L⁻¹ no sistema de tratamento e obteve os seguintes resultados: Eficiência de remoção de 74% em 52 dias de operação com TDH de 32 h ; Eficiência de remoção de 64% em 111 dias com TDH de 26 h uma remoção e 49% de eficiência de remoção em 74 dias e TDH de 32 h.

Cariosa (2010), estudando reator RALF e TDH de 15 horas, obteve 42,5% de remoção em 231 dias de operação. Estes valores revelam que em comparação a reatores operados com bactérias na degradação do LAS, se percebeu significativos resultados positivos na performance dos reatores em batelada sequenciais utilizando a biomassa fúngica e indicam como fonte estratégica estudos dos tempos de retenção celular na degradação do surfactante.

Oliveira *et al.* (2010a) destacaram a influência do material suporte e do cossubstrato para mais efetiva remoção de poluentes. No estudo com reator UASB a autora testou vários tipos de material suporte carvão ativado, argila expandida, perola de vidro e areia com percentuais de remoção de surfactante acima de 81% e chegando a 99% no reator de perola de vidro.

A comparação dos percentuais de remoção entre os reatores que utilizavam a biomassa dispersa e os reatores que utilizavam a biomassa imobilizada nos sete primeiros dias de operação são observados na Tabela 07.

Tabela 07 - Comparativo das taxas de remoção LAS em % entre as etapas II e III da pesquisa.

Tempo de Cultivo (h)	RC 15ppm	RF 15ppm	RFG 15ppm	RC 30ppm	RF 30ppm	RFG 30ppm	Ciclo I	Ciclo II	Ciclo III
24	2,5	3,8	5,4	3,5	5,8	6,8	0,5	0,47	5,52
72h	13,4	15,1	16,7	13,2	16,4	21,6	6,66	6,68	5,13
120h	18,3	22,8	39,3	14,6	25,6	35,7	23,6	14,7	11,7
168h	22,2	31,3	46,8	38,8	33,2	38,6	38,2	39,4	37,8

Fonte: Autor (2014).

A Tabela 07 revela valores muito próximos de degradação do surfactante LAS, nos reatores estudados, nos primeiros dias sete dias de operação, onde é possível observar melhores taxas de eficiência na degradação do surfactante LAS no reator biológico que utiliza reatores em batelada com biomassa dispersa de a adição de glicose (RFG) com a concentração inicial de 15 mg.L^{-1} de LAS na ordem 46,8% de remoção, seguido dos reatores biológicos que utiliza a modalidade de biomassa dispersa com fungo e glicose (RFG) com a concentração de 30 mg.L^{-1} com 38,8% de eficiência de remoção e dos reatores dos ciclos com biomassa imobilizada com um comportamento de remoção praticamente iguais.

5.3.3 - RBS com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com uma concentração de 30 mg.L^{-1} de LAS.

Na Figura 32 está mostrado o comportamento da remoção de matéria orgânica bruta ocorrendo na ordem de 59% para o ciclo 01 e 58% para os ciclos 02 e 03. Estes resultados indicam atividade microbiana e formação de biomassa, como é possível observar na Figura 31 com a colonização da espécie fúngica do material suporte com a intensa produção de biomassa junto a espuma de poliuretano como também na material utilizado para difusão do oxigênio no reator.

Figura 31 – Operação do reator em Bateladas Sequeunciais Repetidas e a intensa produção de biomassa ao longo da operação.

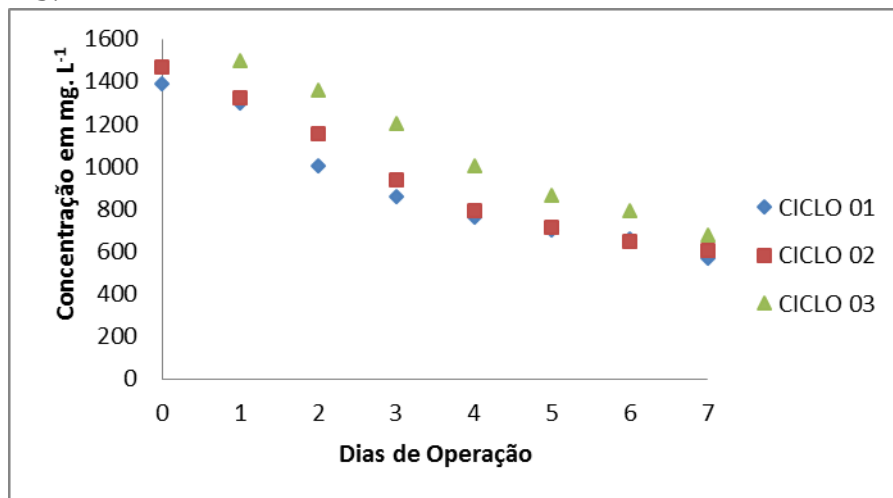


Fonte: Autor(2014).

Sant'Ana Junior (2010) destaca a habilidade de micro-organismos que desenvolvem filamentos, caso da espécie *Aspergillus niger* AN 400, em descrever velocidades diferentes de consumo de substratos e nutrientes em situações de escassez,

situações típicas dos finais dos ciclos de reatores operados de forma descontínua. Estes organismos desenvolveram a habilidade de estocagem de substratos solúveis na forma de reservas intracelulares e depois as utilizam para a manutenção de seu ritmo de crescimento e desenvolvimento culminando em intenso consumo de DQO no início do ciclo e um ritmo mais lento de consumo ao final dos ciclos, aliado a intensa produção de biomassa

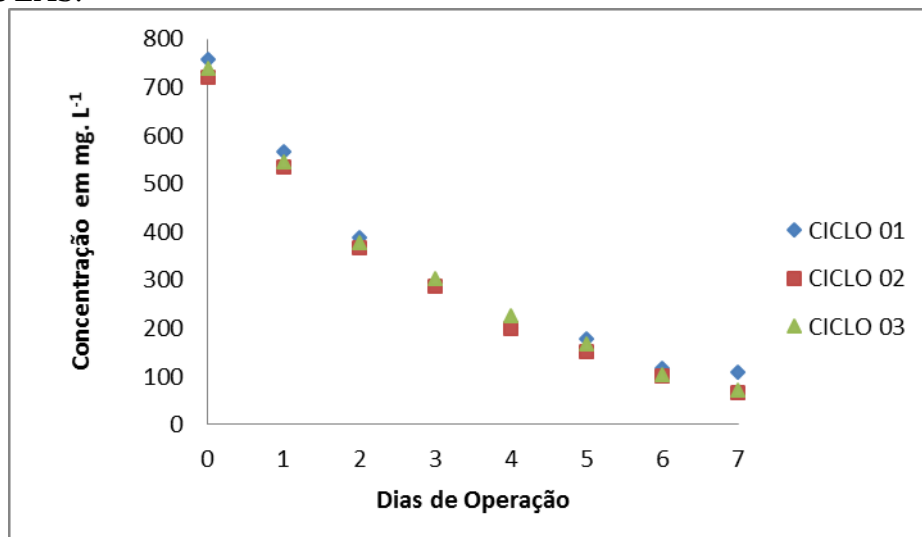
Figura 32 - Comportamento da concentração de matéria orgânica bruta em Batelada Sequenciais repetidas utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 30 mg. L⁻¹ de LAS.



Fonte: Autor (2014).

Na Figura 33 é possível observar o consumo de DQO filtrada, que ocorreu na ordem de 85% para o ciclo 01 e de 90% para os ciclos 02 e 03, demonstrando a intensa metabolização de substrato como fonte de energia para a ativação do metabolismo fúngico.

Figura 33 - Comportamento da concentração de matéria orgânica filtrada em Bateladas Sequenciais repetidas utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 30 mg. L⁻¹ de LAS.



