

Tratamento de efluente sintético de laticínio em reatores em batelada inoculados com *Aspergillus niger* AN400

Treatment of synthetic dairy wastewater in batch reactors inoculated with *Aspergillus niger* AN400

Luana Viana Costa e Silva

Tecnóloga em Gestão Ambiental. Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal do Ceará (IFCE) – Fortaleza (CE), Brasil.

Marcus Vinícius Andrade

Graduando de Tecnologia em Gestão Ambiental do IFCE e de Farmácia da Universidade Federal do Ceará (UFC) – Fortaleza (CE), Brasil.

Kelly Rodrigues

Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (EESC/USP). Professora do Programa de Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental e Coordenadora do Laboratório de Tecnologia Ambiental do IFCE – Fortaleza (CE), Brasil.

Glória Marinho

Doutora em Hidráulica e Saneamento pela EESC/USP. Professora do Programa de Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental do IFCE – Fortaleza (CE), Brasil.

Resumo

Indústrias de laticínios contêm elevada concentração de matéria orgânica que podem causar poluição. Este trabalho propôs estudar a remoção de matéria orgânica e de nutrientes de um efluente sintético de laticínio, disposto em reatores em bateladas repetidas inoculados com *Aspergillus niger* AN400. O sistema foi composto por reatores com diferentes configurações e, para cada tipo de montagem, variou-se o material-suporte. O estudo foi realizado em quatro ciclos de cinco dias, com retiradas diárias de alíquotas. A análise dos resultados mostrou eficiência de remoção de demanda química de oxigênio com picos de até 71,7%, concluindo-se que a tecnologia mostrou-se viável na remoção de matéria orgânica. Em relação aos nutrientes, o sistema pôde remover satisfatoriamente nitrato; contudo, para remoção de amônia, não se apresentou promissor.

Palavras-chave: *Aspergillus niger*; nutrientes; DQO; batelada repetida.

Abstract

Dairy industries contain high concentration of organic matter that may cause pollution. This study proposed to study the removal of organic matter and nutrients from a synthetic dairy effluent, arranged in repeated batch reactors inoculated with *Aspergillus niger* AN400. The system was composed of reactors with different configurations and, for each type of assembly, the support material was varied. The study was conducted in four cycles of five days, with daily withdrawals of portions. The results showed efficiency of removal of chemical oxygen demand with peaks of up to 71.7%. One might conclude that the technology was feasible in the removal of organic matter. For nutrients, the system could successfully remove nitrate; however, for removal of ammonia, it was not promising.

Keywords: *Aspergillus niger*; nutrients; COD; repeated batch.

Introdução

As águas residuárias industriais de laticínios são despejos líquidos que contêm quantidades variadas de matéria-prima diluída, cuja matéria orgânica é representada por compostos proteicos, gordurosos e carboidratos, materiais sólidos flutuantes (principalmente graxas), produtos químicos ácidos e alcalinos, detergentes, desinfetantes, lubrificantes (BRAILE & CAVALCANTI, 1993) e a eventual presença de organismos patogênicos (CATÃO *et al.* 2000). Águas residuais de laticínios contêm elevado nível de nutrientes e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) quando comparadas com as urbanas, sendo a matéria orgânica considerada o principal agente poluidor desses efluentes (GEARY & MOORE, 1999).

De acordo com Machado *et al.* (2002), uma indústria com produção média de 300.000 L de soro por dia polui o equivalente a uma cidade com 150.000 habitantes. O biotratamento de efluentes surge, portanto, como uma forma de minimizar o potencial de degradação, principalmente das águas residuárias industriais, inclusive as de produtos lácteos, tendo os fungos se mostrado importantes nessa missão por atuarem em processos de degradação de resíduos orgânicos (SAMPAIO *et al.*, 2003).

Segundo Damasceno (2007), os fungos aparecem como potentes agentes no tratamento de substâncias complexas devido à produção de grandes quantidades de enzimas cujas ações tornam os organo-poluentes mais acessíveis à biodegradação, além de sua capacidade de suportar mudanças repentinas na concentração de matéria orgânica, grandes variações de pH e de temperatura e mudanças, ou até mesmo escassez, de umidade e oxigênio. Os fungos produzem enzimas extracelulares que quebram moléculas complexas, como as encontradas em gorduras animais, e as tornam de mais fácil absorção ao seu metabolismo (PINHEIRO *et al.*, 2007). De acordo com Griffin (1994), os fungos são importantes, também, como primeiro agente de decaimento nos ciclos do carbono e de alguns nutrientes como fósforo e nitrogênio. Contudo, Rodrigues (2006) afirma que pouco ainda se sabe a respeito das atividades metabólicas desses micro-organismos quando empregados em processos de tratamento biológico de águas residuárias, o que torna necessário o aprofundamento do estudo dessa nova tecnologia.

No intuito de buscar um desenvolvimento sustentável e preservar os recursos hídricos, novas tecnologias para o tratamento das águas residuárias industriais vêm sendo estudadas e o objetivo deste trabalho foi estudar a capacidade do fungo *Aspergillus niger* AN400 em remover matéria orgânica e nutrientes em reatores em batelada no tratamento de água residuária sintética de laticínio.

Metodologia

Preparo do meio suporte

Para a função de material-suporte, foram utilizados dois materiais sintéticos: cubos de espuma de poliuretano e PET triturada.

Os cubos de espuma de poliuretano de medida 2,0 cm de aresta foram lavados em água corrente e autoclavados para esterilização, sendo colocados em estufa para sua secagem completa. Apresentaram peso médio de 3,12 g, o qual equivalia a 30 cubos.

