

Remoção de macronutrientes de efluente da indústria de castanha de caju por uso de reator aeróbio em batelada com inóculo fúngico

Removal of macronutrients from effluent of a cashew nut industry by using a batch aerobic reactor with fungal inoculums

Marina Santos da Silva Lopes

Engenheira de Pesca pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Tecnóloga em Gestão Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE).

Patrícia Celestino Carvalho de Oliveira

Tecnóloga em Gestão Ambiental pelo IFCE. Mestranda em Tecnologia e Gestão Ambiental do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do IFCE

Marcus Vinícius Freire Andrade

Tecnólogo em Gestão Ambiental pelo IFCE. Graduando em Farmácia pela UFC. Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do IFCE

Rinaldo dos Santos Araújo

Químico Industrial. Doutor em Química Orgânica pela UFC. Professor Efetivo do Departamento da Área de Química e Meio Ambiente e do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do IFCE

Glória Marinho

Farmacêutica pela UFC. Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (EESC-USP). Professora Efetiva do Departamento da Área de Química e Meio Ambiente e do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do IFCE

Kelly Rodrigues

Engenheira Civil pela Universidade Estadual do Maranhão (UEMA). Doutora em Hidráulica e Saneamento pela EESC-USP. Professora Efetiva do Departamento da Área de Química e Meio Ambiente e do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do IFCE

Resumo

Foi estudada a eficiência da remoção de nitrogênio e fósforo do efluente de indústria de castanha de caju, por uso de reator aeróbio em batelada com inóculo de *Aspergillus niger* AN400. O reator recebeu 5 L de água residuária, acrescida de glicose, na concentração de 1 g.L⁻¹ (Etapa I) e de 5 g.L⁻¹ (Etapa II). Cada etapa teve seis ciclos operacionais, cada um com tempo de reação total de sete dias. Os valores de pH dos efluentes na Etapa I variaram de 6,4 a 8,7 e na Etapa II, de 3,1 a 7,0. Durante a Etapa II, o reator alcançou bons resultados para remoção de nutrientes sem acúmulo de sua concentração no meio: 49% de fósforo total, 60% de ortofosfato, 79% de amônia, 78% de nitrato e 90% de nitrito, indicando que a menor liberação de nutrientes pelos micro-organismos ocorreu na presença de concentração elevada de glicose.

Palavras-chave: *Aspergillus niger*; batelada sequencial; fósforo; nitrogênio.

Abstract

It was studied the removal efficiency of nitrogen and phosphorus from effluent of a cashew nut industry by using an aerobic reactor operated in repetitive batch, inoculated with *Aspergillus niger* AN400. The reactor was fed with 5 L of wastewater, supplemented with glucose in the concentration of 1 g.L⁻¹ (Phase I) and 5 g.L⁻¹ (Phase II). Each phase had six operational cycles, with total reaction time of seven days per cycle. The pH values of the effluents in Phase I varied from 6.4 to 8.7 and in Phase II, it varied from 3.1 to 7.0. The reactor achieved good results of removal without nutrients accumulated in the medium, during Phase II: 49% to total phosphorus, 60% to orthophosphate, 79% to ammonia, 78% to nitrate, and 90% to nitrite, indicating that the lesser release of nutrients by microorganisms occurred in the presence of higher glucose concentration.

Keywords: *Aspergillus niger*; sequential batch; phosphorus; nitrogen.

Endereço para correspondência: Kelly Rodrigues – Laboratório de Tecnologia Ambiental – Departamento da Área de Química e Meio Ambiente do IFCE – Avenida Treze de Maio, 2.081 – Benfica – Fortaleza (CE), Brasil – 60000-000 – Tel.: (85) 3307-3750 – E-mail: kelly@ifce.edu.br

Recebido: 24/08/09 – **Aceito:** 03/02/11 – **Reg. ABES:** 120 09

Introdução

O cajueiro é considerado uma planta nativa do Brasil e a cultura do caju (*Anacardium occidentale L.*) é amplamente praticada no Nordeste brasileiro, sendo a castanha de caju um produto de exportação que enriquece a economia da região (SEVERINO, 2008).

Entretanto, o beneficiamento da castanha de caju tem também como resultado a geração de resíduo perigoso para o meio ambiente, pois as etapas de beneficiamento do produto – prensagem, armazenagem, secagem, classificação, lavagem, extração do líquido da castanha de caju (LCC) e descortinagem – produzem efluentes potencialmente poluidores, pois são ricos em matéria orgânica e compostos fenólicos de persistência elevada, potencialmente cancerígenos e mutagênicos (SOUZA, 2005; MOHOD; KHANDETOD; POWAR, 2008).

Os principais compostos fenólicos presentes nesses efluentes são o ácido anacárdico (60 a 65%), cardóis (10 a 20%) e cardanóis (10%), os quais são lipídios fenóis de cadeias carbônicas longas (saturadas e não-saturadas), não-isoprenoides, sendo oriundos do líquido extraído da castanha (RODRIGUES FILHO, 2010).

O ácido anacárdico é derivado do ácido orto-hidroxibenzoico, substituído na posição 6 por uma cadeia lateral. Os cardóis são oriundos do 1,3-dihidroxibenzeno e 2-metil-1,3-dihidroxibenzeno e o cardanol do hidroxibenzeno, substituído por uma cadeia lateral ligada ao carbono 3, sendo inibidores de várias enzimas, tais como desidrogenases e tironases, apresentando efeito bactericida (SEVERINO, 2008).

O percentual desses compostos depende do tipo de processo de extração do LCC, que pode ser artesanal (painéis de ferro perfuradas no fundo, aquecidas até a liberação do líquido) ou industrial (ruptura, forno e solvente). Os ácidos anacárdicos são instáveis termicamente e são facilmente descarboxilados durante o processo de extração a quente utilizado na produção da amêndoa. Após a descarboxilação, o LCC natural passa a ser denominado LCC técnico e apresenta uma composição de 70 a 75% de cardanol, 15 a 20% de cardol e 10% de material polimérico e traços de 2-metilcardol (FERRÃO, 1995; TREVISAN *et al*, 2006).

Alguns processos físico-químicos podem ser utilizados para a remoção de compostos fenólicos presentes em águas residuárias, como: adsorção, sistemas eletroquímicos e processos oxidativos avançados, entre outros (POLAT *et al*, 2006; YAVUZ; KOPARAL, 2006; SILVA *et al*, 2007; CHEDEVILLE; DEBACQ; PORTE, 2009). Porém, apesar da boa eficiência dos processos físico-químicos, principalmente em relação ao reduzido tempo reacional, estes apresentam custo mais elevado, além de poderem gerar subprodutos tão tóxicos quanto o composto a ser removido (MOMENTI, 2006).