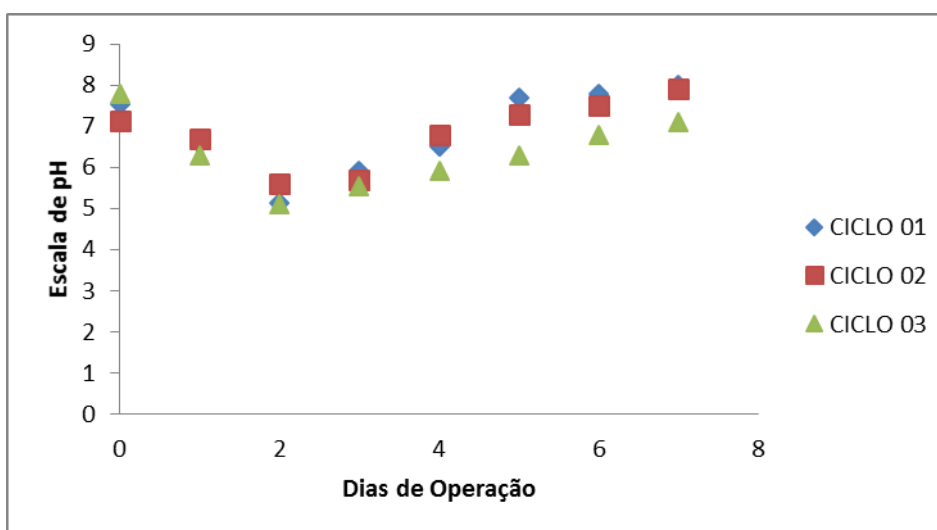
Fonte: Autor (2014).

A variável de DQO filtrada mostra o comportamento de consumo do substrato sendo um parâmetro importante sobre a adaptação da espécie ao material suporte e a adaptação ao poluente. (MYRON *et al.*, 2010). A eficiência na remoção de DQO foi traduzida em um aumento da eficiência da remoção do poluente LAS como observado na Figura 34 em valores próxima 50% de remoção do surfactante nos ciclos estudados.

A remoção de DQO tanto bruta como filtrada ocorreu de forma semelhante aos resultados obtidos nos ciclos de bateladas sequenciais repetidas utilizando 15 mg.L^{-1} de LAS indicando um perfil de comportamento da espécie fúngica na degradação do LAS utilizando esta modalidade de tratamento.

Na Figura 34 pode-se perceber a variação de pH ao longo dos ciclos de bateladas sequencias repetidas com 30 mg.L^{-1} de LAS. O pH se mostrou levemente ácido durante os três primeiros dias dos ciclos e em seguida levemente alcalino até o final dos ciclos.

Figura 34 - Comportamento da variação do pH surfactante LAS em Batelada Sequenciais repetidas utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 30 mg.L^{-1} de LAS.



Fonte: Autor (2014).

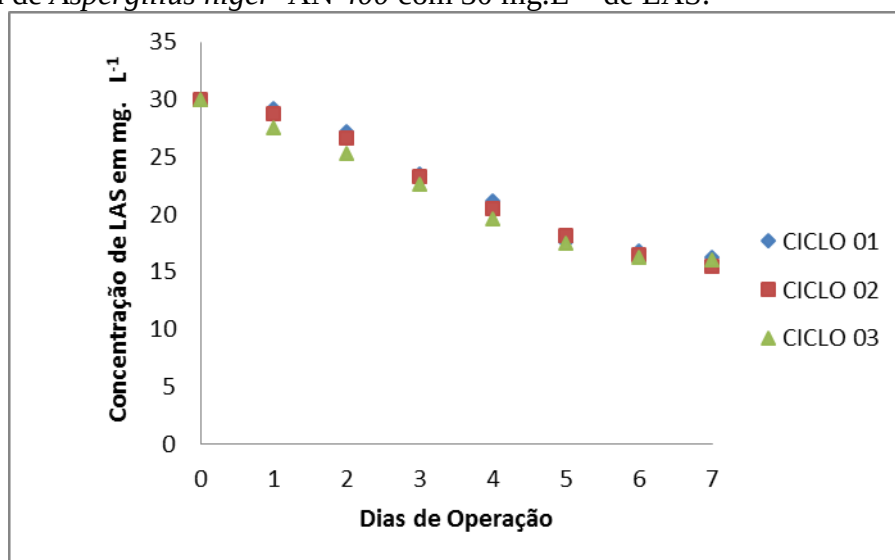
Krull *et al.* (2013) destacaram o pH como fator essencial para o controle da morfologia de culturas submersas sendo seu controle de importância estratégica para as indústrias de biotecnologia e de tratamento de efluentes. Duarte *et al.* (2010) relatam que em regimes de tratamento descontínuos é comum variações de pH, a mais ácidos em fontes de carbono mais abundantes e paulatinamente tendem a alcalino com o decorrer do ciclo. Os ritmos de variação ocorrem de acordo com as características da espécie cultivada, do substrato utilizado, a temperatura do ambiente, entre outros.

As concentrações de LAS ao longo das bateladas sequenciais repetidas foram descritas na Figura 35, onde a remoção do tensoativo nos ciclos ocorreu de forma semelhante. Os ciclos 01 e 02 com uma remoção de 46% e o ciclo 03 com um percentual de 48%, o que corresponde a uma remoção de $14,5 \text{ mg.L}^{-1}$ do surfactante nos ciclos 01 e 02 e 14 mg.L^{-1} no ciclo 03.

Em comparação com as bateladas sequenciais com utilização de biomassa imobilizada com 15 mg.L^{-1} de LAS se percebe uma maior eficiência na remoção nos reatores que operaram com uma concentração de 30 mg.L^{-1} .

Foutoulakis *et al.* (2009) descreveram os efeitos nocivos do LAS e seu poder poluidor para comunidades aquáticas e terrestres e sua inibição ao desenvolvimento de organismos unicelulares, em concentrações acima de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$. Desta forma, as concentrações remanescentes de LAS, após os ensaios em batelada sequenciais repetidas, utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 em concentrações de 15 e 30 mg.L^{-1} de LAS, ainda representam grande risco a biota terrestre e aquática com percentuais de remoção que variaram de 30 a 48% do surfactante.

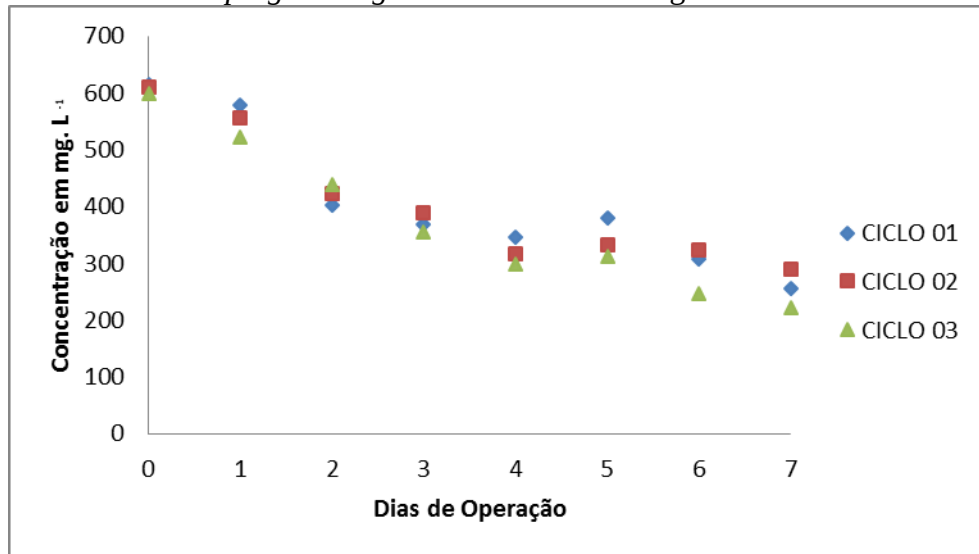
Figura 35 - Comportamento da variação do LAS em Batelada Sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 30 mg.L^{-1} de LAS.



Fonte: Autor (2014).

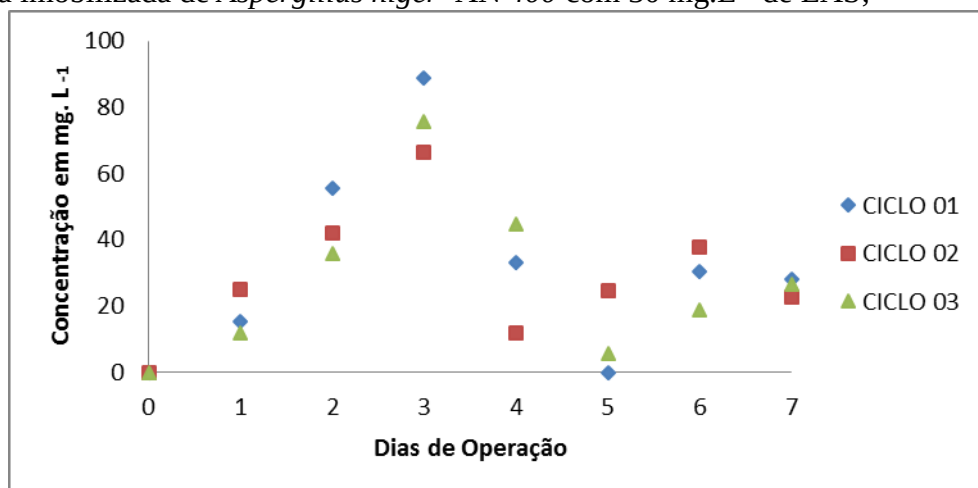
Nas Figuras 36, 37 e 38 é possível verificar o comportamento de degradação dos compostos nitrogenados sob a forma de amônia, nitrito e nitrato onde a espécie fúngica *Aspergillus niger* detém a habilidade da nitrificação, desnitrificação e da utilização em concomitâncias das fontes de nitrogênio de acordo com as condições do meio (SANTOS e LINARD, 2004).

