

INFLUÊNCIA DA GLICOSE E DA CONCENTRAÇÃO DO INÓCULO FÚNGICO NO TRATAMENTO DE EFLUENTE DA CASTANHA DE CAJU

Kelly Rodrigues¹

Professora Dra., Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)
kelly@ifce.edu.br

Carla Bastos Vidal

Universidade Federal do Ceará - UFC
Mestranda em Saneamento Ambiental
carlab_vidal@hotmail.com

Marcus Vinícius Freire Andrade

Graduando em Gestão em Tecnologia Ambiental, Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)
marcusvinicius@gmail.com

Carlos Ronald Pessoa-Wanderley

Professor Me., Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)
ronald@ifce.edu.br

Ioanda Cristina Silveira Duarte

Professora Dra., Universidade Federal de São Carlos – Campus Sorocaba
Ioanda.duarte@gmail.com

Glória Marinho

Professor Dra., Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)
gloriamarinho@ifce.edu.br

RESUMO

Neste trabalho foi estudado o efeito da adição de glicose e da “concentração do inóculo” no tratamento de água residuária da indústria de castanha de caju por *Aspergillus niger* AN 400. Em uma primeira etapa, a água residuária foi adicionada em 18 reatores, operados em batelada: 6 reatores de controle (RC) – sem inóculo, mas com microbiota natural – ; 6RFI – contendo inóculo fúngico (2×10^6 esporos/mL) e água residuária sem adição de glicose – e 6 reatores RFIG – contendo inóculo fúngico (2×10^6 esporos/mL) e água residuária com adição de glicose (0,5 g/L) . Um novo ensaio foi realizado para comparar 6 reatores de controle (RC) – sem inóculo, mas com microbiota natural – ; 6 reatores RFIG – com inóculo fúngico (2×10^6 esporos/mL) e água residuária com adição de glicose (0,5 g/L) – e 6 RFIIG – contendo inóculo fúngico (2×10^4 esporos/mL) e água residuária com adição de glicose (0,5 g/L). A adição de glicose não

melhorou a eficiência do processo. Independente da presença ou ausência de glicose, os reatores com inóculo fúngico obtiveram remoções de quase 100% dos fenóis. O pH do meio quase não variou e manteve-se baixo, condição que favorece o desenvolvimento dos fungos. Nos reatores com menor concentração de inóculo (2×10^4 esporos/mL) a eficiência de remoção de matéria orgânica foi de 91%, superior ao nível de 79% encontrado nos reatores inoculados com maior concentração de microrganismos (2×10^6 esporos/mL), indicando ser esta a “concentração ótima” a ser utilizada nos reatores. Nestes reatores foram ainda alcançadas, para ambas as concentrações inoculadas (RFIG e RFIIG), remoções similares de fenóis (93%).

Palavras-chave: *Aspergillus niger*. Glicose. Concentração do inóculo.

ABSTRACT

*The effect of adding glucose and the “inoculum concentration” in the wastewater treatment from cashew nut processing industry through *Aspergillus niger* AN 400 was studied in this research. In the first stage, the wastewater was added to 18 reactors, operated in batch: 6 control reactors (RC) without inoculum of fungi but containing natural microorganisms ; 6 reactors (RFI) containing inoculum of fungi (2×10^6 spores/mL) and wastewater without glucose; 6 reactors (RFIG) with glucose (0,5 g/L) and inoculum of fungi (2×10^6 spores/mL). A new assay was carried through to compare 6 control reactors (RC) – without inoculum of fungi –; 6 reactors RFIG – containing inoculum of fungi (2×10^6 spores/mL) and wastewater with glucose (0,5 g/L) – and 6 reactors RFIIG – containing inoculum of fungi (2×10^4 spores/mL) and wastewater with glucose (0,5 g/L). The glucose addition did not improve the efficiency of the process. The reactor with inoculum of fungi had almost reached 100% of phenols removal independent of the glucose presence or its absence. The environment pH almost didn't vary and was remained low, which is more favorable for the development of fungi. In the reactors with smaller inoculum concentration, the efficiency of organic matter removal was 91%, a rate very close to the percentage of 79%, found in the inoculated reactors with a larger concentration of microorganisms (2×10^6 spores/mL). This indicates the feasibility of using 2×10^4 spores/mL concentration as an “optimum concentration” to be used in the reactors. It has been reached similar phenol removal (93%) for both inoculated concentration in these reactors.*

Keywords: *Aspergillus niger*. Glucose. Inoculum concentration.