Os pedaços de PET triturados foram de aproximadamente 2,0 cm², obtidos a partir de equipamento industrial apropriado de uma fábrica de tubulação de esgoto, feitos de garrafas PET recicladas, sendo 49,23 g o peso equivalente a uma média de 100 pedaços de PET triturados. Em seguida, foram descontaminados com ácido clorídrico PA., lavados e secos.

Ambos os materiais-suporte, depois de pesados, foram acomodados, separadamente, em redes de polietileno e, logo após, colocados no interior dos reatores específicos.

Água residuária sintética de laticínio

A água residuária, fonte de macro e micronutrientes, simulou efluente de indústria de laticínio. Sua composição foi adaptada de Healy *et al.* (2007): leite em pó integral (28.800 mg); (NH₂)₂CO (54.000 mg); NH₄Cl (11.666 mg); NaH₂PO₄ · H₂O (18.000 mg); K₂CO₃ (12.000 mg); NaHCO₃ (31.200 mg); MgSO₄ · 7H₂O (12.000 mg); FeSO₄ · 7H₂O (0,480 mg); MnSO₄ · H₂O (0,480 mg); CaCl₂ · 2H₂O (0,720 mg). As substâncias químicas foram dissolvidas em 20 L da água de torneira possuindo concentração de 3 g.L⁻¹ de demanda química de oxigênio (DQO).

Cálculo do volume de esporos inoculados

A partir da concentração resultante da suspensão-mãe de esporos (4,33x10¹⁰), foi calculado o volume de esporos fúngicos a ser inoculado nos reatores, ou seja, uma concentração de 2x10⁶ esporos x mL⁻¹. O cálculo desse volume foi efetuado de acordo com a Equação 1.

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

Inoculação da espécie *Aspergillus niger* AN400

Após a disposição nos reatores da água residuária e do material-suporte, inoculou-se com pipeta automática, próximo ao bico de Bunsen, a fim de evitar contaminação pelo meio, um volume aproximado de 460 µL da suspensão de esporos de *Aspergillus niger* AN400. A espécie inoculada *Aspergillus niger* AN400 foi cedida originalmente pelo Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM) do Instituto Federal do Ceará (IFCE), na forma de suspensão de esporos (2x10⁶ esporos x mL⁻¹).

Montagem dos reatores

Os reatores utilizados são recipientes de vidro com volume útil de 1.500 mL, para o primeiro ciclo, e 3.000 mL para os demais, sendo

o volume reacional de 1.000 e 1.500 mL, respectivamente. Em todos os ciclos, utilizaram-se 12 reatores, operados em regime de bateladas sequenciais, vedados por meio de tampa plástica específica, na qual foi feito um pequeno orifício para a entrada de ar. Antes de montar os reatores, os mesmos foram descontaminados com ácido clorídrico P.A., lavados com água corrente e secos.

Todos os reatores continham a água residuária de laticínio de igual composição, além de serem aerados continuamente por minicompressores de ar. O oxigênio foi difundido para o meio líquido através de pedras porosas.

Em oito deles, foi injetado inóculo fúngico, sendo quatro possuindo como material-suporte PET triturada, acondicionada em rede de polietileno, e o restante, com a espuma de poliuretano, acondicionada também em rede de polietileno. Adicionou-se, ainda, sacarose como cossustrato na concentração de 0,1 g.L⁻¹, em dois dos quatro inoculados, de cada grupo de reatores, a fim de verificar a influência dessa fonte exógena primária de carbono na remoção de matéria orgânica. Não se acidificou o meio, já que a água residuária apresentava pH adequado.

O ensaio foi composto de quatro ciclos de cinco dias, cada. Durante cada ciclo, amostras eram coletadas nos tempos de reação de 24, 48, 72 e 96 h. Na Tabela 1, está apresentada a descrição dos reatores.

Os reatores foram montados em duplicata, a fim de se conseguir maior precisão nos resultados. Portanto, para cada tipo de reator, acrescentou-se o numeral 1 ou 2 depois da sigla correspondente. Todos os reatores foram recobertos com sacos pretos para evitar a fotodegradação.

Variáveis analisadas

As alíquotas de água residuária foram retiradas, de maneira a monitorar o sistema, a cada 24 h, ou seja, no 1º, 2º, 3º e 4º dias, sendo que no término de cada ciclo, era trocada a água residuária por outra de mesma composição. As variáveis estudadas foram: DQO, amônia e nitrato, executadas de acordo com APHA, AWWA, WEF (2005). O pH do meio também foi monitorado para verificar sua influência durante o tratamento da água residuária.

Modelagem da cinética de degradação

O estudo da cinética de degradação dos reatores foi realizado por meio da modelagem linear de primeira ordem (Equação 2).

$$\ln(DQOf/DQOi) = -kxt \quad (2)$$

onde:

DQOf: DQO final (mg.L⁻¹);

DQOi: DQO inicial (mg.L⁻¹);

k: constante de velocidade (d⁻¹);

t: tempo (d).

Tabela 1 – Descrição dos reatores.

Reator	Descrição
RCe	Reator Controle com espuma como material suporte.
RCp	Reator Controle com pet triturada como material suporte.
RFe	Reator com Fungos com espuma como material suporte.
RFp	Reator com Fungos com pet triturada como material suporte.
RFS _e	Reator com Fungos e adição de Sacarose com espuma como material suporte.
RFS _p	Reator com Fungos e adição de Sacarose com pet triturada como material suporte.

RCe: Reator Controle com espuma como material suporte; RCp: Reator Controle com PET triturada como material suporte; RFe: Reator com Fungos com espuma como material suporte; RFp: Reator com Fungos com PET triturada como material suporte; RFS_e: Reator com Fungos e adição de sacarose com espuma como material suporte; RFS_p: Reator com Fungos e adição de Sacarose com PET triturada como material suporte.