Figura 36 - Comportamento da concentração de Amônia em Batelada Sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 30 mg.L⁻¹ de LAS.



Fonte: Autor (2014).

Figura 37 - Comportamento da concentração de Nitrito em Batelada Sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 30 mg.L⁻¹ de LAS;

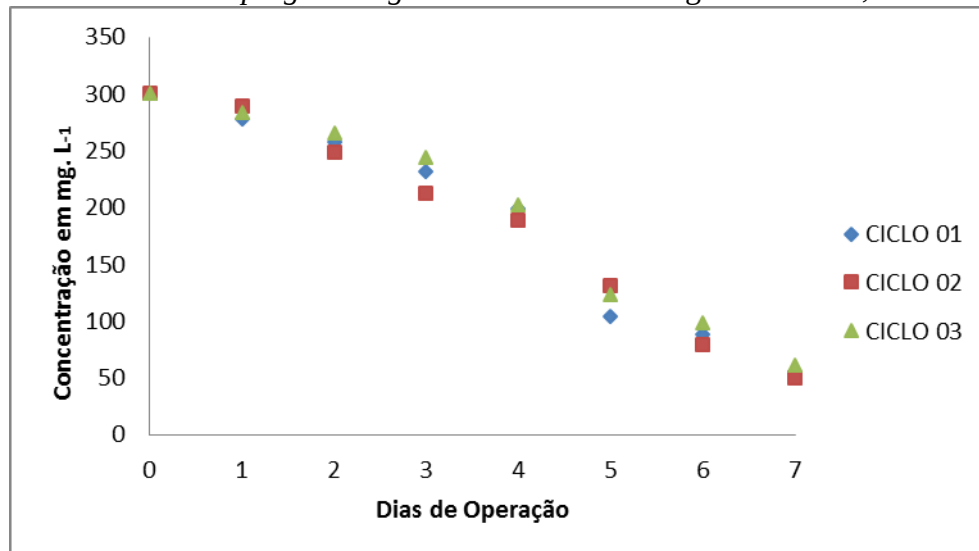


Fonte: Autor (2014).

Nos gráficos é possível observar a utilização em concomitância das fontes de nitrogênio, com uma maior velocidade na remoção de amônia nos primeiros dias de operação dos ciclos e um decaimento ao final dos ciclos. As múltiplas fontes de assimilação do nitrogênio proporcionam para a espécie uma quantidade significativa deste importante componente na multiplicação e desenvolvimento microbiano resultando em uma maior resistência da espécie a poluição e as variações no meio, fato comum em reatores operados no regime de bateladas. Este comportamento ocorreu de forma semelhante na presente pesquisa com os experimentos em bateladas sequenciais repetidas com uma concentração inicial de 15 mg.L⁻¹ de LAS. Papagiani (2007) afirma que todos estes mecanismos de assimilação de fontes de nutrientes estão diretamente associados ao pH do meio, este fato foi evidenciado na

presente pesquisa com um compostamento semelhante de variação do pH do meio nos experimentos de 15 e 30 mg.L⁻¹.

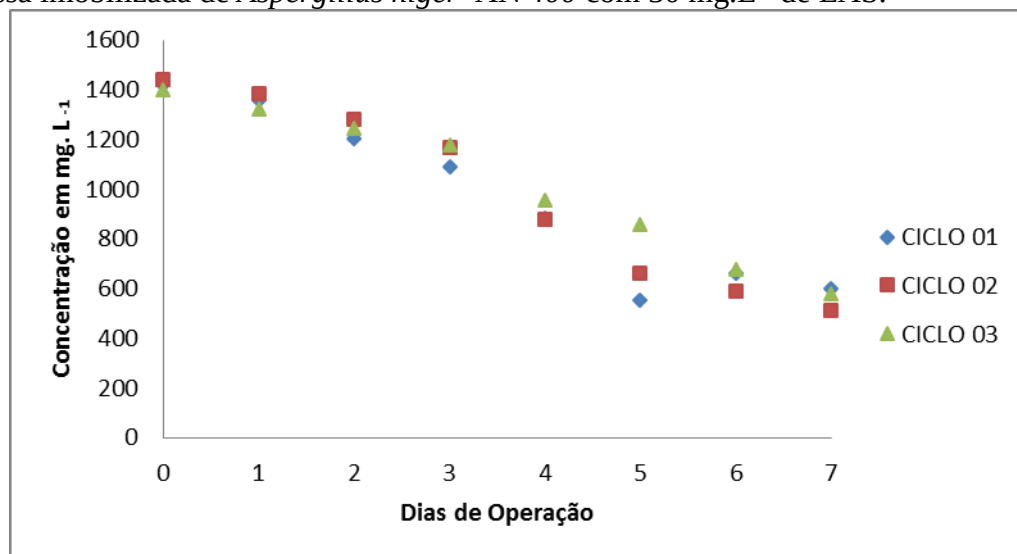
Figura 38 - Comportamento da concentração de Nitrato em Batelada Sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 30 mg.L⁻¹ de LAS;



Fonte: Autor (2014).

Na Figura 39 está mostrado o comportamento da espécie fúngica na assimilação do íon sulfato de forma semelhante a ocorrida nas bateladas sequenciais repetidas com 30 mg.L⁻¹ de LAS.

Figura 39 - Comportamento da concentração de Sulfato em Batelada Sequencial utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com 30 mg.L⁻¹ de LAS.



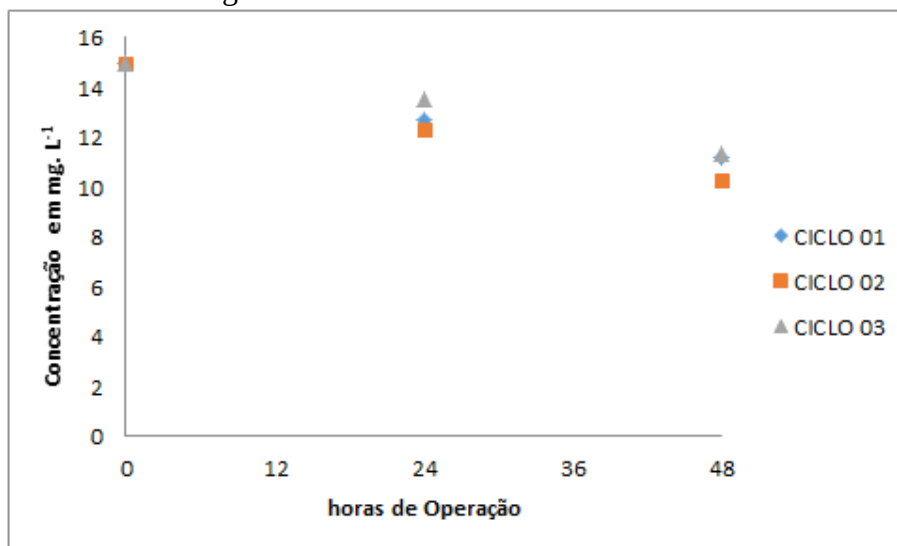
Fonte: Autor (2014).

Este comportamento pode indicar assimilação, produção de aminoácidos e enzimas importantes na degradação de substâncias para alimentação da cultura e uma mais adequada assimilação de nitrogênio (CHEN *et al.* 2008). O fato pode ser evidenciado com a comparação entre a Figura 35, da degradação do surfactante, com a Figura 40, da remoção de sulfato, onde os gráficos tem comportamentos semelhantes de remoção. Este fato também é evidenciado nos experimentos realizados nos reatores em Bateladas Sequenciais Repetidas com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 com uma concentração inicial de LAS de 15 mg.L^{-1} e nos experimentos com utilização de reatores em bateladas com utilização de biomassa dispersa nas concentrações de 15 mg.L^{-1} e 30 mg.L^{-1} de LAS.