O tratamento biológico surge como uma alternativa, sendo relatado o uso de reatores anaeróbios (COLLINS *et al*, 2005; RAMAKRISHNAN; GUPTA, 2006; SCULLY *et al*, 2006). Porém, a concentração elevada de compostos aromáticos fenólicos presentes

em efluentes pode inibir a atividade das arqueas metanogênicas, o que é contornado pela utilização de pré-tratamento, geralmente com uso de sistema físico-químico (KHOUFI; ALOUI; SAYADI, 2006; AZBAR; KESKI; KATALKAYA, 2008; EL-GOHARY *et al*, 2009).

Em relação ao uso de reatores biológicos aeróbios para o tratamento desses despejos, tem-se dado destaque ao emprego de reatores com inóculo fúngico, tendo sido reportado o uso de várias espécies, tais como *Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori*, *Fusarium oxysporium* e *Phanerochate chrysosporium* (STOILOVA *et al*, 2006; LU *et al*, 2009; PARK; HONG; GADD, 2009; JAMAL; IDRIS; ALAM, 2011).

O interesse nesta tecnologia decorre da grande versatilidade dos fungos na produção de enzimas como peroxidases e lacases, as quais são potentes para degradação de xenobióticos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e outros poluentes encontrados em efluentes industriais e em solo e água contaminadas (CHBERIYAN; ABRAHAM, 2010), a partir da ruptura das moléculas de compostos de cadeia longa, tornando-os assimiláveis pelo seu metabolismo, de modo que esta atividade pode ser intensificada na presença de cossubstrato de fácil assimilação, como a glicose e a sacarose (SINGH, 2006).

Essas características, entre outras, têm impulsionado as pesquisas com reatores com inóculo fúngico para o tratamento de efluentes, as quais vêm apresentando bons resultados, devido ao fato desses micro-organismos se mostrarem hábeis em degradar muitos compostos tóxicos (PASSOS, 2006) e a sobreviverem e crescerem sob condições limitantes, em meios com concentrações elevadas de compostos persistentes ao tratamento biológico (SANTOS; LINARDI, 2004).

A espécie *Aspergillus niger*, em particular, possui importante papel biotecnológico, pois é utilizada na produção de ácidos orgânicos e enzimas (JERNEJC; LEGISA, 2004). No saneamento, estudos em escala laboratorial vêm comprovando a importância desta espécie no tratamento de efluentes contendo corantes têxteis (KIM *et al*, 2004; SVOBODOVA *et al*, 2007), compostos fenólicos (ALLOUI *et al*, 2007; KHALAF, 2008), entre outros, sendo que pouco enfoque tem sido dado à remoção de nutrientes como nitrogênio e fósforo.

Sabe-se que o ortofosfato é a forma diretamente assimilada pelos fungos, existindo relatos de que mecanismos de assimilação destes nutrientes possuem estreita relação com o nível do oxigênio no meio e com o pH, sendo este afetado pela produção de ácidos orgânicos e pela assimilação de nitrogênio amoniacal (GRIFFIN, 1994).

Em condições aeróbias, frequentemente, espécies que utilizam nitrato, como *Aspergillus niger*, desenvolvem a redução desassimilatória do nitrato, quando este íon está presente no meio, sendo que as fontes disponíveis de nitrogênio são convertidas a nitrogênio amoniacal, o que é diretamente utilizado pelos micro-organismos e cujo mecanismo de assimilação é influenciado fortemente pela presença de glicose e outros açúcares (CARLILE; WATKINSON, 1994; ZHOU *et al*, 2002; PEREIRA *et al*, 2003).

Existem poucos trabalhos sobre a caracterização de águas residuárias oriundas do beneficiamento da castanha de caju, estes efluentes

podem apresentar concentrações elevadas de nitrogênio amoniacal, sendo encontradas concentrações de até 86 mg.L⁻¹, reforçando a necessidade de tratar esses despejos antes de sua disposição no ambiente (SOUZA *et al*, 2005; SANTAELLA, 2007).

Assim, em face do grande potencial destes micro-organismos em processos de biorremediação, foi utilizado reator em batelada sequencial, com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400, na condição de concentração baixa (1 g.L⁻¹) e elevada (5 g.L⁻¹) de glicose como cossustrato. O objetivo deste trabalho foi determinar a melhor concentração desse cossustrato, dentre as estudadas, para obtenção de maior eficiência de remoção de nitrogênio e fósforo de uma água residuária de indústria de beneficiamento da castanha de caju. A disponibilidade de glicose, como fonte primária de carbono, facilita a pronta produção de metabólito intermediário que é utilizado juntamente com amônio para a síntese de aminoácidos realizada pelos fungos (PAPAGIANNI; WAYMAN; MATTEY, 2005).

Materiais e métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE).

Imobilização da biomassa em meio suporte

O meio suporte empregado para imobilização do *Aspergillus niger* AN 400 foi manta de polipropileno, de 2 x 2 cm. A imobilização da espécie ocorreu com a adição de 2 x 10⁶ esporos. mL⁻¹ da espécie mencionada em Erlenmeyers contendo meio com nutrientes e o material suporte, tendo sido o mesmo autoclavado a 120°C, durante 20 minutos, para minimizar a possibilidade de contaminação do material de inóculo por outros micro-organismos. Este procedimento garantiria que o inóculo adicionado ao reator seria de *Aspergillus niger* AN 400, dando ao mesmo, uma vantagem competitiva na partida do reator (VASSILEV *et al*, 1997; NOVOTNÝ *et al*, 2010).

O meio com nutrientes foi preparado com água destilada estéril e possuía como composição (g.L⁻¹): C₆H₆H₁₂ (5), NH₄SO₄ (0,5), NaNO₃ (0,5), KH₂PO₄ (0,2), MgSO₄ (0,25), CaCl₂.H₂O (0,01), CuSO₄.7H₂O (0,08), H₂MoO₄ (0,05), MnSO₄.7H₂O (0,05), MnSO₄.7H₂O (0,05), Fe₂(SO₄)₃ (0,05), ZnSO₄ (0,04). Em seguida, os Erlenmeyers foram submetidos à agitação em mesa agitadora a 200 rpm a ± 28°C, durante 72 horas, sendo então o conteúdo dos Erlenmeyers substituído por meio de igual composição, a fim de repor os nutrientes no meio e, posteriormente, a cada 48 horas. Após dez dias, a biomassa que cresceu aderida à manta suporte foi transferida para o reator, no qual permaneceram contidas em redes de polietileno para mantê-la no interior da unidade ao longo de sua operação.

A água residuária utilizada

O efluente utilizado na pesquisa foi proveniente da estação de tratamento de esgoto de uma indústria de beneficiamento da castanha de caju, localizada em Fortaleza, no Ceará, sendo a coleta realizada na saída da unidade de equalização.

Operação do reator em batelada sequencial

Foi utilizado um reator confeccionado em vidro, de formato cilíndrico, previamente esterilizado, com volume reacional de 5 L (Figura 1). Em seu interior, foi adicionada a biomassa imobilizada e, posteriormente, a água residuária. O meio permaneceu sob aeração por uso de minicompressor de ar, do tipo “aerador de aquário”.