¹ Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM), Departamento da Área de Química e Meio Ambiente, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnológica do Ceará (IF-Ce), Av. Treze de Maio, 2081, CEP 60000-000, Fortaleza, Brasil.

INTRODUÇÃO

A indústria de beneficiamento da castanha de caju tem importância cada vez maior no cenário econômico devido a sua produção elevada e à capacidade de geração de divisas, sendo o Brasil um dos maiores exportadores tanto da amêndoas quanto do líquido da castanha de caju (LCC) [1].

Os processos industriais empregados para o beneficiamento da castanha geram grande volume de efluentes líquidos que possuem compostos fenólicos de difícil biodegradação, oriundos, principalmente, do líquido da casca da castanha de caju (LCC), obtido após a execução das etapas de pesagem, armazenagem, secagem, classificação, lavagem, extração do LCC e descortinagem [1].

O LCC é utilizado para a fabricação de tintas, vernizes, corantes, lubrificantes, desinfetantes e inseticidas e é constituído de uma mistura de compostos fenólicos de cadeia longa como ácido anacárdico, cardóis e cardanóis, sendo o ácido anacárdico e os cardóis seus principais constituintes [2].

Os compostos fenólicos possuem características ácidas, mutagênicas e carcinogênicas, sendo necessário o tratamento dessas águas resíduárias antes da disposição final em corpos hídricos receptores [3]. De acordo com a legislação brasileira, a concentração máxima de fenóis permitida no efluente a ser lançado no meio é de 0,5 mg/L [4], sendo importante o desenvolvimento de tecnologias que diminuam a concentração desses poluentes para níveis aceitáveis para disposição desses efluentes no meio ambiente.

Os fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Phanerochaete*, entre outros, têm sido utilizados para biodegradação de compostos fenólicos, pois são capazes de degradar compostos aromáticos em seu metabolismo por meio de enzimas catabólicas *celulases*, *lacases*, *proteases* e *fenol-hidroxilases* [5, 6].

Dentro deste contexto, os reatores biológicos com a utilização de fungos se destacam como tecnologia alternativa com resultados positivos no tratamento de águas resíduárias de laticínios [7, 8], na biorremediação de fenol [5] e de compostos presentes em efluentes da indústria petrolífera [9] e, ainda, de pesticidas [10], entre outros poluentes.

A aplicação desses micro-organismos em reatores biológicos é atribuída à sua capacidade de suportarem possíveis variações de carga orgânica, pH e oxigênio [3]. Porém, o estudo de variáveis biológicas como o emprego de substrato primário

e a “concentração do inóculo” é importante para a otimização do processo de tratamento de águas resíduárias em reatores biológicos com fungos.

Em geral, observa-se que a determinação da “concentração do inóculo” ideal é de extrema relevância para o sucesso do processo, pois um inóculo em concentração adequada conduz a condições ótimas de crescimento e, consequentemente, à boa eficiência do processo de degradação [11].

Segundo Pamboukian [12], valores superestimados ou subestimados em relação à concentração ideal de inóculo podem diminuir a eficiência do tratamento.

Isto ocorre porque concentrações muito elevadas da população fúngica podem formar biofilme de espesso, de modo que o alimento tende a escassear antes de chegar às populações estabelecidas nas camadas mais internas, favorecendo a ocorrência da limitação difusional de substrato. Por outro lado, se o inóculo for adicionado em quantidade insuficiente, o processo tenderá a se tornar inviável pela própria dificuldade dos micro-organismos de se adaptar e crescer no meio [12].

De forma semelhante, aspectos relacionados à adição de fonte primária de carbono na água resíduária ainda não estão claros, embora seu uso dependa da concentração e da complexidade estrutural dos compostos presentes na água resíduária [12, 13, 14, 15], sendo importante seu estudo para cada tipo de água resíduária e espécie microbiana envolvida.

Em particular, neste trabalho foi estudado o efeito da adição da glicose e da “concentração do inóculo” sobre a eficiência do processo quanto à remoção de matéria orgânica e de fenóis de água resíduária da indústria de beneficiamento de castanha de caju por *Aspergillus niger* AN 400.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Inóculo

Uma suspensão de esporos foi utilizada como inóculo. Os esporos foram produzidos em placas de Petri estéreis contendo 15 mL de meio de cultura Sabouraud Dextrose, previamente esterilizado a 121oC, durante 15 minutos, e 1 mL de solução de Vishniac, como fonte de nutrientes para os fungos.

Os esporos de *Aspergillus niger* AN 400 foram inoculados nas placas que permaneceram a 28oC, durante 5 dias, para o crescimento por toda a

superfície das placas, e, após esse período, foram removidos para contagem, quando foi utilizado microscópico óptico com aumento de 45 vezes (45X).