5.3.4- Reatores em bateladas sequenciais repetidas em ciclos de 48h.

Nas Figuras 40 e 41 são apresentados os dados de remoção de LAS na operação de reatores biológicos em bateladas sequenciais repetidas em ciclos de 48h nas concentrações de 15 e 30 mg.L^{-1} de LAS, respectivamente, com otimização dos tempos de degradação do poluente pela espécie fúngica.

Figura 41- Remoção de LAS em bateladas sequenciais repetidas em ciclos de 48h com uma concentração inicial de 15 mg.L^{-1} do surfactante.



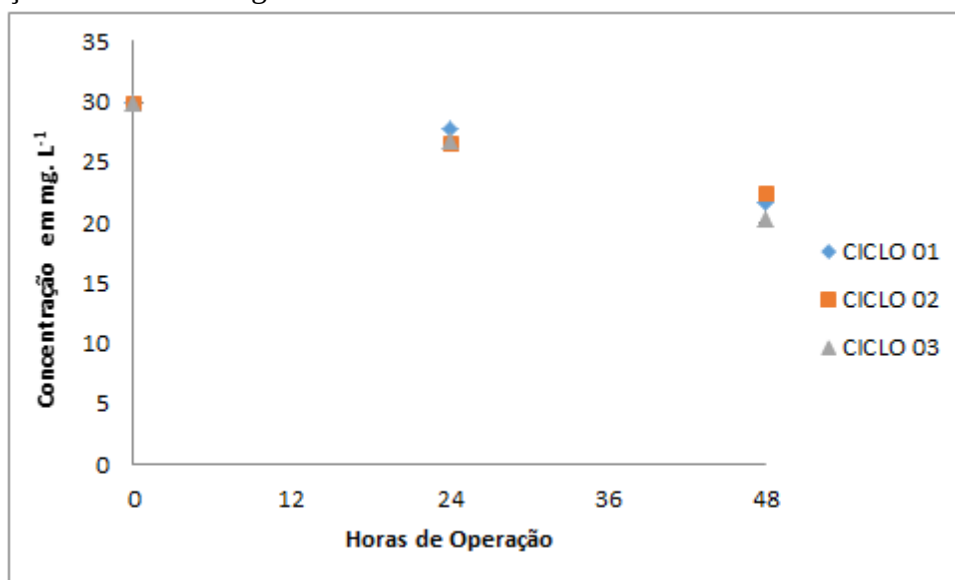
Fonte: Autor (2014).

Nas Figuras se verifica a eficiência de remoção do surfactante LAS de 25,3%, 31,3% e 24,8% nos ciclos 01, 02 e 03, respectivamente, em concentrações de 15 mg.L^{-1} e percentuais de remoção de 28%, 25,1% e 32,3% nos ciclos 01, 02 e 03, respectivamente que utilizavam a concentração inicial de 30 mg.L^{-1} de LAS.

Em ciclos de 48h é possível minimizar a escassez de alimento, nutrientes e formação de metabólito, fatores estes que interferem na eficiência de remoção das espécies fúngicas, estas situações são comuns nos finais de ciclos de bateladas (CHEN *et al.*, 2008).

Os ciclos repetidos de 48h podem ainda potencializar a atividade enzimáticas das células microbianas podendo ser traduzida em aumento da eficiência na degradação de poluentes. Este processo possibilita a observação do comportamento da espécie fúngica em uma situação de um meio mais rico e a otimização dos tempos de degradação do poluente LAS (SIRIANUNTAPIBOON; BOONCHUPLEING, 2009).

Figura 42- Remoção de LAS em bateladas sequenciais repetidas em ciclos de 48h com uma concentração inicial de 30 mg.L^{-1} do surfactante.



Fonte: Autor (2014).

Sanghi *et al.* (2011) em seu trabalho sobre remoção de compostos sulfonatos persistentes destacaram as características de fungos da podridão branca a adaptação ao sistema de bateladas sequenciais e ao aumento da eficiência de remoção com a intensificação dos ciclos.

As Figuras revelam a significativa otimização do tempo de retenção celular na degradação do surfactante LAS quando se emprega a modalidade de bateladas sequenciais repetidas com ciclos de 48h. A comparação de eficiência dos ciclos de 7 dias (168h) e de dois dias (48 h) são apresentadas na Tabela 08, evidenciando que a oferta abundante de nutrientes tem proporcionado um incremento na eficiência de remoção do surfactante LAS pela espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 quando utilizados em reatores biológicos operados em bateladas sequenciais repetidas nas concentrações de 15 e 30 mg.L^{-1} de LAS.

Tabela 08 - Comparativo de eficiência em modalidades de operação com ciclos diferenciados.

Modalidade de operação do RBS	Tempo de Operação (h)	% DE REMOÇÃO DE LAS
Ciclo 01 15 mg.L ⁻¹ de LAS	168	38,2
Ciclo 02 15 mg.L ⁻¹ de LAS	168	39,4
Ciclo 03 15 mg.L ⁻¹ de LAS	168	37,8
Ciclo 01 15 mg.L ⁻¹ de LAS	48	25,3
Ciclo 02 15 mg.L ⁻¹ de LAS	48	31,3
Ciclo 03 15 mg.L ⁻¹ de LAS	48	24,6
Ciclo 01 30 mg.L ⁻¹ de LAS	168	46,0
Ciclo 02 30 mg.L ⁻¹ de LAS	168	48,0
Ciclo 03 30 mg.L ⁻¹ de LAS	168	48,0
Ciclo 01 30 mg.L ⁻¹ de LAS	48	28,0
Ciclo 02 30 mg.L ⁻¹ de LAS	48	25,1
Ciclo 03 30 mg.L ⁻¹ de LAS	48	32,3

Fonte: Autor (2014).

Os resultados obtidos em todas as fases da pesquisa representam um avanço na direção a uma otimização dos sistemas de tratamento de efluentes domésticos e industriais e demonstram o potencial de utilização da espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 na degradação do surfactante LAS. Foi possível observar a otimização do poder de degradação da espécie fúngica nas bateladas aeradas com utilização de biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com 720 h de tempo de operação com 15 e 30 mg.L⁻¹ de LAS com uma eficiência de 76% e 54% , respectivamente, com os reatores.

Nos reatores com batelada imobilizada se observou uma maior otimização do poder de degradação em um tempo de operação de 144 h e uma eficiência de remoção de 39% nos ciclos de batelada imobilizada com biomassa de *Aspergillus niger* AN 400 com 15 mg.L⁻¹ de LAS e de 47% de média de remoção dos reatores operados em batelada imobilizada com biomassa de *Aspergillus niger* AN 400 com 30 mg.L⁻¹ e depois com a operação de reatores fúngicos com 48 h com eficiência de até 31,3 para os reatores que operavam com 15 mg.L⁻¹ de LAS e com eficiencia de até 32,3% para os reatores que operavam com uma concentração de 30 mg.L⁻¹ de LAS.

6 CONCLUSÕES

O estudo proporcionou a obtenção de informações importantes sobre o funcionamento dos reatores biológicos fúngicos utilizando *Aspergillus niger* AN 400 utilizados para degradação do surfactante LAS (Alquilbenzeno Sulfonato Linear).

A espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 alcançou significativos percentuais de degradação do tensoativo LAS de 76,4% no RFG e 52,2% no RF e 37,8% no RC em um regime de batelada aerada com utilização de biomassa dispersa com uma concentração inicial de 15 mg.L⁻¹ e 65,3% no RFG e 54,8% no RF e 34,5% no RC quando operado em regime de batela aerada com utilização de biomassa dispersa com 30 mg. L⁻¹ de LAS de concentração inicial utilizando um tempo de operação de 30 dias.

Foi possível perceber taxas de remoção de LAS de 38,2%; 39,4 e 37,8% em ciclos de 07 dias utilizando reatores biológicos operado em regime de bateladas sequenciais repetidas com biomassa imobilizada com concentração inicial de 15 mg.L⁻¹ e de 46,0; 48,2% e 48,5% em ciclos de 07 dias nos reatores operados em bateladas sequenciais repetidas com biomassa fúngica imobilizada e uma concentração inicial de 30 mg.L⁻¹ de LAS. Quando repetido as configurações das bateladas sequenciais repetidas com biomassa fúngica imobilizada nas concentrações iniciais de 15 e 30 mg.L⁻¹ de surfactante, em ciclos de 48 h, se obtiveram percentuais de remoção de 25,3%; 24,8% e 31,3% em concentrações inicial de 15 mg.L⁻¹ e 28%; 25,1% e 32,3% em uma concetração inicial de 30 mg.L⁻¹ de LAS.