O reator foi operado em duas etapas em função da concentração do cossustrato, no caso, a glicose. Na Etapa I, a água residuária recebeu adição de concentração baixa de glicose (1 g.L⁻¹) e, na Etapa II, a glicose foi adicionada em concentração elevada (5 g.L⁻¹).

Cada Etapa possuía seis ciclos com duração de sete dias, com base nos relatos de Jiménez, Borja e Martín (2003), Singh (2006) e



Figura 1 - Reator com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN400, operado no regime de batelada sequencial

Martinez-García *et al* (2009), em relação à biodegradação de compostos fenólicos de peso molecular elevado por fungos. Ao longo do tempo reacional, foram retiradas alíquotas para acompanhamento da variação da concentração de matéria orgânica e de nutrientes, nos seguintes tempos de reação: 24, 48, 72 e 168 horas.

No início de cada ciclo operacional, era feita a caracterização da água residuária. Antes de ser adicionada ao reator, a mesma era acidificada com ácido clorídrico (5 N) até pH 4, objetivando criar condição mais favorável aos fungos, além de se constituir em fator negativo para a atividade de bactérias oportunistas (KYRIACOU *et al*, 2005; SINGH, 2006). Foram acrescentados também ao meio solução nutriente Vishniac (1 mL.L⁻¹) e o antibiótico cloranfenicol (0,05 g.L⁻¹), este para minimizar a contaminação por bactérias.

A solução de nutrientes Vishniac, preparada com água destilada, apresenta a seguinte composição (mg.L⁻¹): H₃BO₃ (50), FeCl₂.4H₂O (2000), ZnCl₂ (50), MnCl₂.4H₂O (50), CuCl₂.2H₂O (38), AlCl₃.H₂O (90), CoCl₂.6H₂O (2000). A glicose foi o cossubstrato utilizado, sendo que, na Etapa I, adicionou-se 1 g.L⁻¹ de glicose e, na Etapa II, 5 g.L⁻¹. O reator foi operado coberto com sacos pretos de polietileno, a fim de eliminar a possibilidade da remoção dos fenóis ter ocorrido via ação da luz.

Variáveis determinadas

Foram realizadas análises para determinação de: potencial hidrogeniônico (pH), nitrogênio amoniacal, nitrito, nitrato, fósforo total, ortofosfato, fenóis e demanda química de oxigênio (DQO). A variável 'fenóis' foi analisada somente no primeiro e último dia de cada ciclo. A metodologia utilizada para realização das análises encontra-se escrita em APHA (2005), com exceção do nitrato, que foi executada de acordo com Rodier (1975).

Microscopia

No final da operação do reator, amostras do biofilme aderido à manta suporte foram removidas com ajuda de pérolas de vidro e água destilada esterilizada a 121°C a 1 atm, durante 20 minutos.

De acordo com procedimentos básicos de microbiologia, descritos em Okura e Rende (2008), foram realizados procedimentos para visualização das estruturas vegetativas e reprodutoras dos micro-organismos. Assim, diluições de 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³ das amostras foram feitas e foi retirado 1 mL de cada diluição para adição em placas de Petri contendo meio *Saboraud*. As placas foram mantidas em estufa a ± 30°C por sete dias para verificação das colônias, sendo ao todo nove placas, três placas para cada uma das diluições mencionadas.

Posteriormente, foi efetuado o microcultivo de fragmentos retirados das colônias que cresceram nas placas de Petri, com uso de lâmina esterilizada, inserida dentro de nova placa, adicionando-se à mesma um cubo de meio ágar já endurecido.

O fungo a ser identificado foi inoculado nos quatro lados deste cubo, adicionando-se 1 mL água estéril, com o propósito de evitar a dessecação do meio durante o crescimento do fungo, e recoberto com lamínula esterilizada. A placa foi tampada e deixada à ± 29°C por sete dias. Após este período, 1 mL de formol foi adicionado ao microcultivo e a placa foi vedada com fita adesiva, permanecendo sob a mesma temperatura por 48 horas para inativação do micro-organismo e fixação das estruturas microscópicas.

Após esse período, a lamínula foi cuidadosamente removida, com auxílio de pinça, tendo-se colocado uma gota de azul de metileno sobre as hifas e esporos fixados na placa e sobreposta lâmina. As estruturas fúngicas foram observadas em microscópio óptico com objetiva de 40 vezes.

Resultados e discussões

Na Tabela 1, são apresentados os valores médios e de desvios padrão para cada variável monitorada no afluente e efluente do reator em batelada. É importante mencionar que para os dados informados sobre a caracterização da água residuária são equivalentes a um número de 12 coletas (amostras), de modo que as seis primeiras referem-se à Etapa I e as demais, à Etapa II.

Na água residuária bruta, com exceção do pH, os valores de desvios padrão foram elevados, o que indicou sua homogeneidade baixa

Tabela 1 - Valores médios e de desvios padrão dos parâmetros para caracterização da água residuária bruta – oriunda da indústria da castanha de caju – e do monitoramento do afluente e efluente do reator em batelada com inóculo de *A. niger* AN400, operado com adição de glicose nas concentrações de 1 g.L⁻¹ (Etapa I) e de 5 g.L⁻¹ (Etapa II)

| Parâmetro | Água residuária bruta | Etapa I | | Etapa II | |
|-------------------------------------|-----------------------|-------------|-------------|--------------|---------------|
| | | Afluente | Efluente | Afluente | Efluente |
| pH | 7,9 ± 2,2 | 4 ± 0,11 | 8 ± 1 | 4 ± 0,83 | 5 ± 2 |
| Amônia (mg.L ⁻¹) | 57 ± 33 | 35 ± 29 | 17 ± 12 | 79 ± 21 | 16 ± 10 |
| Nitrito (mg.L ⁻¹) | 0,26 ± 0,24 | 0,12 ± 0,08 | 0,17 ± 0,11 | 0,40 ± 0,22 | 0,007 ± 0,004 |
| Nitrato (mg.L ⁻¹) | 17 ± 15 | ---- | ---- | 17 ± 15 | 3 ± 2 |
| Fósforo total (mg.L ⁻¹) | 53 ± 46 | 38 ± 20 | 22 ± 12 | 69 ± 29 | 28 ± 14 |
| Ortofosfato (mg.L ⁻¹) | 49 ± 17 | ---- | ---- | 49 ± 17 | 18 ± 11 |
| DQO bruta (mg.L ⁻¹) | 10784 ± 8002 | 6808 ± 5023 | 602 ± 597 | 14759 ± 3500 | 998 ± 294 |
| DQO filtrada (mg.L ⁻¹) | 5192 ± 4546 | 1723 ± 1135 | 401 ± 440 | 8662 ± 3900 | 818 ± 235 |
| Fenóis (mg.L ⁻¹) | 25 ± 22 | 43 ± 27 | 2,6 ± 2,3 | 8 ± 4 | 3 ± 2 |

----: não foi possível realizar análise para determinação da variável.

em relação às características. Porém, isto mostrou a facilidade de adaptação do reator com inóculo fúngico às variações de carga orgânica em face das boas reduções da concentração de matéria orgânica e de fenóis registradas em ambas as etapas.