2.2 Água resíduária

A água resíduária utilizada foi oriunda de uma indústria de beneficiamento de castanha de caju, localizada na cidade de Fortaleza, Ceará. A água resíduária oriunda dos processos da indústria recebia contribuição dos despejos sanitários e do restaurante, localizado no interior da fábrica.

Foram adicionados à água resíduária solução Vishniac (1mL/L) e cloranfenicol (0,05g/L) com as funções de solução de micronutrientes e bactericida, respectivamente. As variáveis determinadas para caracterização iniciais do meio foram: DQO, DBO, alcalinidade, pH, segundo procedimentos descritos em APHA [16], e as análises de fenóis, realizadas de acordo com MERK [17].

2.3 Ensaios em batelada com ausência e presença da glicose

Neste ensaio, 18 reatores foram preenchidos com 500 mL da água resíduária, sendo distribuídos em 6 lotes em função do tempo de reação, conforme apresentado na Tabela 1. Os lotes foram formados por 1 reator de controle (RC), 1 reator com fungos (RFI) e 1 reator com fungos e glicose (RFIG), sendo o ensaio conduzido em duplicata (Figura 1). Os reatores de controle (RC) possuíam em seu interior apenas água resíduária; os reatores RFI receberam água resíduária e inóculo fúngico e os reatores RFIG receberam água resíduária e adição de 0,5 g/L de glicose e inóculo fúngico.

Tabela 1 - Distribuição dos reatores nos lotes no ensaio em batelada com variação da glicose.

Lote	TR (dias)	Reatores
I	1	RC + RFI + RFIG
II	3	
III	6	
IV	10	
V	13	
VI	15	

O inóculo foi adicionado aos reatores com fungos (RFI e RFIG) na concentração de 2×10^6 esporos/mL. A glicose foi utilizada nos reatores RFIG como substrato primário.

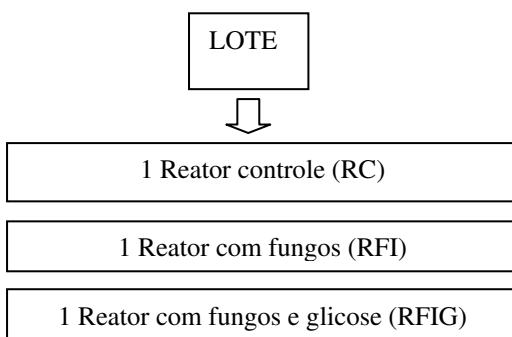


Figura 1. Fluxograma de composição de cada um dos lotes de reatores no ensaio em batelada com variação de glicose.

A aeração foi provida artificialmente por mini-compressores de ar, tendo-se mantido vazão de ar de 150 L/h.

O pH inicial do meio foi ajustado de 6,0 para 3,5, com uso de ácido sulfúrico 2,5 mol/L, a fim de permitir maior desenvolvimento do *Aspergillus niger* e minimizar a atividade bacteriana.

2.4 Ensaios em batelada com variação da “concentração do inóculo”

Da mesma forma que no ensaio anterior, 18 reatores receberam 500 mL da água resíduária, sendo os mesmos divididos em 6 lotes, como mostrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Distribuição dos reatores em lotes no ensaio em batelada com variação do “tamanho do inóculo”.

Lote	TR (dias)	Reatores
I	1	RC + RFIG + RFIIG
II	3	
III	6	
IV	10	
V	13	
VI	15	

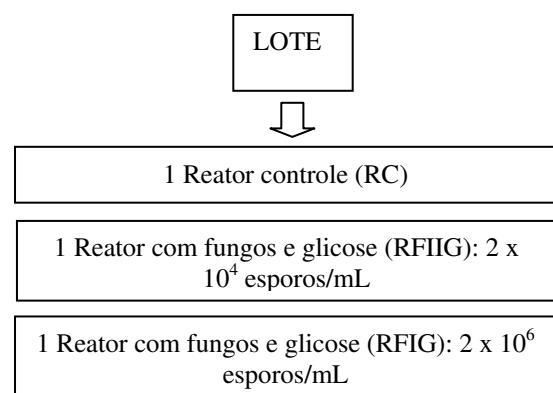


Figura 2 - Fluxograma de composição de cada lote de reatores no ensaio em batelada com variação da concentração do inóculo.

O experimento foi conduzido em duplicata. Os reatores de controle possuíam em seu interior apenas água resíduária; os reatores RFIG receberam água resíduária e inóculo fúngico (2 x 106 esporos/mL) e os reatores RFIIG receberam água resíduária e inóculo fúngico (2 x 104 esporos/mL).