Estes valores demonstram exitosas taxas de otimização do tempo de degradação do surfactante LAS em 48 h utilizando bateladas sequenciais repetidas, com biomassa fúngica imobilizada, quando comparados aos níveis de remoção da modalidade de operação de bateladas com biomassa fúngica dispersa e bateladas sequenciais repetidas com biomassa imobilizada em ciclos de 07 dias.

Verificou-se melhores rendimentos na degradação do surfactante nos reatores que operavam na presença da glicosse na concentração de 1 g. L⁻¹ como cossustrato em relação aos reatores que operavam apenas com a espécie fúngica na presença do surfactante.

Os resultados desta pesquisa contribuem para uma maior difusão do poder de degradação das espécies fúngicas com boas perspectivas para sua utilização sobre os tensoativos aniônicos.

REFERÊNCIAS

ALI, N. F.; EL-MOHAMEDY, R.S.R. Microbial decolourization of textile waste water **Journal of Saudi Chemical Society**. n.16, p.117-123, 2012.

AKSU, Z.; ERTRUGRUL, S.; DONMNZ, G. Methylene blue biosorption by arrhizus: Effect of SDS (Sodium dodecylsulfonate) surfactant on biosorption properties. **Chemical Engineering Journal**. n158, p. 474-481, 2010.

AMIRI, F.; YANGHMEI, S.; MOUSAVI, S. M.; SHEIBANI, S,. Recovery of metals from spent refinery hydrocracking catalyst using adapted *Aspergillus niger* . **Hydrometallurgy**, n.108 p. 65-71, 2011.

AINSWORTH, G. C.; SUSSMAN, A. S. **The Fungi: an advanced treatise**. London: Academic Press. v.1, 1996.

APHA, **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 18 ed Washington: American Public Health Association, 2005.

ARAUJO, K. M. L. **Tratamento de efluente Têxtil in natura por *Aspergillus niger* AN 400 inoculado em reator em bateladas sequenciais**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia em Gestão Ambiental) Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, campus Fortaleza. Fortaleza, 2012.

ARIMI, M. M.; ZHANG, Y.; GOTZ, G.; KIRIAMITI, K.; GEIBEN, S. U.; Antimicrobial colorants in molasses distillery wastewater and their removal technologies. **International Biodeterioration e Biodegradation**. n.87, p. 34-43, 2014.

BAUTISTA-TOLEDO, M.I.; RIVERA-UTRILA, J.; MENDEZ-DIAS, J. D.; SANCHEZ-PÓLO, M.; CARRASCO-MARIM.F. Removal of the surfactante sodium docecylbenzenesulfonate from water by process based adsorption/biadsorpton and biodegradation. **Journal of Colloid an Interface Sience**. n. 418, p.113- 119, 2014.

BECAGLI, S.; GHEDINI, C.; PEETERS, S.; ROTTIERS, A.; TRAVERSI, R.; UDISTI, R.; CHIARI, M.; JALBA, A.; DESPIAU, U.; TEMARA, A. MBAS (Methyle Blue Active Substances) and LAS (Linear Alkylbenzene Sulphonates) in mediterranean coastal aerosol: Sources and transport process. **Atmosphere environmental**. n 45, p. 6788- 6801, 2011.

BOLUDA-BOTELO, N.; LEÓN, V. M.; CASES, V.; GOMIS, V.; PRATS, D. Fate of linear alkylbenzene sulfonate in agricultural soil columns during in flow of surfactant pulses. **Jornual of Hydrology**, v 395, p. 141-152, 2010.

CARIOSIA, M. R. **Caracterização microbiana e degradação de detergente de uso doméstico em reator anaeróbico de leito fluidizado**. Dissertação(Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) Universidade de São Paulo. São Carlos, 2011. cartDon-based electrodes. **Electrochim. Acta**, v. 48, p. 1655-1633, 2003.

CASTRO,P. ; SILVA, G. S. C. ; OLIVEIRA. J. ; LOPES, W. S. Tratamento biológico aeróbio de efluentes com alto teor de surfactante. In: SEABRA. G. **Terra Qualidade de vida, Mobilidade e Segurança nas Cidades**. Paraíba: João Pessoa, 2013, cap 15, p 305- 312.

CARLILE, M. J.; WATKINSON, S. C.; GOODAY, G. W. **The fungi**. Washigton, 2001.

CLEMENTE-ORTEGA, A.; CAFARREL-MENDEZ, S.; PONCE-NOYOLA, M. T.; BARRERA-CORTES, J.; POGGI-VARALDO, H. M. Fungal pos-tratamento of pulp mil effluents for the removal of recalcitrant pollutants. **Bioresour Technol**. n. 100, p. 1885-1894, 2009.

CHEN, C.; REN, N.; WANG, A.; YU, Z.; LEE, D. J. Simultaneous biological removal of sulfur, nitrogen and carbon in reactors. *Environmental biotechnology*. n.78, p.1057-1063, 2008.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. 2005. Resolução Conama Nº357. **Dispõe sobre o enquadramento e classificação dos corpos hídricos brasileiros e dá outras providências** Disponível em: <www.mma.conama.gov.br/conama> Acesso em 30/09/2013.

Da SILVA, K. M. L.; VINÍCIUS, M. F.; LIMA, P. C.; WANDERLEY, C. R. P.; MARINHO, G. RODRIGUES, K. Papel do cossubstrato na remoção de corante têxtil por *Aspergillus niger* AN 400 Inoculado em reator em batelada sequenciais. In RODRIGUES, K.; MARINHO, G. **Fungos e Águas residuárias Industriais uma nova tecnologia**. Recife: Pernambuco, 2012. Cap 10, 137-153.

DAMASCENO, E.; PINHEIRO, Z.; ARAUJO, R.; RODRIGUES, K.; MARINHO, G. Remoção biológica de nitrogênio, fósforo e matéria orgânica de efluente petroquímico em reator de fluxo contínuo com inóculo de *Aspergillus niger* AN 400. In RODRIGUES, K.; MARINHO, G. **Fungos e Águas residuárias Industriais uma nova tecnologia**. Recife: Pernambuco, 2012. Cap 6, 98-111.

DEL RIO, D. T. **Biossorção de cádmio por leveduras *Saccharomyces cerevisiae***. Dissertação (Mestrado em agronomia, Escola superior Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo). Piracicaba, 54p, 2004.

DHILLON, G. S.; BAR, K. S.; KAUR, S.; VERM, M. Bioproduction and extraction optimization of citric acid from *Aspergillus niger* by rotation drum type solid-state bioreactor. **Industrial Crops and Products**. v.41, p. 78-84, 2013.

DJEAL, H.; AMRANE, A. Biodegradation by bioaugmentation of dairy wastewater by fungal consortium on a bioreactor lab-scale and pilot scale. **Jornal Environmental Sciences**. n. 25, p. 1906- 1912, 2013.

DORADO, D. N.; BALQUERIZO, G.; MAESTRE, J. P.; GAMISANS, X.; GABRIEL, D.; LAFUENTE, J. Modeling of a bacterial and fungal biofilter applied to toluene abatement: kinetics parameters estimation and model validation. **Chemical Engineering Journal**. n.140, p. 52 – 61, 2008.

DUARTE, I. C. S.; OLIVEIRA, L. L.; SAAVEDRA, N. K.; FANTINATTI-GARBOGGINE, F.; MENEZES, C. B. A.; OLIVEIRA, V. M.; VERESCHE, M. B. A. Treatment of linear alkylbenzene sulfonate in a horizontal anaerobic immobilized biomass reactor. **Bioresour Technol**. n.101, p. 606- 612, 2010.

ELENA, S. M. U.; SCHAPPS, P. J.; Assesment of the pectin dregrading enzyme network of *Aspergillus niger* by functional genomics. **Fungal Genetics and Biology**. n. 46, p. 5170-5179, 2009.

ELIENE, E. B.; NICOLLE, F. ROBAINA, RICARDO, J.C. Employment of polyurethane foam for the adsorption of Methylene Blue in aqueous medium. **Journal of Hazardous Materials**. v. 159, p. 580-586, 2008.