A eficiência média, obtida a partir dos percentuais de remoção registrados no final dos ciclos operacionais, foi de 92 e 78%, na Etapa I, e de 93 e 67%, na Etapa II, respectivamente, para matéria orgânica, em termos de DQO bruta, e fenóis.

É importante ressaltar que a glicose ao ser adicionada no meio aumentou a concentração de matéria orgânica, o que ficou refletido no aumento da DQO afluente em relação à água residuária bruta. Porém, a adição de glicose não impede a remoção do poluente se estiver em concentração adequada, pelo contrário, favorece a remoção do mesmo, pois é importante a presença de fonte de carbono de rápida assimilação na síntese enzimática (SINGH, 2006).

De acordo com Singh (2006), a presença de substrato de fácil metabolização contribui para a melhor utilização do poluente pelos fungos, pois o poluente, ao se envolver em reações secundárias com os produtos formados durante a oxidação enzimática do substrato de fácil assimilação, fica mais disponível à bioassimilação.

Ryan, Leukes e Burton (2007) afirmaram que a adição de glicose é benéfica para a biorremediação de água residuária sintética contendo compostos fenólicos – fenol (83 mM), p-cresol (25 mM), m-cresol (26 mM) – pelo fungo *Trametes versicolor*, alcançando-se boa resposta para a concentração de até 10 g.L⁻¹ de glicose, quando também houve maior produção de biomassa. Segundo aqueles autores, nessa concentração, a glicose favoreceu a remoção dos poluentes presentes no meio e não provocou diminuição da sua eficiência, não reprimindo o metabolismo microbiano por excesso de substrato, o que varia em função da espécie e da complexidade do poluente.

Em relação à presente pesquisa, verificou-se também que, embora as características da água residuária bruta, e conseqüentemente as do afluente, tenham variado muito, o reator apresentou-se estável em relação à eficiência de tratamento, pois houve pouca oscilação das características do efluente, mostrando que os micro-organismos mantiveram a qualidade do efluente final, independente da carga orgânica a que o reator era submetido.

Na Etapa I, ao longo dos ciclos operacionais, o meio tendeu a se alcalinizar e atingiu, no último tempo de reação de cada ciclo, o valor médio de pH de 8. De acordo com Griffin (1994), os fungos alteram o pH do meio onde estão, o que ocorre devido à retirada diferenciada de cátions e ânions durante o transporte de substrato e do uso do nitrogênio pelo seu metabolismo, como na desassimilação do nitrato, quando há a produção de amônia a partir de nitrato e nitrito.

Durante a desassimilação do nitrato, ocorre consumo de H⁺ do meio, de modo que é comum a produção de alcalinidade pelos fungos em meios com nitrato (ZEHNDER, 1988; PAPAGIANNI, 2004).

Nesta etapa, não foi possível realizar análises para a determinação de nitrato e ortofosfato. Em relação ao nitrogênio amoniacal, foi

alcançada eficiência média de remoção de 34%. As concentrações de nitrito se apresentaram sempre muito baixas, tanto no afluente quanto no efluente, registrando-se a maior remoção (92%) no Ciclo 5. Na Figura 2, apresenta-se a variação de nitrogênio amoniacal ao longo dos ciclos operacionais da Etapa I.

Apesar de, no final de cada ciclo operacional, ter sido alcançada boa eficiência de remoção de amônia, houve aumento de sua concentração no meio em alguns dos tempos reacionais. Provavelmente, este incremento da concentração tenha ocorrido pela conversão de nitrato e nitrito em amônia, conforme as Equações 1 e 2, bem como pela quebra de compostos nitrogenados na água residuária.



Quanto ao fósforo total, a média das remoções registradas foi de 60%, tendo ocorrido aumento do nível de fósforo no meio nos ciclos 4 (41%) e 6 (23%), o que pode estar relacionado ao pH, uma vez que a utilização de fósforo pelos fungos ocorre com maior intensidade nos meios cujo pH assume valores inferiores a 5,5 (JENNINGS, 1995).

Na Etapa II, embora a remoção média de matéria orgânica tenha sido de 93%, houve diminuição da eficiência do tratamento em relação à remoção média de fenóis (67%). Nesta etapa, a menor eficiência de remoção de compostos fenólicos foi atribuída à grande disponibilidade de matéria orgânica de fácil biodegradação pela adição da glicose em concentração elevada (5 g.L⁻¹).

Na presença de glicose em concentração elevada, os percentuais registrados para remoção de matéria orgânica carbonácea foram superiores aos de fenóis, situação diferente daquela observada quando a glicose foi adicionada em menor concentração (1 g.L⁻¹), no momento em que a eficiência de remoção de ambas as variáveis mencionadas ficaram muito próximas.

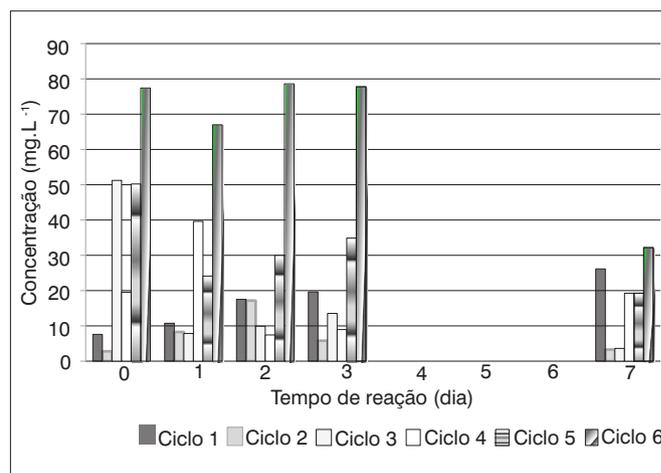


Figura 2 - Variação das concentrações de amônia ao longo dos ciclos operacionais da Etapa I no reator em batelada sequencial, com inóculo de *Aspergillus niger* AN400

Embora o pH do meio tendesse também a aumentar, o valor médio do pH do efluente foi de 5,1, inferior ao observado na Etapa I. Possivelmente, a maior quantidade de glicose (5 g.L^{-1}) teria resultado em maior produção de ácidos orgânicos. Assim, após a exaustão do substrato, houve provável consumo desses ácidos, o que poderia explicar a elevação do pH registrada no último dia de todos os ciclos estudados, quando foram registrados valores entre 4,5 e 7.