Resultados e Discussão

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

Verificou-se que, nesse ciclo, no comportamento dos reatores, de ambas as configurações, com espuma e com PET, ocorreu diminuição na concentração de DQO logo no tempo de reação (TR) de 24 h, a exceção do reator Reator Fungo sacarose com espuma (RFS_e).

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

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

Na Tabela 2, estão mostrados os valores encontrados no estudo da cinética de degradação do 1º ciclo.

Na Figura 2, estão mostradas as variações das concentrações de DQO no 2º ciclo dos reatores com espuma e com PET triturada.

Novamente, os reatores com fungo e sacarose (RFS) apresentaram concentrações finais maiores de DQO bruta do que os reatores inoculados com fungo (RF), para os reatores tanto com espuma como com PET.

Nesse ciclo, os reatores com PET apresentaram concentrações maiores de DQO ao final do ciclo do que aqueles com espuma. Esse aumento pode estar associado à perda de parte dos micro-organismos inoculados no 1º ciclo do experimento, por ocasião da troca da água residuária para a operação do segundo ciclo, devido à facilidade com que esse material-suporte se soltava da rede de polietileno que o acomodava. A suposta

Tabela 2 – Valores de remoção de demanda química de oxigênio e da constante cinética de primeira ordem na degradação de efluente de laticínio (1º ciclo) por *Aspergillus niger* AN400 a 27°C e tempo de reação de 96 h.

	Espuma poliuretânica			PET		
	% Remoção	$K \times 10^{-2} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	R^2	% Remoção	$K \times 10^{-2} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	R^2
RC	35,3	0,47	0,95	37,1	0,53	0,94
RF	47,8	0,67	1,00	64,8	1,22	0,91
RFS	24,0	0,32	0,94	66,4	1,20	0,90

RC: reator controle; RF: reator com fungo; RFS: reator com fungo AN400 e sacarose (0,1 g.L⁻¹) como cossubstrato; K: constante de velocidade; R²: coeficiente de correlação.

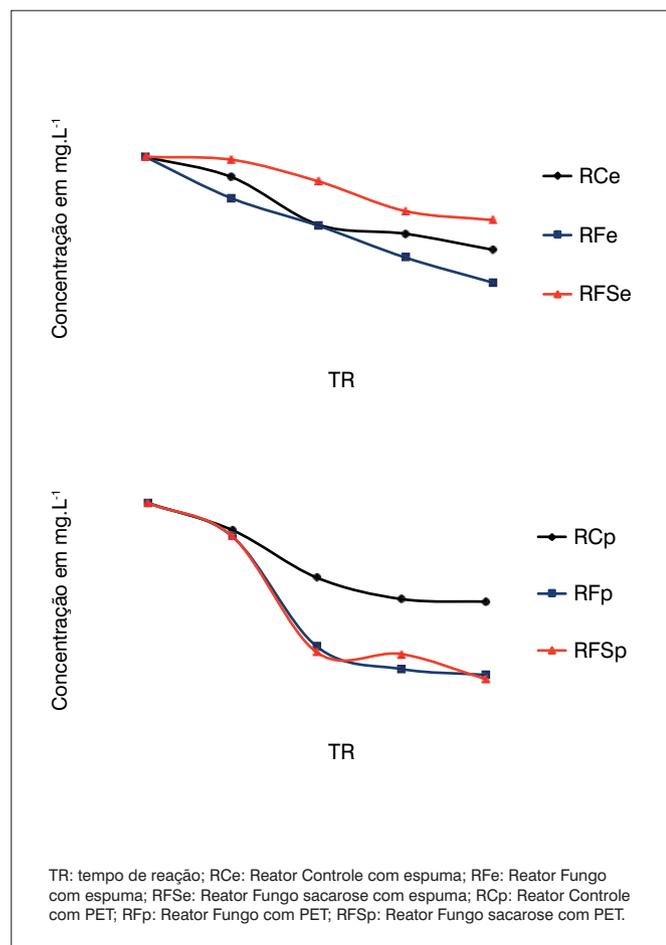


Figura 1 – Variação da concentração de demanda química de oxigênio no 1º ciclo dos reatores em bateladas sequenciais.

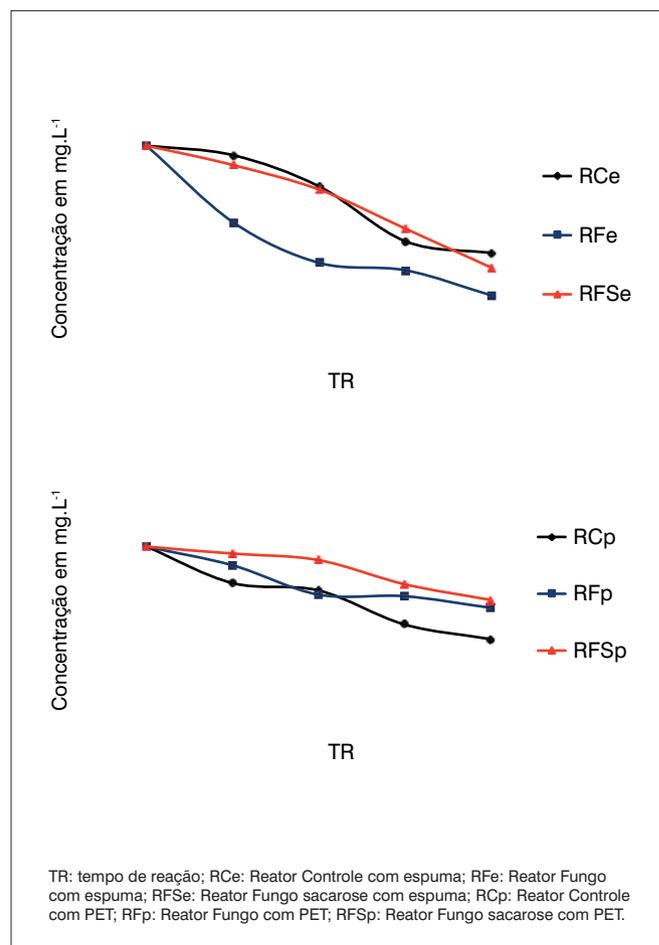


Figura 2 – Variação da concentração de demanda química de oxigênio no 2º ciclo dos reatores em bateladas sequenciais.

perda parcial dos micro-organismos deve ter ocasionado essa menor eficiência de remoção de DQO para esse grupo de reatores.