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

ELTAIEF,K. Effect of nitrogen and carbon sources on Indigo and Congo red decolorization by *Aspergillus alliaceus* strain 121C. **Jounal of harzadours Materials**, 2007.

ENG, Y.Y.; SHARMA, V. K.; RAY, K. A. Degradation anionic and cationic surfactants in a monolithic swirl-flow photoreator. **Separation and Purification Techology**. n. 92, 43-49, 2012.

ESTRADA, J. M.; HERNANDEZ, S.; MUNOZ, R.; REVAH, S. A comparative study of fungal and bacterial biofiltration treating a VOC mixture. **Journal of Hazourds Materials**. n. 250, p. 190- 197, 2013.

FIEDUREK, J.; SKOWRONEK, M. Inulinase biosynthesis using immobilized mycelim *Aspergillus niger* . **Enzima and Microbial Techonology**. n.38, p. 161-167, 2006.

FOUTOULAKIS. M. S.; TERZAKIS. S.; KALOGERAKIS, N.; MANIOS. T.; Removal of poliocyclic aromatic hidrocarbons and linear alkybenzene sulfonates from domestic wasterwater in pilot constructed wetlands and a gravel filter. **Ecological Engineering**. nº35 p.1702-1709, 2009.

GARCIA, M.T.; CAMPOS. E.; MARSAL. A.; RIBOSA. I. Biodegradability and toxicity of sulphonate-based surfactants in aerobic and anaerobic aquatic. **Water Research**. 43, p. 295-302, 2009.

GARCIA-LUQUE. E; GONZÁLEZ-MAZO. E; GOMES-PARRA. A. Use e dynamic simulation to assess to behaviour linear alkylbenzene sulfonates and their biodegradation intermediates (sulphenycarboxilic acids) in estuaries. *Estuarine, Costal and Shelf Sience* nº 81 p. 353-358, 2009.

GAUTHIER, H.; YARGEAU, V.; COOPER, D. G. Biodegradation of pharmaceuticals by *Rhodococcus rhodochrous* and *Aspergillus niger* by co-metabolism. **Science of the Total Environment**. n.408, p.1701-1706, 2010

GONZALEZ, M. M.; MARTIN, J.; CAMANHO-MUNÕZ, D.; SANTOS, J. L.; APARICIO, I.; ALONSO, E. Degradation and enviromental risk of surfactants after the application of compost sudgle to the soil. **Waste Management**. n. 32, p. 1324-1331, 2012.

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

HAMPEL, M.; GONZALEZ-MAZO, E.; VALE, C.; BLASCO, J.; Derivation of predicted no effect concentrations (PNEC) for marine environmental risk assessment: application of different approaches to the model contaminant Linear Alkylbenzene Sulphonates (LAS) in a site-specific environment. *Enviromenntal.* n. 3,p. 486–491, 2007

HERA, **HERA-LAS Human and Environmental Risk Assessment: Linear Alkylbenzene Sulphonates**. LAS. CAS No. 68411-30-3, Version 3.0, October 2007.

HWANG, S. C.; LIN, C. S.; CHEN, I. M.; LIU, L. Y.; DODDS, W. K. Removal of multiple nitrogenous waster by *Aspergillus niger* in a continuous fixed-slab reactor. **Bioresoure Technology**. 93: 131 – 138, 2004.

HWANG,S.C.; LIN,C. S.; CHEN,I.M.; J. Y S. WU, J.S. Removal of nitrogenous substances by *Aspergillus niger* in a continuous stirred tank reactor (CSTR) system. **Aquacultural Engineering**. n. 36, p.177-183, 2007.

JIMÉNEZ, A. E.; ESTRADA, C. A.; COTA, A. D.; ROMÁN, A. Photocatalytic degradation of DBSNa using solar energy. **Sol. Energy Mater. Sol. Cells**, v. 60, p. 85-95, 2000.

JUSTINO, C.I.; DUARTE, D.; LOUREIRO, F.; PEREIRA, R.; ANTUNES, S. C.; MARQUES, S.M.; GONÇALVES, P.; TERESA, A.P.; SANTOS, R.Toxicity and organic content characterization of olive oil mill wastewater undergoing a sequential treatment with fungi and photo-Fenton oxidation. **Journal of Hazardous Materials**. n 172, p. 1560-1572, 2009.

KAPOOR, A.; VIRARAGHAVAN, T.; CULLIMORE, R. D. Removal of healvy metals using the fungus *Aspergillus niger* . **Bioresoure Techonology**. n. 70, p. 95-104, 1999.

KHALAF, M. A. Biosorption of reactive dye from textile wastewater by non-viable biomass os *Aspergillus niger* and *Spirogyra* sp. **Bioresoure Techonology**. n. 99, p. 6631-6634, 2008.

KIM, J. M.; BARRINGTON, S.; SHEPPARD, J.; LEE,B. Nutrient optimization for the production of citric acid by *Aspergillus niger* NRRL 567 grown on peat moss enriched whir glucose. **Process biochemistry**, v 14, n 6, p.1253-1260, 2006.

KNUDSEN, B.E.; ELLEGAARD- JENSEN, L.; ALBERS, C. N.; ROSENDAHL, S.; AAMAND, J. Fungal hyphae stimulate bacterial degradation of 2,6 – dichlorobenzamide (BAM).**Enviromental Polulution**. n. 181, p. 122- 127, 2013.

KONNECKR, G. ; REGELMANN. J. ; BELANGER, S.; GAMON, K.; SEDLAK, R. Enviromental properties and aquatics hazard assessment of anionic surfactants: Physico-chemical, environmental fate and ecotoxicity properties. **Ecotoxicity and Enviromental Safety**. nº 74, p. 1445- 1460, 2011.

KOTSOU, M.; KYRIACOU, A.; LASARIDI, K.; PILIDIS, G. Integrated aerobic biological tratment and chemical oxidation with Fento´s reagent for processing of green table olive wastewater.**Process Biochemistry**. 39: 1653 -1660, 2004.

KRULL, R; WUCHERPFENNIG, T.; ESFANDABADI, M.E.; WALISKO, R.; MELZER, G.; HEMPEL, D.C.; INGO KAMPEN, I.; KWADE, A.; WITTMANN, C. Characterization and control of fungal morphology for improved production performance in biotechnology. *Journal of Biotechnology*. v. 163, p. 112-123, 2013.

KROGH, P.H.; LOPEZ, C.V.; CASSANI, G.; JENSEN, J.; HOLMSTRUP, M.; SCHRAEPEN, N.; JORGENSEN, E.; GAVOR, Z.; TEMARA, A. Risk assessment of linear alkylbenzene sulphonates, LAS, in agricultural soil revisited: robust chronic toxicity tests for *Folsomia candida* (Collembola), *Aporrectodea caliginosa* (Oligochaeta) and *Enchytraeus crypticus* (Enchytraeidae). *Chemosphere*. n 69 p 872–879, 2007.

KUNZ, A.; REGINATTO, V.; DURAN, N. Combined treatment of textile effluente using the sequence *Phanerochaete chrysosporium* – ozone. *Chemosphere*, 44: 281 – 287, 2001.

LEMOES, V.A.; SANTOS, M.S. SANTOS, M.J.S.; SANTOS W.N.L.SOUZA, A.S.; DE JESUS, D.S.; DAS VIRGENS, C.F.; CARVALHO, M.S.; OLESZCZUK, N.; VALE, M.G.R.; WELZ, B.; FERREIRA, S.L.C. Application of polyurethane foam as a sorbent for trace metal pre-concentration — A review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*. v. 62, n. 1, p. 4-12, 2007.

LI, S.C.; KANE, P. M. The yeast lysosome-like vacuole: Endpoint and crossroads. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. v. 1793, n. 4, p. 650-663, 2009.

LISSENS, G.; PIETERS, J.; VERHAEGE, M.; PINOY, L.; VERSTRAETE, W. Electrochemical degradation of surfactants by intermediates of water discharge at decomposition by fungi: from nature to industrial use. *Mycologist*, E.U.A, 8, pp.113-114, 2002.

LOPES, M. ; MELO, I. ; WANDERLEY, R. P. ; ARAÚJO, R. S. ; MARINHO, G.; RODRIGUES, K. Influência do co-substrato na remoção de nutrientes e de matéria orgânica de água residuária sintética contendo fenol por uso de reator com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400. In RODRIGUES, K. ; MARINHO, G. **Fungos e Águas Residuárias Industriais uma nova tecnologia**. Recife: Pernambuco, 2012. Cap 2, 30-44.