Assas *et al* (2002) obtiveram resultados semelhantes quando da utilização de *Geotrichum candidum* para o tratamento do efluente da indústria de azeite de oliva, e a diminuição do pH foi atribuída à geração de ácidos orgânicos. Da mesma forma, Rodrigues *et al* (2007), ao empregarem água residuária sintética com fenol em reatores em batelada inoculados com *Aspergillus niger*, observaram redução inicial nos valores de pH, principalmente naqueles que continham glicose, nos quais a diminuição dos valores de pH foi mais rápida em relação aos demais reatores, como reflexo de atividade microbiana mais intensa.

Na presente pesquisa, em todos os ciclos, houve consumo de amônia e nitrato. A amônia, por ser a forma prontamente utilizada pelos fungos, regula a assimilação de nitrogênio e, em sua presença, o uso de outras fontes de nitrogênio pode ser reprimido, o que depende do organismo, da história do seu cultivo e das condições do meio (FOSTER, 1949).

A remoção de nitrogênio amoniacal ao longo de cada ciclo operacional da Etapa II (Figura 3A) foi maior em comparação com a Etapa I, sendo que não foi registrada produção de amônia no meio como na etapa anterior.

Quanto ao nitrato, ao final de cada ciclo de estudo desta etapa, embora o percentual de remoção alcançado no final dos ciclos tenha sido bom, variando de 55 (ciclo 5) a 93% (ciclo 2), este foi sempre inferior ao registrado para a amônia, fato possivelmente relacionado à preferência dos fungos pela amônia que é a forma diretamente assimilada por estes micro-organismos, e cuja presença tende a diminuir

a ação das enzimas nitrato reductase e nitrito reductase, indutoras da produção de amônia a partir do nitrato (GRIFFIN, 1994; PEREIRA *et al*, 2003).

Na Figura 3B, é apresentada a variação da concentração de nitrato ao longo da operação do reator. A remoção média de nitrato alcançada na Etapa II foi de 78%. Notadamente no Ciclo 1, houve aumento de nitrato no meio nos primeiros dias reacionais, o que foi atribuído ao período de adaptação dos micro-organismos às novas condições nutricionais, bem como à elevada disponibilidade de glicose, a qual provavelmente teria sido utilizada por bactérias nitrificantes presentes na água residuária que, por ser despejo *in natura*, continha microbiota própria. Desta forma, bactérias nitrificantes poderiam ter contribuído com a transformação de amônia a nitrato.

Também não se pode deixar de considerar que o aumento de nitrato no meio possa, em parte, estar relacionado à sua liberação pelas células fúngicas, uma vez que estes micro-organismos podem armazená-lo, assim como outros nutrientes, excretando-os para o meio externo sempre que requerido, em resposta às necessidades metabólicas dos fungos (LEITE *et al*, 2006).

As oscilações das concentrações de nitrato e amônia registradas no meio durante o experimento poderiam estar relacionadas à liberação do íon NH_4^+ , acumulado no interior da célula fúngica (LEITE *et al*, 2006).

Papagianni, Wayman e Matthey (2005) afirmaram que, nas reações de síntese, íons amônio, armazenados no interior da célula fúngica, ao reagirem com α -acetogluturato – intermediário do ciclo tricarbólico gerado a partir da fermentação da glicose – formam glutamato, que é o principal aminoácido produzido pelo metabolismo fúngico, conforme mostrado na Equação 3. Neste processo, a fim de manter o equilíbrio do pH no interior da célula, pode haver fluxo de entrada e saída de H^+ , pois a célula tende a consumir ou liberar H^+ como mecanismo de regulação da homeostase (BEVENSEE; BORON, 2008).

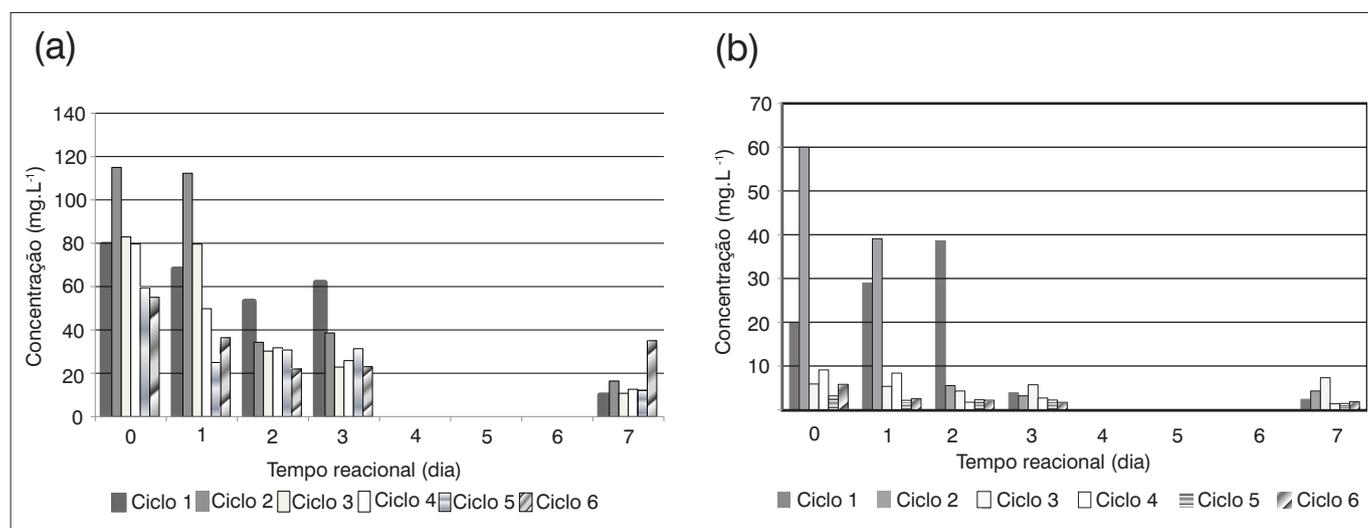


Figura 3 - Variação das concentrações de amônia (a) e nitrato (b) ao longo dos ciclos operacionais da Etapa II no reator em batelada sequencial, com inóculo de *A. niger* AN400



Portanto, a melhor eficiência de remoção de nitrogênio registrada na Etapa II pode estar relacionada à maior disponibilidade de glicose para a formação do glutamato, o que teria favorecido a obtenção de maiores percentuais de remoção deste nutriente da água residuária.

Ao se comparar os resultados alcançados na Etapa I com os da Etapa II (Figura 4), constatou-se que os melhores percentuais de remoção de nitrogênio amoniacal foram registrados na Etapa II, o que poderia indicar ser a adição de glicose em concentração elevada (5 g.L⁻¹) a melhor condição operacional, visando à remoção desta variável para o sistema em questão.

Contudo, a melhor remoção de nitrogênio amoniacal da Etapa II, propiciada pela adição de 5 g.L⁻¹ de glicose, ocorreu em detrimento da eficiência de remoção dos fenóis, que diminuiu em 11 pontos percentuais em relação à Etapa I, provavelmente como resultado do maior consumo da glicose, inibindo a utilização dos compostos fenólicos presentes no meio nessa condição.