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

Na Tabela 3, está mostrado o estudo da cinética de degradação do 2º ciclo.

Ao observar a Tabela 3, constatou-se que a taxa de remoção variou proporcionalmente à velocidade de degradação dos reatores. No Reator Fungo com PET (RFp) e no Reator Fungo sacarose

com PET (RFSp), em comparação com o comportamento destes no 1º ciclo, as constantes cinéticas reduziram, em média, quatro vezes, ao passo que as porcentagens de remoção, apenas três vezes, o que refletiu a melhor eficiência do sistema. Verificou-se uma maior facilidade de degradação pelos micro-organismos nos reatores com PET do 2º ciclo que, mesmo apresentando taxas de remoção inferiores àquelas do ciclo passado, conseguiram-nas com velocidades proporcionalmente menores.

Na Figura 3, estão apresentadas as variações das concentrações de DQO no 3º ciclo dos reatores com espuma e daqueles com PET.

Os RFS, em consonância com os resultados apresentados nos ciclos 1 e 2, revelaram-se também menos eficientes quanto à remoção de DQO com relação aos RF. De acordo com Ikeda *et al.* (2006),

Tabela 3 – Valores de remoção de demanda química de oxigênio e da constante cinética de primeira ordem na degradação de efluente de laticínio (2º ciclo) por *Aspergillus niger* AN400 a 27°C e tempo de reação de 96 h.

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

RC: reator controle; RF: reator com fungo; RFS: reator com fungo AN400 e sacarose (0,1 g.L⁻¹) como cossustrato; K: constante de velocidade; R²: coeficiente de correlação.

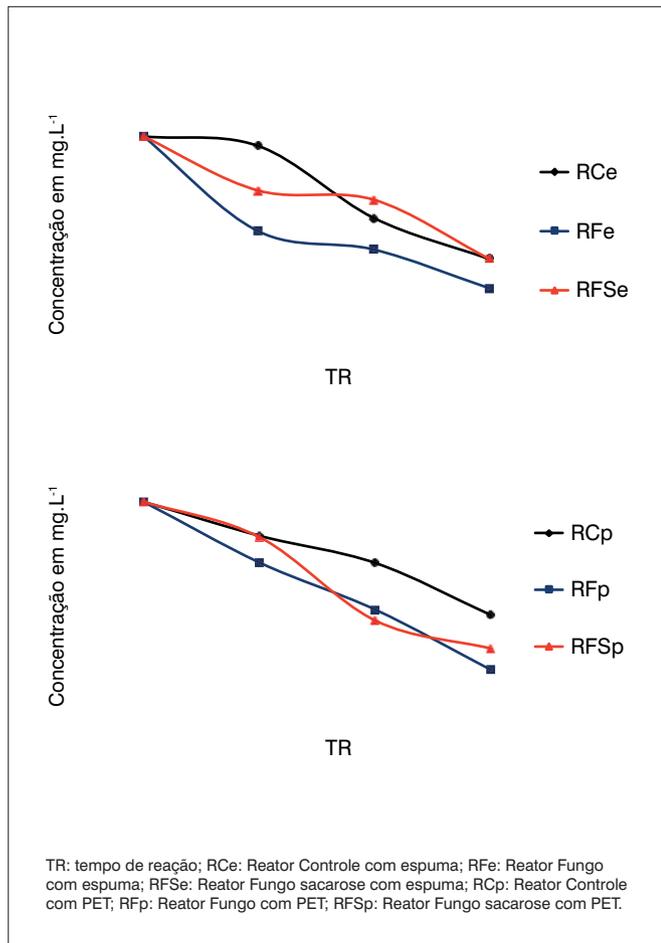


Figura 3 – Variação da concentração de demanda química de oxigênio no 3º ciclo dos reatores em bateladas sequenciais.

a fonte de carbono, ao ser utilizada pelo *Aspergillus niger* na síntese de biomassa, produz metabólitos que podem ser acumulados no interior das células ou excretados. Nesse caso, devido ao excesso da sacarose, pode ter ocorrido a soma desses metabólitos aos valores de DQO encontrados nos reatores com acréscimo deste cossustrato, mascarando assim sua eficiência. Ou uma possível inibição por excesso de substrato (SAMPAIO, 2005).

Novamente, os reatores que mostraram maiores eficiências na remoção de DQO foram os Reator Fungo com espuma (RFe) e RFp.

Na Tabela 4, está mostrado o estudo da cinética de degradação do 3º ciclo.

De acordo com a Tabela 4, verificou-se que o RFe e o RFp apresentaram as maiores remoções de DQO, bem como as maiores velocidades

de degradação. Percebeu-se que uma maior adaptação da biomassa para estes reatores, em decorrência do passar dos ciclos, promoveu uma maior eficiência de remoção, demonstrando assim a otimização do sistema por aumento do tempo de retenção celular.

Na Figura 4, estão mostradas as variações das concentrações de DQO no 4º ciclo dos reatores com espuma e daqueles com PET.