MAESTRE, J. P.; GAMISANS, X.; GABRIEL, D.; LAFUENTE, X. Fungal biofilter for toluene biofiltration: Evaluation of the performance with four packing materials under different operating conditions. *Chemosphere*. n.67, p.684-692, 2007.

MANAN, S.; RAZI, F. A.; ALAM, Z. M. Use of Fungi to improve bioconversion of activated sludge. *Water Research*. n. 39, p. 2935-2943, 2005.

MANCUSO, P. C.S. **Resúo de águas**. Manole. São Paulo, 2010.

MATTHIJS, E.; DE HENAU, H. Determination of linear alkylbenzene sulphonates in aqueous samples, sediments, sludges and soil using HPLC. *Tenside Surfactants Detergents*, v. 24, p. 193- 198, 1987.

MAZOTTO, A. M. ; COURI, S. ; DAMASO, C. T. ; VERMELHO, A. B. Degradation of feather waste by *Aspergillus niger* keratinases. **International Biodeterioration & Biodegradation**. n.85, p. 189-195, 2013.

MIRÓN, J.; VÁZQUEZ, J. A.; GONZÁLEZ, P.; MURADO, M.A. Enhancement glucose oxidase production by solid-state fermentation of *Aspergillus niger* on polyurethane foams using mussel processing wastewaters. **Enzyme and Microbial Technology**. n.46, p. 21-27, 2010.

MORE, T. T.; YAN, S.; TYAGE, R. D.; SURAMPALI, R. Y. Potential use of filamentous fungi for wastewater sludge treatment. **Bioresour Technol** n. 101, p. 7691-770, 2010.

MUSTAFA, Y.S.; ALAMRI, S.A. Optimization of date syrup for enhancement of the production of citric acid using immobilized cells of *Aspergillus niger* . **Saudi Journal of Biological Sciences**. v. 19, p. 241-246, 2012.

MUNGRAY, A. K.; KUMAR, P. Degradation of anionic surfactants during drying of UASBR sludges on sand drying beds. **Journal of Environmental Management**, v. 88, p.995-1002, 2008.

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

MUNIRAJ, I. K.; XIAO, L.; HU, Z.; ZHANG, X.; SHI, J. Microbial lipid production from potato processing wastewater using oleaginous filamentous fungi *Aspergillus oryzae*. **Water research**. n.47, p. 3477- 3483, 2013.

NGUYEN, L. N.; HAI, F. I.; YANG, S.; KANG, J.; LEUNG, F. D. L.; RODDICK, F.; PRICE, W.; NGHIEM, L. D. Removal of trace organic contaminants by MBR comprising a mixed culture of bacteria and white- rot fungi. **Bioresour Technol**. n. 148, p. 234-241, 2013.

OECD, **Revised Introduction to the OECD Guidelines for Testing Chemicals**. OECD, Paris, 1992.

OLIVEIRA, L. L.; COSTA, R. B.; OKADA, D. Y.; VICH, D. V.; DUARTE, I. C. S.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. Anaerobic degradation of linear alkylbenzenesulphonate (las) in fluidized bed reactor by microbial consortium in different support materials. **Bioresour thechnology**, v. 101, n.14, p. 5112-5122, 2010.a

OLIVEIRA, L. L.; COSTA, R. B.; OKADA, D. Y.; VICH, D. V.; DUARTE, I. C. S.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. **Treatment of linear alkylbenzene sulfonate in a horizontal anaerobic immobilized biomass reactor**. *Bioresour thechnology*, v. 101, p. 606-612, 2010.B

OLIVEIRA, L. L.; DUARTE, I. C. S.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B. A. Influence of support material on the immobilization of biomass for the degradation of linear alkylbenzenesulphonate in anaerobic reactors. **Journal of Environmental Management**, v. 90, n. 2, p.1261-1268, 2009.

OKADA, D.Y.; DELFORNO T.P.; ESTEVES, A. S.; SAKAMOTO, I.K.; DUARTE, I. C.S.; MARIA, B.A. Optimization of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) degradation in UASB reactors by varying bioavailability of LAS, hydraulic retention time and specific organic load rate. **Bioresource Technology**. n. 128, p. 125-133, 2013.

PANIZZA, M.; BARBUCCI, A.; DELUCCHI, M.; CARPANENSE, M. P.; GIULIANO, A., CATALDO-HERNANDEZ, M.; CERISOLA, G. Elettron-Fenton degradation of anionic surfactants. **Separation and Purification Technology**. n. 118, p. 394-398, 2013.

PAPAGIANI, M. Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger* : Biochemical aspects, membrane transport and model. **Biotechnologys Advens** , v25. p. 244- 263. 2007.

PINHEIRO, Z. ; DAMASCENO, E. ; SILVA, G. ; ARAÚJO, R. ; RODRIGUES, K. ; MARINHO, G. Biodegradação do benzeno em reatores em batelada com biomassa fúngica imobilizada. In RODRIGUES, K. ; MARINHO, G. **Fungos e Águas residuárias Industriais uma nova tecnologia**. Recife: Pernambuco, 2012. Cap 5, 87-97.

POLIZEL, J. **Degradação anaeróbica de Alquil Benzeno Sulfonato Linear em leito expandido**. Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) Universidade de São Paulo. São Carlos, 2010.

PRANJAL, P.B.; BIHANI, M.; BEZ, G. Multicomponent synthesis of dihydropyrano (2,3-c) pyrozaes catalized by lipase from *Aspergillus niger* . **Journal of molecular Catalysis B: Enzymatic**. n.92, p. 24-33, 2013.

PRASERTSAN, S.; PRASERTSAN, P. Biomass residues from palm oil mills in Thailand: An overview on quantity and potential usage. **Biomass and Bioenergy**. v.11, n. 5, p. 387-395, 1996.

ROMANELLI, M.F. **Avaliação da toxicidade aguda e crônica dos surfactantes DSS e LAS submetidos a irradiação com feixes de elétrons**. Dissertação (Mestrado Instituto de pesquisas energéticas e nucleares-Universidade de São Paulo). São Paulo, 2004.

RODRIGUES, K. A. Aplicação dos fungos em reatores para o tratamento de efluentes Industriais. In: RODRIGUES, K. A.; MARINHO, G.M. **Fungos e Águas Residuárias Industriais: Nova Tecnologia**. Pernambuco: Recife, 2012, cap 01, p13-29.

RODRIGUES, K. A. **Uso de reatores biológicos com fungos para a remoção de fenol de água residuária sintética**. Tese (Doutorado Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo, área de concentração em hidráulica e saneamento). São Carlos, 2006.

RODRIGUES, K. A.; MARINHO, G.M. **Fungos e Águas Residuárias Industriais: Nova Tecnologia**. Pernambuco: Recife, 2012.

ROSLAN, R. N.; HANIF, N. M.; OTHMAN, M. R.; AZMI, W. N. F. W. ; YAN, X. X.; ALI, M. M.; MOHAMED, C. A. R.; LATIF, M. T. Surfactants in the sea-surface microlayer and the contribution to atmospheric aerosols around coastal of the Malaysian peninsula. **Merine Pollution Bolletin**. n. 60, p.1584-1590, 2010.

SAGONG, H.; CHEON, H.; KIM, S.; LEE, S.; PARK, K.; CHUNG, M.; CHOI, Y.; KANG, D.; Combined effects of ultrasound and surfactants to reduce *Bacillus cereus* spores on lettuce and carrots. **International Journal of Food Microbiology**, n. 160, p. 367-372, 2013.

SAMPAIO, G. M. M. S. **Remoção de metil paration e atrazina em reatores com fungos**. Tese de Doutorado. Departamento do Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, 2005.

SANCHEZ, M.; RIVERO, M. J.; ORTIZ, M. Kinetics of dodecylbenzenesulphonate mineralization by TiO_2 photocatalyses. **Applied Catalysis: Environmental**. n. 101, 515- 512, 2011.

SANCHEZ-PEINDO, M. M.; RODELAS, B.; MATINEZ-TOLEDO, M. V.; GONZALES-LOPES, J.; POZO, C. Response of soil enzymes to alkybenzene sulfonate (LAS) addition in soil microcosm. **Soil Biology e Biochemistry**. n. 41, p. 69-76, 2009.

SANGHI, R.; DIXIT, A.; GUHA, S. Evaluation of *Coriolus versicolor* for its tolerance towards toxic sulphonic azo dyes in sequential batch mode. **Process Safety and Environmental Protection**. v. 89, n. 1, p. 15-21, 2011.