Apesar dos 84 dias de operação do reator em batelada sequencial, com inóculo de *Aspergillus niger* AN400, maior tempo de operação do mesmo é requerido a fim de se poder afirmar que o sistema tenha alcançado a estabilidade.

Particularmente, ao se tratar de nitrogênio e fósforo, com base nos relatos de Huerdo (2006) e Leite *et al* (2006), grandes períodos de estabilidade nos reatores com fungos estão longe de serem obtidos, a não ser que controle-se o metabolismo fúngico em relação ao nitrogênio – da mesma forma para o fósforo –, o que, particularmente, no caso do nitrogênio, está fortemente relacionado à presença de fonte de carbono de fácil assimilação, como a glicose e outros açúcares. O metabolismo dos fungos difere do bacteriano e precisa ser

adequadamente elucidado e dominado para uma melhor eficiência dos processos nos quais fungos encontram-se envolvidos.

Também é importante endossar que, neste trabalho, a remoção percentual de nitrogênio amoniacal resultou em concentrações médias, medidas no efluente das Etapas I e II, de, respectivamente, 17 e 16 mg.L⁻¹, valores que estão em conformidade tanto com a Resolução n° 397 do CONAMA (2008), quanto com a Portaria n° 154 da SEMACE (2002).

Na Etapa II, para o fósforo, em termos de ortofosfato, a melhor remoção foi de 87%, registrada no Ciclo 2, e, para fósforo total, de 79%, no Ciclo 4. As médias da remoção de ortofosfato e de fósforo total, obtidas no final dos ciclos em estudo, foram, respectivamente, de 60 e 49% e não foi observado acúmulo de fósforo no meio, como ocorreu na etapa anterior. O acúmulo de fósforo no meio pode indicar que o mesmo não foi, em grande parte, utilizado pelo metabolismo microbiano, mas apenas armazenado nos vacúolos na forma de fosfatos e polifosfatos como compostos de reserva e, posteriormente, liberados em função do metabolismo celular (KORNEBERG; RAO; AULT-RICHE, 1999; LI; ZHAO; YUAN, 2005).

Provavelmente, o fato da concentração inicial média de fósforo presente no meio durante a Etapa II (69 mg.L⁻¹) ter sido quase o dobro da registrada para a Etapa I (38 mg.L⁻¹), pode ter acarretado em inibição das enzimas responsáveis pela assimilação deste nutriente, pois, segundo Branco, Murgel e Carvinatto (2001), o aumento da concentração de fósforo pode conduzir à repressão dos mecanismos de assimilação deste macronutriente pelos micro-organismos.

Assim, caso a concentração da glicose adicionada tivesse sido mantida em 1 g.L⁻¹, é possível que o percentual para remoção de fósforo diminuísse, o que tem sido verificado particularmente em meios cuja fonte de nitrogênio predominante é o nitrogênio amoniacal (BRANCO, MURGEL E CARVINATTO, 2001).

Na presente pesquisa, os percentuais de remoção de fósforo e ortofosfato foram superiores aos encontrados por Silva *et al* (2005), os quais utilizaram reator aeróbio em batelada sequencial, com volume útil de 3 L e tempo de operação de três horas, inoculado com lodo proveniente de indústria de beneficiamento da castanha de caju, para tratar água residuária da mesma indústria. Aqueles autores relataram que a concentração de ortofosfato no efluente tratado foi praticamente a mesma do afluente, demonstrando a eficiência do reator com inóculo fúngico, empregado no presente trabalho para a remoção de nutrientes.

No presente trabalho, a espécie *Aspergillus niger*, utilizada como inóculo, conforme identificação morfológica realizada com auxílio de microscópio, encontrava-se no meio, ao final da operação do reator, não se podendo afirmar se a mesma era a linhagem inoculada ou espécie autóctone da água residuária industrial estudada. Observou-se, ainda, o crescimento de suas colônias em um maior número de placas utilizadas no protocolo de microscopia em relação aos outros micro-organismos, que também foram agentes do processo.

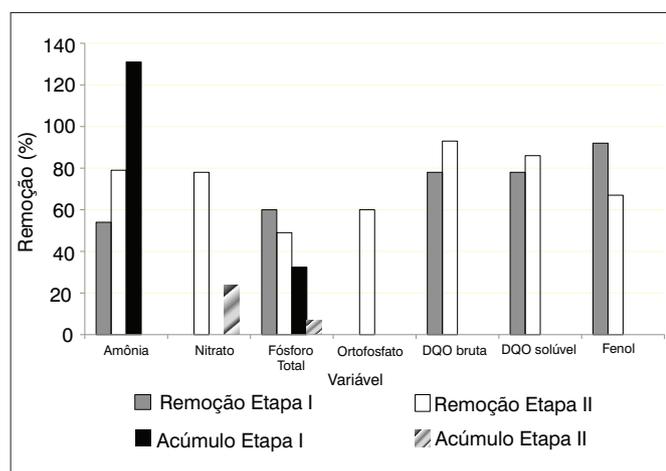


Figura 4 - Média das remoções e do seu acúmulo no meio, obtidas no final dos ciclos operacionais, de acordo com a adição de glicose no meio, 1 g.L⁻¹ (Etapa I) e 5 g.L⁻¹ (Etapa II), do reator em batelada sequencial, com inóculo de *Aspergillus niger* AN400

É importante frisar que esta tecnologia não visa à operação de reatores sob condições assépticas, ao longo de todo o processo de biorremediação. No tratamento de águas residuárias, diferentemente da indústria de fermentação, isto é imprescindível. Contudo, a interação conjunta de fungos e bactérias é benéfica ao processo, pois estes são os decompositores principais encontrados na natureza, sendo responsáveis pela biorremediação de vários poluentes, muitos deles com maior eficiência de remoção quando metabolizados em culturas mistas, uma vez que fungos e bactérias são parceiros complementares (GRIFFIN, 1994; HAI *et al*, 2008).

Os fungos podem iniciar a degradação de poluentes que não são capazes de serem utilizados pelas bactérias, porém, a completa remoção da matéria orgânica presente no meio é completada pela ação de bactérias (BAILEY; SMITH; BOLTON JR, 2002; JASTI *et al*, 2006; HAI *et al*, 2008). Deste modo, as potentes enzimas fúngicas, como lacases, peroxidases, fenoloxidasas, entre muitas outras, são arsenal importantíssimo a ser utilizado no processo de biorremediação (SANGHI; DIXIT; VERMA, 2010).

Além disso, segundo Singh (2006) e Hai *et al* (2008), a ação dos fungos nestes sistemas pode ser melhorada pela determinação das condições mais favoráveis para o estabelecimento da sua população, mediante o aprofundamento das condições operacionais dos reatores – relação entre a concentração de inóculo/volume reator, tipo e concentração de cosubstrato, adição de fonte suplementar de nutrientes, entre outros –, o que permitirá a maior viabilidade dos mesmos para aplicação em escala real.