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

O reator com presença da sacarose, em geral, apresentou valores acima daqueles encontrados nos demais, o que pressupõe que aconteceu o mesmo ocorrido na maioria dos TRs dos ciclos passados: a sacarose mascarou a eficácia dos RFS ao passo que a mesma deve ter juntado-se à matéria orgânica presente na água residuária e proporcionado resultados maiores de concentração de DQO ou até mesmo inibido os micro-organismos. Leitão *et al.* (2006) trabalharam com a degradação de fenol com uma cepa de *Penicillium chrysogenum* halotolerante, enriquecida com glicose na concentração de 3%, e observaram inibição do consumo de fenol presente em meio sintético.

Cereti *et al.* (2004), assim como neste trabalho, também utilizaram *Aspergillus niger* como inóculo, porém em um reator “arlift” para tratamento de água residuária de fábrica de azeite de oliva, com matéria orgânica na concentração de 36.000 mg.DQO.L⁻¹. A operação ocorreu no regime de batelada repetida, sendo que, a cada 48 h, parte do líquido era removido (90%) e o reator realimentado, perfazendo um total de 5 ciclos. A capacidade dos fungos em remover os poluentes do meio aumentou com o tempo e a maior remoção de matéria orgânica (64%), medida em DQO, ocorreu no quarto ciclo, também.

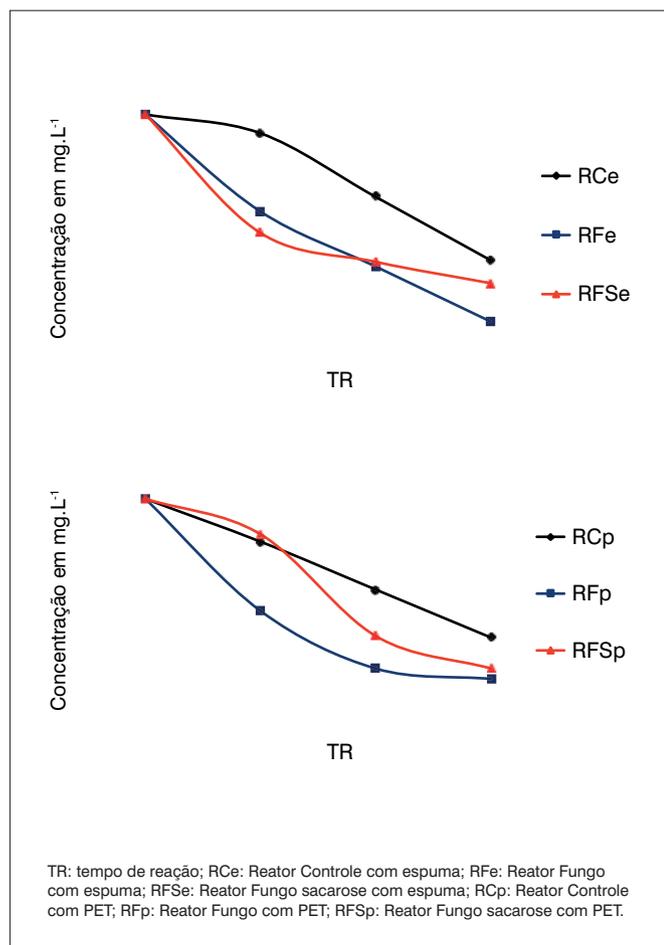
Verificaram-se, pela Figura 4, picos nas concentrações do RFSp. Como as análises de DQO foram das amostras brutas, ou seja, sem centrifugação ou filtração, a massa de fungos despreendida ocasional e parcialmente provavelmente aumentou a concentração dessa variável somando-se aos resultados finais, nesta pesquisa. Portanto, em geral, esses reatores apresentaram concentrações mais elevadas contendo inclusive picos ocasionais de DQO.

Segundo Melo *et al.* (2009), por ser composta por dois diferentes monossacarídeos, a sacarose supostamente deveria conferir maior energia ao micro-organismo e, conseqüentemente, uma melhor eficiência de remoção sobre os demais cossustratos. Contudo, de acordo com Melo *et al.* (2009) e Jennings (1995), o excesso de substrato causa

Tabela 4 – Valores de remoção de demanda química de oxigênio e da constante cinética de primeira ordem na degradação de efluente de laticínio (3º ciclo) por *Aspergillus niger* AN400 a 27°C e tempo de reação de 72 h.

	Espuma poliuretânica			PET		
	% Remoção	Kx10 ⁻² (h ⁻¹)	R ²	% Remoção	Kx10 ⁻² (h ⁻¹)	R ²
RC	43,8	0,85	0,93	41,6	0,72	0,96
RF	54,3	1,02	0,95	61,7	1,30	0,98
RFS	43,7	0,73	0,92	53,8	1,15	0,96

RC: Reator Controle; RF: Reator com Fungo; RFS: Reator com Fungo AN400 e sacarose (0,1 g.L⁻¹) como cossustrato; K: constante de velocidade; R²: coeficiente de correlação.

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

inibição, o que sugeriu que as remoções inferiores alcançadas nos RFS, em praticamente todos os ciclos, possam ser assim justificadas.

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

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

A Tabela 5 mostra o estudo da cinética de degradação do 4º ciclo.

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

Segundo Melo *et al.* (2009), por ser composta por dois diferentes monossacarídeos, a sacarose supostamente deveria conferir maior energia ao micro-organismo e, consequentemente, uma melhor eficiência de remoção sobre os demais cossustratos. Contudo, de acordo com Melo *et al.* (2009) e Jennings (1995), o excesso de substrato causa inibição, o que sugere que as remoções inferiores alcançadas nos RFSe₁ (ciclo 1), RFSe₂ (ciclo 2) e RFSp₁ (ciclo 1) possam ser assim justificadas.