SANT'ANA JUNIOR, G. L. **Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro: Interciência, 2010.

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

SANTOS, E. DOS. **Utilização de enzimas produzidas por *trichoderma reesi* e *Aspergillus niger* na extração de óleos essenciais**. 2008. 158f. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) Universidade Estadual Paulista Julio de mesquita filho, Araraquara, 2008.
SCHOBERL, P. Basic principles of LAS biodegradation .**Tenside Surfactants Detergents**. v.26, p.86 -94, 1989.

SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE DO CEARÁ SEMACE. 2000. Portaria N ° 154. **Dispõe sobre os padrões de lançamento de efluentes e dá outras providências**. Disponível em: <www.semace.ce.br> Acesso em 22/10/2013.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE E DO MEIO AMBIENTE DO RIO GRANDE DO SUL. Norma Técnica SSMA nº 01/89, de 16 de março de 1989. **Determina critérios e padrões de emissão de efluentes líquidos**. Disponível em: < www.ssma.rs.br > Acesso em 22/10/2013.

SEPEHR, M.N.; ZARRABI, M.; AMRANE, A. Removal of CR (III) from model solutions by isolated *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae* living microorganisms: Equilibrium and kinetic studies. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**. v.43, n. 3, p. 420-427, 2012.

SHARARI, M.; ROOHANI, M.; JAHAN LATIBARI, A.; GUILLET, A.; AUROUSSEAU, M.; SHARARI A. Treatment of bagasse preparation effluent by *P.chrysosporium* immobilized on

polyurethane foam: Enzyme production versus pollution removal. **Industrial Crops and Products**.v.46, p. 226-233, 2013.

SIERRA –ALVAREZ, R. Fungal bioleaching of metals in preservative- treated wood. **Process Biochemistry**. n.42, p. 798- 804, 2007

SIERRA –ALVAREZ, R. Removal of cooper, chromium and arsenic from preservative-treated wood by chemical extraction- fungal bioleaching. **Waste Management**. n. 29, p. 1885- 1891, 2009.

SILVA, L. V. C.; VINICIUS, M. F.; RODRIGUES, K.; MARINHO, G. Remoção de DQO e nutrientes de efluentes sintético de laticínio em bateladas sequenciais com *Aspergillus niger* AN 400. In RODRIGUES, K. ;MARINHO, G. **Fungos e Águas residuárias Industriais uma nova tecnologia**. Recife: Pernambuco, 2012. Cap 12, 178-192.

SINGH, A. **Surfactants in microbiology and biotechnology: part 2. Application aspects**. *Biotechnology Advances*, v. 25, p. 99-121, 2007.

SIRIANUNTAPIBOON, S. BOONCHUPLEING, M. Effect of bio-sludge concentration on the efficiency of sequencing batch reactor (SBR) system to treat wastewater containing Pb^{2+} and Ni^{2+} . **Journal of Hazardous Materials**. v.166, p.356-364, 2009.

SOUZA NETO, A. **Remoção de matéria orgânica em matriz aquosa dopada com os pesticidas atrazina, metil paration, paraquat e deltametrina empregando reatores em batelada inoculados com *Aspergillus niger* AN 400** Dissertação (Mestrado em Tecnologia em Gestão Ambiental) Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, campus Fortaleza. Fortaleza, 2012.

SUMATHI, S. MANJU, B.S. Upatack of reactive textile dyes by *Aspergillus foetidus*. **Enzyme Microbiology Technology**. 2000.

TELLES, D.A; COSTA, R.H.P.G. (Cord). **Reúso da água conceitos, teorias e práticas**, São Paulo: Editora Blucher, 4º edição, 2010.

TUBAU, I; VAZQUEZ-SUÑÉ. E.; CARRERA. J.; GONZÁLEZ, S.; PETROVIC, M.; MARIA, J.; ALDA, L.; BARCELO, D. Occurrence and fate of alkylphenol polyethoxylate degradation products and linear alkylbenzene sulfonate surfactants in urban ground water: Barcelona case study. **Journal of Hidrology**. n.383, p.102-110, 2010.

USEPA (United States Environmental Protection Agency) **Aquatic life ambient water quality criteria-Alkyl benzene sulfonate**. EPA-822-R-05-005. Final report. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC. 2005.

VAN VLAARDINGEN, P., POSTHUMUS, R., TRAAS, TP. **Environmental Risk Limits for Alkylphenols and Alkylphenol Ethoxylates**. National Institute of Public Health and the Environment, report 601501019. Bilthoven, The Netherlands, 2003.

VERGE, C.; MORENO, A.; BRAVO, J.; BERNA, J.L. Influence of water hardness on the bioavailability and toxicity of linear alkyl benzene sulphonate (LAS). **Chemosphere**, v.44, n.8, p. 1749-1757, 2001.

VRABL, P.; MUTSCHLECHNER, W.; BURGSTALLER, W. Characteristics of glucose uptake by glucose – and NH₄- Limited grown *Penicillium onchroclorum* at low, medium and high glucose concentration. **Fungal Genetics and Biology**. n. 45, p. 1380-1392, 2008.

WATANABE, T.; MASAKI, K.; IWASHITA, K.; FUJII, T.; IEFUJI, H. Treatment and phosphorus removal from high-concentration organic wastewater by the yeast *Hansenula anomala* J224 PAWA. **Bioresource Technology**. n.100, p. 1781-1785, 2009.

WEBBERTMANN, A.; MANGELSDORF, I.; GAMON, K.; SELDAK. Toxicological properties and risk assessment of the anionic surfactants category: Alkyl Sulfonates, and α -Olefin sulfonates. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.74, p. 1089-1106, 2011.

WEI, D.; XUE, X.; YEN, L.; SUN, M.; ZHANG, G.; SHI, L.; DU, B.; Effect of influent ammonium concentration on the shift of full nitrification to partial nitrification in a sequencing batch reactor at ambient temperature. **Chemical Engineering Journal**. n.235, p.19 – 26, 2014.

WINQUIST, E.; BJORKLOK, K.; SCHULTZ, E.; RASANEM, M.; SALONEM, K.; ANASONYE, F.; CAJTHAMAL, T.; STFFEN, T. K.; JORGESSEN K. S.; TUOMELA, M. Bioremediation of PAH- contaminated soil with fungi- from laboratory to field scale. **International Biodeterioration and Biodegradation**. n.86, p. 238-247, 2014.

XU, J., XIAO., Y., YU. H. Degradation of lignin in pulp Mill wastewater by White-rot fungi on biofilm. **Bioresource Technology**, 2005.

YANG, Q.; ZHANG, H.; LI, X.; WANG, Z.; XU. Y.; REN, S.; CHEN, X.; XU, Y.; HAO, H.; WANG, H. Extracellular enzyme production and phylogenetic distribution of yeasts in wastewater treatment systems. **Bioresource Technology**. n. 129, p. 264-273, 2013.a

YANG, S.; HAI, F. I.; NGHIEM, L. D.; PRINCE, W. E.; RODDICK, F.; MOREIRA, M. T.; MAGRAM S. F.; Understanding the factors controlling the removal of the trace organic contaminants by white- rot fungi and their lignin modifying Enzymes: A critical review. **Bioresource Technology**. n. 141, p. 97-108, 2013.b

YIN, S.; TAO, X.; SHI, K. The role of surfactants in coal bio-solubilisation. **Fuel Processing Technology**, n.92, p. 1554-1555, 2011.

YING GUANG-GUO. Fate, behavior and effects of surfactants and degradation products in the environment. **Environment International**. n. 32, 417-431, 2006.

ZNAD, H., MARKOS, J., BALES, V. Production of gluconic acid from glucose by *Aspergillus niger* : growth and no-growth conditions. **Process Biochemistry**, v39. n. 11, 1341- 1345, 2004.

ZANG, S. ; LIAN, B. ; WANG, J. ; YANJIE YANG, Y. Biodegradation of 2-naphthol and its metabolites by coupling *Aspergillus niger* with *Bacillus subtilis*. **Journal of Environmental Sciences**. n. 22, p. 669–674, 2010.

ZHANG, G.; TIAN. T.; LIU,Y.; WANG, H.; A laccase with anti-proliferative activity against tumor cells from a white root fungus **Abortiporus biennis**. *Process Biochemistry*, n. 12, p. 2336- 2340, 2011.

ZHANG, Y.; GEIBEN, S. Elimination of carbamazepine in a non-sterile fungal bioreactor. **Bioresource Technology**. n.112, p. 221-227, 2012.