Referências

- ALLOUI, L. *et al*. Decolorization of semisolid olive residues of “alperujo” during the solid state fermentation by *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Pycnoporus cinnabarinus* and *Aspergillus niger*. *Biochemical Engineering Journal*, v. 35, n. 1, p. 120-125, 2007.
- APHA. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 21 ed. Washington: American Public Health Association, 2005.
- ASSAS, N. *et al*. Decolorization of fresh and stored-black olive mill wastewater by *Geotrichum candidum*. *Process Biochemistry*, v. 2, n. 38, p. 361-365, 2002.
- AZBAR, N.; KESKIN, T.; CATALKAYA, E.C. Improvement in anaerobic digestion of olive mill effluent (ome) by chemical pretreatment using batch systems. *Biochemical Engineering Journal*, v. 38, p. 379-383, 2008.
- BAILEY, V.L.; SMITH, J.L.; BOLTON JR, H. Fungal-to-bacterial rations in soils investigated for enhanced C sequestration. *Soil & Biochemistry*, v. 34, p. 997-1007, 2002.
- BEVENSEE, M.O.; BORON, W.F. *Control of intracellular pH*. In: ALPERN, R.J.; HERBERT, S.C. *The Kidney*. Elsevier Inc., 2008, p. 1429-1480.
- BRANCO, S.; MURGEL, P.H.; CAVINATTO, V.M. Compostagem: solubilização biológica de rocha fosfática na produção de fertilizante organomineral. *Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 6, n. 3-4, p. 115-122, 2001.
- CARLILE, M.J.; WATKINSON, S.C. *The fungi*. 1 ed. San Diego: Academic Press-Harcourt Brace & Company, 1994. 482 p.
- CHBERIYAN, S.; ABRAHAM, E.T. Enzymatic bioremediation of cashew nut shell liquid contamination. *Journal of Hazardous Materials*, v. 176, p. 1097-1100, 2010.
- CHEDEVILLE, O.; DEBACQ, M.; PORTE, C. Removal of phenolic compounds present in olive mill wastewaters by ozonation. *Desalination*, v. 249, n. 2, p. 865-869, 2009.
- COLLINS, G. *et al*. Anaerobic biological treatment of phenolic wastewater at 15–18°C. *Water Research*, v. 39, p. 1614-1620, 2005.
- CONAMA. *Resolução N°397, de 03 de abril de 2008*. Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2008.

Conclusões

A adição de concentração elevada de glicose (5 g.L⁻¹) resultou em maiores remoções de nitrogênio amoniacal, com remoção média de 79 contra 34% da Etapa I, o que, provavelmente, estaria relacionado à intensificação de reações de síntese para produção de glutamato.

Além disso, na Etapa II, foram registrados bons percentuais para remoção de nitrito e nitrato na maior parte da operação do reator, com eficiência média de remoção de 90 e 78%, respectivamente, e ocorreu o melhor controle das condições do meio em relação à liberação de nutrientes – amônia, nitrito, nitrato, fósforo total e ortofosfato – no meio, bem como do pH, o qual apresentou valores de meio ácido mais favoráveis ao desenvolvimento dos fungos.

No entanto, nesta etapa, ocorreu diminuição da remoção de fenóis em 11 pp. que pode ter tido seu uso reprimido em função da maior disponibilidade de glicose, substrato de mais fácil biodegradação, sendo necessária a operação do reator em batelada sequencial, com inóculo de *Aspergillus niger* AN400 para se atingir a estabilidade efetiva do sistema.

Agradecimentos

A Deus e à Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processo 273/06 - FUNCAP/ MCT/ CNPq/ CT-INFRA N° 04/20 06).