Santaella *et al.* (2005) propôs que a glicose deva ser adicionada somente no início do experimento, visando acelerar o crescimento inicial dos fungos, diferentemente do ocorrido neste experimento.

Leitão *et al.* (2006) trabalharam com culturas de *Penicillium chrysogenum*, enriquecidas com glicose em concentração de 3%, e observaram inibição do consumo de fenol presente em meio sintético.

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

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

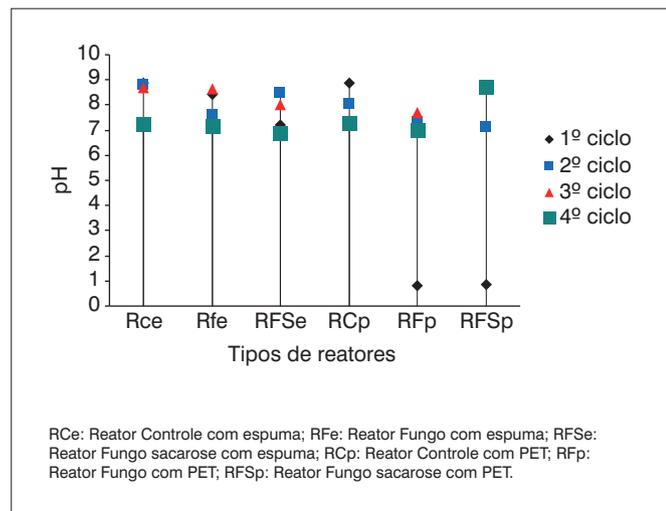
Em adição, de acordo com Ikeda *et al.* (2006), a fonte de carbono, ao ser utilizada pelo *Aspergillus niger* na síntese de biomassa, produz metabólitos que podem ser acumulados no interior das células ou excretados. Nesse caso, devido ao excesso da sacarose, também pode ter ocorrido a soma desses metabólitos internos dos fungos aos valores de DQO encontrados nos reatores com acréscimo deste cossustrato, mascarando, assim, sua eficiência.

Na Figura 5, têm-se as médias dos valores de pH dos quatro ciclos estudados, de acordo com cada tipo de reator.

Tabela 5 – Valores de remoção de demanda química de oxigênio e da constante cinética de primeira ordem na degradação de efluente de laticínio (4^o ciclo) por *Aspergillus niger* AN400 a 27°C e tempo de reação de 72 h.

	Espuma poliuretânica			PET		
	% Remoção	Kx10 ⁻² (h ⁻¹)	R ²	% Remoção	Kx10 ⁻² (h ⁻¹)	R ²
RC	50,5	0,99	0,92	49,9	0,96	0,98
RF	71,7	1,72	0,99	64,8	1,48	0,93
RFS	58,5	1,18	0,91	61,1	1,41	0,95

RC: Reator Controle; RF: Reator com Fungo; RFS: Reator com Fungo AN400 e sacarose (0,1 g/L) como cossubstrato; K: constante de velocidade; R²: coeficiente de correlação.

**Figura 5** – Médias dos valores de pH nos quatro ciclos dos reatores em batelada.

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

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

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

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

As concentrações de amônia e nitrato, respectivamente, nos ciclos dos reatores com espuma, estão apresentadas nas Tabelas 6 e 7.

Percebeu-se, pelas Tabelas 6 e 7, que, em alguns momentos, principalmente no 1^o e 2^o ciclos, há remoção de amônia e nitrato simultânea, embora tenha sido evidente a melhor remoção de nitrato em todos os ciclos. Segundo Ainsworth e Sussman (1966), a espécie *Aspergillus niger* é capaz de assimilar essas duas variáveis simultaneamente; portanto, é o que deve ter ocorrido nos reatores em questão.

Observou-se pela Tabela 7 que os valores das concentrações de nitrato tenderam a diminuir, em todos os ciclos. Os períodos de menores remoções de nitrato, segundo Griffin (1994), podem estar associados à presença de íons amônio, visto que, quando há no meio tanto o íon amônio (NH₄⁺) como o nitrato (NO₃⁻), não só ocorrerá o consumo preferencial pelos fungos de NH₄⁺, mas também a redução de NO₃⁻ tende a ser reprimida.

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

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

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

As concentrações de amônia e nitrato, respectivamente, nos ciclos dos reatores com PET, estão apresentadas nas Tabelas 8 e 9.

Tabela 6 – Concentrações de amônia nos ciclos dos reatores com espuma.

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

*Valores insignificantes.

TR: tempo de reação; RCe: Reator Controle com espuma como material suporte; RFe: Reator com Fungos com espuma como material suporte; RFS: Reator com Fungos e adição de sacarose com espuma como material suporte.

Tabela 7 – Concentrações de nitrato nos ciclos dos reatores com espuma.

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

*Valores insignificantes.

TR: tempo de reação; RCe: Reator Controle com espuma como material suporte; RFe: Reator com Fungos com espuma como material suporte; RFS: Reator com Fungos e adição de sacarose com espuma como material suporte.

Notou-se que, neste experimento, os micro-organismos iniciaram a degradação do meio pela remoção da amônia, preferencialmente ao nitrato. A assimilação de amônia e nitrato pelos fungos, segundo Sangtjan e Schmidt (2002), ocorre em velocidades distintas, como no caso de espécies como *Aspergillus niger* que, de acordo com Ainsworth e Sussman (1966), possui a capacidade de consumir o nitrogênio amoniacal com maior velocidade do que o nitrato.

As concentrações de amônia dos reatores com PET, no TR de 96 h do 1º ciclo, foram as mais baixas de todo o experimento em batelada, embora as de nitrato fossem baixas também. Griffin (1994) explica que, na conversão do nitrato a nitrito, e deste ao íon amônio (NH_4^+), este último é incorporado às moléculas orgânicas dos fungos, sendo metabolizado intracelularmente somente em pH celular entre 4 e 6, não ocorrendo seu uso em pH inferior a 4. Isso se deve ao fato de a membrana celular fúngica ser permeável apenas para a forma reduzida (NH_3), em pH alcalino, e não para o íon amônio (NH_4^+) (GRIFFIN, 1994; ESPOSITO & AZEVEDO, 2004). Como nesse ciclo os valores do pH se encontravam bastante ácidos, a amônia possivelmente acumulada no interior dos fungos não foi liberada.

Nos TR de 72 e 96 h do 2º ciclo, houve o acúmulo de amônia, enquanto os valores de nitrato permaneceram baixos, assumindo perfis de remoção inversamente proporcionais. No momento em

que o nitrato foi retirado do meio, no 1º ciclo, ele deve ter sido transformado internamente em amônia, diminuindo, assim, a necessidade de consumir a amônia presente na água residuária nos demais ciclos, o que pode justificar o comportamento apresentado pelo reator, quando apresentou tendências de remoções opostas para as duas variáveis.

No 3º ciclo, nos RF e RFS, as concentrações de nitrato, a partir do TR de 48 h, aumentaram, atingindo valores de até 5,89 mg.L^{-1} . De acordo com Griffin (1994), os fungos reduzem nitrato a amônia na fase catabólica do seu metabolismo por meio da atividade das enzimas nitrato redutase e nitrito redutase. A nitrato redutase é induzida pela presença de nitrato no meio, mas reprimida pela presença de amônia, mesmo na presença de nitrato. Esse fenômeno pode ter ocorrido nos reatores em questão, visto que, nesse momento, havia acúmulo de amônia, o que deve ter inibido a degradação do NO_3^- .

No último ciclo, as concentrações de amônia e nitrato variaram bastante em um curto intervalo de tempo. Segundo Li e Kane (2009), as oscilações de nitrato e amônia podem ser justificadas pelo armazenamento do excesso de nitrogênio nos vacúolos dos fungos, que, diante da necessidade em manter o equilíbrio do pH no interior das células, liberam para o meio amônia e H^+ , o que levou-nos a

Tabela 8 – Concentrações de amônia nos ciclos dos reatores com PET.

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

*Valores insignificantes.

TR: tempo de reação; RCp: Reator Controle com PET triturada como material suporte; RFp: Reator com Fungos com PET triturada como material suporte; RFSp: Reator com Fungos e adição de sacarose com PET triturada como material suporte.

Tabela 9 – Concentrações de nitrato nos ciclos dos reatores com PET.

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

*Valores insignificantes.

TR: tempo de reação; RCp: Reator Controle com PET triturada como material suporte; RFp: Reator com Fungos com PET triturada como material suporte; RFSp: Reator com Fungos e adição de sacarose com PET triturada como material suporte.

relacionar as concentrações de amônia com a tendência de diminuição do pH no 4º ciclo. Sá (1997), utilizando as espécies fúngicas *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* e *Drechlera sp* para tratar água residuária de indústria de laticínios, observou variações em relação à remoção de amônia em seu experimento, com o aumento da concentração desta no efluente. As maiores remoções específicas na sua pesquisa foram: 21 h (90,0%), 11 h (70,0%), 5 h (68,0%) e 2 h (75,0%). Segundo a autora, as oscilações dos valores desse nutriente podem ter sido geradas por mudanças fisiológicas dos fungos ou ainda pelo estabelecimento de novas populações microbianas, o que poderia justificar igualmente o acontecido neste experimento, dada a presença de outros micro-organismos, detectados no final do tratamento pelo teste microbiológico.

Segundo Li e Kane (2009), na liberação de compostos nitrogenados armazenados no interior dos fungos na forma de aminoácidos para o meio, estes são transformados diretamente a NH_4^+ , o que pode justificar os acúmulos de amônia, principalmente no 3º e 4º ciclos, onde a concentração de amônia chegou a 88,64 mg.L⁻¹.

De acordo com Cochrane (*apud* Sá, 1997), durante o período de crescimento das espécies fúngicas, ocorre retorno de amônia

das células para o exterior, indicando a permeabilidade das células dos fungos a este composto, o que pode justificar a maior concentração dessa variável nos ciclos finais desta pesquisa. Enzimas, aminoácidos e outros compostos solúveis de nitrogênio também são liberados, sugerindo, desta forma, a dificuldade existente em se definirem etapas metabólicas no ecossistema criado em um reator, onde populações diferentes se sucedem e partes de micélios antigos são reabsorvidas ou eliminadas.

Conclusão

O fungo *Aspergillus niger* AN400 foi eficiente na remoção de matéria orgânica, independentemente da presença ou não do substrato primário, a sacarose, alcançando o percentual de remoção máximo de 71,7% para DQO, o que endossa a viabilidade do tratamento na remoção dessa variável. Constatou-se ainda que o sistema pôde remover satisfatoriamente nitrato, obtendo remoção máxima de 100%. Contudo, o efluente ainda se apresentou rico em amônia, o que poderia depreciar a qualidade de um corpo receptor, caso nele acontecesse o seu despejo.