- EL-GOHARY, F. A. *et al.* Integrated treatment of olive mill wastewater by the combination of fenton's reaction and anaerobic treatment. *Journal of Hazardous Materials*, v. 162, p. 1536-1541, 2009.
- FERRÃO, J.E.M. *O cajueiro*. Lisboa: Instituto de Investigação Científica de Portugal, 1995. 80 p.
- FOSTER, J.W. *Chemical Activities of Fungi*. 1 ed. New York: Academic Press, 1949. 648 p.
- GRIFFIN, D.H. *Fungal physiology*. 2 ed. New York: Wiley-Liss, 1994. 458 p.
- HAI, F.I. *et al.* Removal of structurally different dyes in submerged membrane fungi reactor – biosorption/PAC adsorption and biodegradation. *Journal of Membrane Science*, v. 325, p. 395-403, 2008.
- HUERGO, L.F. *Regulação do metabolismo do nitrogênio em Azospirillum brasilense*. 2006. 155f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- JAMAL, P.; IDRIS, Z. M.; ALAM, M.Z. Effects of physicochemical parameters on the production of phenolic acids from palm oil mill effluent under liquid-state fermentation by *Aspergillus niger* IBS-103ZA. *Food Chemistry*, v. 124, p. 1595-1602, 2011.
- JASTI, N. *et al.* Fungal treatment of corn processing wastewater in an attached growth system. *Water Paractice Technology*, v. 1, n. 3, p. 115-122, 2006.
- JENNINGS, D.H. *The physiology of fungal nutrition*. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. 622 p.
- JERNEJC, K.; LEGISA, M. A drop of intracellular pH stimulates citric acid accumulation by some strains of *Aspergillus niger*. *Journal of Biotechnology*, v. 112, p. 289-297, 2004.
- JIMÉNEZ, A. M.; BORJA, R.; MARTÍN, A. Aerobic-anaerobic biodegradation of beet molasses alcoholic fermentation wastewater. *Process Biochemistry*, v. 38, p. 1275-1284, 2003.
- KHALAF, M. A. Biosorption of reactive dye from textile wastewater by non-viable biomass of *Aspergillus niger* and *Spirogyra* sp. *Bioresource Technology*, n. 99, p. 6631-6634, 2008.
- KHOUI, S.; ALOUI, F.; SAYADI, S. Treatment of olive mill wastewater by combined process eletro-fenton reaction and anaerobic digestion. *Water Research*, v. 40, p. 2007-2006, 2006.
- KIM, T. H. *et al.* Decolorization of dye solutions by membrane bioreactor using white-rot fungi. *Desalination*, v. 168, n. 4, p. 287-293, 2004.
- KORNEBERG, A.; RAO, N.N.; AULT-RICHE, D. Inorganic polyphosphate: a molecule of many functions. *Annu Rev Biochem*, v. 125, p. 68-89, 1999.
- KYRIACOU, A. *et al.* Combined bioremediation and advanced oxidation of green table olive processing wastewater. *Process Biochemistry*, v. 40, p. 1401-1408, 2005.
- LEITE, C. L. *et al.* A particularidade de ser um fungo – I. Constituintes celulares. *Biotemas*, v. 19, n. 2, p. 17-27, 2006.
- LU, Y. *et al.* Biodegradation of phenolic compounds from coking wastewater by immobilized white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Hazardous Materials*, v. 165, p. 1091-1097, 2009.
- LI, X.; ZHAO, G.; YUAN, Y. A strategy of phosphorous feeding for repeated fed – batch fermentation of penicillin G. *Biochemical Engineering Journal*, v. 27, p. 53-58, 2005.
- MARTINEZ-GARCIA, G. *et al.* Anaerobic treatment of olive mill wastewater and piggery effluents fermented with *Candida tropicalis*. *Journal of Hazardous Materials*, v. 164, n. 2-3, p. 1398-1405, 2009.
- MOHOD, A.G.; KHANDETOD, Y.P.; POWAR, A.G. Processed cashew shell waste as fuel supplement for heat generation. *Energy Sustainable Development*, v. 12, n. 4, p. 73-76, 2008.
- MOMENTI, T.J. *Processo anaeróbico conjugado com processos oxidativos avançados no tratamento dos efluentes do processo industrial de branqueamento da polpa celulósica*. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento), Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- NOVOTNÝ, C. *et al.* Potential of combined fungal and bacterial treatment for color removal in textile wastewater. *Bioresource Thecnology*, v. 15, p. 234-238, 2010.
- OKURA, M.H.; RENDE, J.C. *Microbiologia: roteiro de aulas práticas*. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2008.
- PAPAGIANNI, M. Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes. *Biotechnology Advances*, v. 22, p. 189-259, 2004.
- PAPAGIANNI, M.; WAYMAN, F.M.; MATTEY, M. Fate and role of ammonium ions during fermentation of citric acid by *Aspergillus niger*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, n. 11, p. 7178-7186, 2005.
- PARK, J.Y.; HONG, J.W.; GADD, G.M. Phenol degradation by *Fusarium oxysporium* GJ4 is affected by toxic catalytic polymerization mediated by cooper oxide. *Chemosphere*, v. 75, p. 765-771, 2009.
- PASSOS, C.T. *Estudo da biodegradação do fenol por uma nova linhagem de Aspergillus sp.* Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, 2006. 84 p.
- PEREIRA, J. F. *et al.* Nitrato reductase em fungos filamentosos. *Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, v. 31, p. 74-85, 2003.
- POLAT, H. A.; MOLVA, M.B.; POLAT, M. Capacity and mechanism of phenol adsorption on lignite. *International Journal of Mineral Processing*, v. 79, p. 264-273, 2006.
- RAMAKRISHNAN, A.; GUPTA, S. K. Anaerobic biogranulation in a hybrid reactor treating phenolic waste. *Journal of Hazardous Materials*, v. 137, n. 3, p. 1488-1495, 2006.
- RODIER, J. *L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux residuls, eaux de mer*. 5 ed. Paris : Dunod, 1975. 692 p.
- RODRIGUES, K. A. *et al.* Influência da glicose sobre o consumo de fenol por *Aspergillus niger* AN 400 em reatores em batelada. *Revista Engenharia Sanitária*, v. 12, n. 2, p. 222-228, 2007.

- RODRIGUES FILHO, M.G. *Cardanol e eugenol modificados – uso como antioxidantes no controle do processo oxidativo do biodiesel etílico de algodão*. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.
- RYAN, D.; LEUKES, W.; BURTON, S. Improving the bioremediation of phenolic wastewaters by *Trametes versicolor*. *Bioresource Technology*, v. 98, n. 3, 579-587, 2007.
- SANTAELLA, S.T. *Remoção de fenóis de água residuária de indústria de beneficiamento de castanha de caju em reatores biológicos com fungos*. Relatório Técnico. CNPq, Fortaleza, 2007.
- SANTOS, V.L.; LINARDI, V.R. Biodegradation of phenol by a filamentous fungi isolated from industrial effluents – identification and degradation potencial. *Process Biochemistry*, v. 39, n. 1, p. 1001-1006, 2004.
- SANGHI, R.; DIXIT, A.; VERMA, P. (). 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.
- SCULLY, C.; COLLINS, G.; O'FLAHERTY, V. Anaerobic biological treatment of phenol at 9.5–15 °C in an expanded granular sludge bed (EGSB)-based bioreactor. *Water Research*, v. 40, p. 3737-3744, 2006.
- SEMACE. *Portaria nº 154/2002 da disposição e padrões de condições para lançamento de efluentes líquidos gerados por fontes poluidoras*. Secretaria de Meio Ambiente do Estado do Ceará, Superintendência Estadual do Ceará, 2002.
- SEVERINO, R. P. *Busca de produtos naturais como inibidores específicos de enzimas*. Tese (Doutorado em Ciências – Química Inorgânica), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2008.
- SILVA, A.M.T. *et al*. Sonophotocatalytic/H₂O₂ degradation of phenolic compounds in agro-industrial effluents. *Catalysis Today*, v. 124, n. 30, p. 232-239, 2007.
- SILVA, F. J. A. *et al*. *Uso de reator seqüencial em batelada aeróbio para tratamento de efluente da indústria de castanha de caju*. In: 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Anais do 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Campo Grande. CD-ROM. 2005.
- SINGH, H. *Mycorremediation*. New Jersey: John Wiley & Sons, 2006. 592p.
- SOUZA, K. R. *Degradação foto-fenton de carbono orgânico total em efluentes da indústria da castanha de beneficiamento de caju*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2005.
- STOILOVA, I. *et al*. Biodegradation of high amounts of phenol, catechol, 2,4-dichlorophenol and 2,6-dimethoxyphenol by *Aspergillus awamori* cells. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 39, p. 1036-1041, 2006.
- SVOBODOVA, K. *et al*. Mechanism of reactive orange 16 degradation with the white rot fungus *Irpece lacteus*. *Process Biochemistry*, v. 42, n. 9, p. 1279-1284, 2007.
- TREVISAN, M.T.S. *et al*. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. *Food Chemical Toxicological*, v. 44, p. 188-202, 2006.
- VASSILEV, N. *et al*. Olive mill waste water treatment by immobilized cells of *Aspergillus niger* and its enrichment with soluble phosphate. *Process Biochemistry*, v. 32, n. 7, p. 617-620, 1997.
- ZEHNDER, A.J.B. *Biology of anaerobic microorganisms*. New York: John & Sons, 1988. 468 p.
- ZHOU, Z. *et al*. Ammonia fermentation, a novel anoxic metabolism of nitrite by fungi. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 277, n. 3, p. 1892-1896, 2002.
- YAVUZ, Y.; KOPARAL S.A. Electrochemical oxidation of phenol in a parallel plate reactor using ruthenium mixed metal oxide electrode. *Journal of Hazardous Materials*, v. 136, n. 2, p. 296-302, 2006.