Referências

- AINSWORTH, G.C. & SUSSMAN, A.S. (1966) *The fungi: an advanced treatise*. v. 1. London: Academic Press. 426 p.
- APHA; AWWA; WEF – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENT FEDERATION (2005) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st ed. Washington DC: APHA, AWWA, WEF.
- BRAILE, P.M. & CAVALCANTI, J.E.W.A. (1993) *Manual de tratamento de águas residuárias industriais*. São Paulo: CETESB.
- CATÃO, R.M.C.; CEBALLOS, B.S.O.; KONIG, A.; FEIJÓ, V.S.G. Bactérias do gênero *Listeria* em águas residuárias do processamento do leite. In: *Simpósio Luso-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 9 Anais...* Porto Seguro: ABES, 2000.
- CERETI, C.F.; ROSSINI, F.; FEDERICI, F.; QUARANTINO, D.; VASSILEV, N.; FENICE, M. (2004) Reuse of microbially treated olive Mill wastewater as fertiliser for wheat (*Triticum durum* Desf.). *Bioresource Technology*, v. 91, n. 2, p. 135-140.
- DAMASCENO, E.P. (2007) *Emprego de reator de leito fixo e fluxo contínuo inoculado com Aspergillus niger. AN 400 na remoção de nutrientes e matéria orgânica de água residuária de indústria petroquímica*. 56p. Monografia (Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Fortaleza.
- ESPOSITO, E. & AZEVEDO, J.L. (2004) *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*. Caxias do Sul: EDUCS. 510 p.
- GEARY, J.A. & MOORE, P.M. (1999) Suitability of a treatment wetland for dairy wastewaters. *Water Science and Technology*, v. 40, n. 3, p. 179-185.
- GRIFFIN, D.H. (1994) *Fungal physiology*. New York: Wiley-Liss.
- HEALY, M.G.; RODGERS, M.; MULQUEEN, J. (2007) Performance of a stratified sand filter in removal of chemical oxygen demand, total suspended solids and ammonia nitrogen from high-strength wastewaters. *Journal of Environmental Management*, v. 83, n. 4, p. 409-415.
- HOSETTI, B.B.; PATIL, H.S.; RODGI, S.S.; GADDAD, S.M. (1985) Effect of detention period on the biochemical activities of sewage stabilization ponds: a laboratory study. *Journal of Environmental Biology*, v. 6, n. 1, p. 1-6.
- IKEDA, Y.; PARK, E.Y.; OKUDA, N. (2006) Bioconversion of waste office paper to gluconic acid in a turbine blade reactor by the filamentous fungus *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, v. 97, n. 8, p. 1030-1035.
- JENNINGS, D.H. (1995) *The physiology of fungal nutrition*. Cambridge: Cambridge University Press. 595 p.
- LEITÃO, A.L.; DUARTE, M.P.; OLIVEIRA, J.S. (2006) Degradation of phenol by a halotolerant strain of *Penicillium chrysogenum*. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 29, p. 340-345.
- LI, S.C. & KANE, P.M. (2009) The yeast lysosome-like vacuole: endpoint and crossroads. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1793, n. 4, p. 650-663.
- MACHADO, R.M.G.; FREIRE, V.H.; SILVA, P.C.; FIGUERÉDO, D.V.; FERREIRA, P.E. (2002) *Controle ambiental nas pequenas e médias indústrias de laticínios*. Projeto Minas Ambiente. Belo Horizonte. 224 p.
- MELO, I.; ARAÚJO, K.; MOREIRA, A.; MIRANDA, M.; SAMPAIO, G.; RODRIGUES, K. (2009) Remoção de nitrogênio e fósforo por *Aspergillus niger* AN400 em reator em batelada sequencial no tratamento de água residuária sintética têxtil. In: *Encontro Nacional de Iniciação Científica dos Institutos Tecnológicos, 9 Anais...* Fortaleza: IFCE.
- PINHEIRO, Z.B.; DAMASCENO, E.P.; SILVA, G.M.M.; RODRIGUES, K.; SAMPAIO, G.M.M.S. (2007) Degradação de Fenol por *Aspergillus niger*. AN400 em reatores em batelada. In: *Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, 2 Anais...* João Pessoa: CEFET-PB.
- RODRIGUES, K.A. (2006) *Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética*. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- SÁ, I.M.B. (1997) *Biotratamento de efluente de uma indústria de laticínios por ação de fungos decompositores*. Dissertação (Mestrado em Engenharia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 83 p.
- SAMPAIO, G.M.M.S. (2005) *Remoção de metil paration e atrazina em reatores com fungos*. Tese (Doutorado em Engenharia Civil). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 115 p.
- SAMPAIO, G.M.M.S.; FACÓ, A.M.; SANTOS, E.M.A.; SANTAELLA, S.T.; LEITÃO, R.C. (2003) Pós-Tratamento de Efluente de um Reator UASB através de um Reator Biológico com Fungos. In: *Encontro de Pesquisa e Pós-Graduação/Encontro de Iniciação Científica e Tecnológica do CEFET-CE, 3 Anais...* Fortaleza: CEFET-CE. vol. único. p. 40.
- SANGTIEAN, T. & SCHMIDT, S. (2002) Growth of subtropical EMC fungi with different nitrogen sources using a new flotation culture technique. *Mycological Research*, v. 106, n. 1, p. 75-85.
- SANTAELLA, S.T. (1999) Estudos de tecnologias apropriadas para tratamento de efluentes da indústria de castanha de caju. Fortaleza: UFC, Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental. (Relatório Institucional de Pesquisa), 31p.
- SANTAELLA, S.T.; SOUSA, O.L.; LOPES, A.C.; OLIVEIRA, E.C. (2005) Remoção de fenol em reatores biológicos com fungos (RBF) utilizando meio suporte e água residuária sintética. In: *Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 23 Anais...* Campo Grande: ABES, p. 1-5, CD-ROM.
- TRABULSI, L.R. & ALTERTHUM, F. (2008) *Microbiologia*. 5. ed. São Paulo: Atheneu.
- WANDERLEY, C.R.P. (2007) *Aspergillus niger como inóculo de reatores em batelada para remoção do corante vermelho do congo em meio aquoso sintético*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 71 p.