A glicose foi adicionada nos reatores com fungos na concentração de glicose (0,5 g/L).

Os reatores foram mantidos com meio sob aeração e o pH inicial do meio foi ajustado de 6,0 para 3,5, conforme realizado na batelada anterior.

2.5 Análises realizadas nos ensaios em batelada

As análises realizadas foram DQO, pH e SSV, conforme descrito em APHA [16] e fenóis totais, segundo procedimentos descritos em Merck [17].

2.6 Microscopia

Amostras da biomassa presente no meio líquido, ao final da batelada, foram retiradas para análise microscópica. A biomassa foi diluída em água destilada esterilizada (120°C a 1 atm), a 10-1, 10-2 e 10-3 e, em seguida, 1 mL de cada diluição foi colocada em placas de Petri contendo meio de cultura Sabouraud. As placas foram mantidas à temperatura ambiente ($27 \pm 10^{\circ}\text{C}$), durante o período de uma semana, para verificação das colônias.

Aliquotas das diluições foram fixadas em lâminas com ágar para a realização da microscopia de contraste de fases, utilizando microscópio de contraste de fases e fluorescência, acoplado à câmara com captura de imagens.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização da água resíduária

A água resíduária da indústria de beneficiamento de castanha de caju possuía as características mostradas na Tabela 3.

Embora a concentração de fenóis presente na água resíduária coletada não tenha sido elevada (10 mg/L), observou-se que a mesma encontrava-se acima de 0,5 mg/L, limite máximo determinado pelo CONAMA [4] para o lançamento de efluentes industriais, ressaltando-se a importância do seu tratamento antes de disposição final no meio ambiente.

É importante mencionar que a menor ou maior concentração de compostos fenólicos na água resíduária está relacionada com as etapas do processo de beneficiamento e dos produtos formados [1].

Tabela 3 - Características da água resíduária coletada para alimentação dos reatores nos ensaios em batelada.

Variável	Valor
DQO bruta (mg/L)	1238
DBO (mg/L)	576
Fenóis (mg/L)	10
Sólidos (mg/L)	2302
pH	6

A relação DQO/DBO de 2,15 mostrou que havia a presença de parcela considerável de matéria orgânica de fácil biodegradabilidade, decorrente possivelmente de sólidos de natureza orgânica gerados do próprio processo de beneficiamento, como películas, removidas da castanha durante o procedimento de despeliculagem, e demais resíduos do processo de raspagem [1].

Além disso, é provável que a parcela de contribuição dos sanitários e do restaurante tenha contribuído para o aumento de matéria orgânica de mais fácil biodegradação.

3.2 Influência do uso de glicose na água resíduária sobre a eficiência do processo biológico

Tanto os reatores que receberam inóculo fúngico (RFI, RFIG) como os de controle (RC), apresentaram comportamento similar em relação à remoção de fenóis, chegando a quase 100% de redução da concentração inicial de fenóis, no 10º dia de operação.

Os dados relativos às constantes de velocidade (k) do processo, considerando a remoção de fenol, foram obtidos a partir de um modelo clássico de primeira ordem (Equação 1), e estão apresentados na Tabela 4.

Os valores obtidos na modelagem cinética indicaram que a glicose, aparentemente, não exerceu influência sobre a diminuição da concentração de fenol do meio, tendo-se obtido valores de k (dias-1) muito próximos, especialmente para os reatores RFI e RFIG.

Embora a constante de velocidade (k) obtida nos reatores de controle tenha sido ligeiramente

superior à dos reatores com fungos, o coeficiente de correlação (R^2) apresentou menor valor. Por outro lado, a ocorrência de remoções de fenóis nos reatores controle (RC) se deu, provavelmente, pela ação da microbiota natural presente na água residuária não esterilizada.

$$\ln \frac{C}{C_0} = -kt \quad \text{Equação 1}$$

Onde: C_0 é a concentração inicial de fenóis, C é a concentração de fenóis em um tempo t qualquer e k é a constante de velocidade de primeira ordem (em dias $^{-1}$).

Conforme relatado por Santos [18], a esterilização do meio acarreta na alteração de suas características básicas devido à hidrólise de diferentes substâncias e à caramelização de

açúcares, bem como à produção de cetoses, entre outros subprodutos, a partir da reação de fosfatos com a glicose. Contudo é importante relatar que, em contrapartida, os percentuais de remoção de matéria orgânica, medida em DQO, foram maiores nos reatores que receberam glicose.

Tabela 4 - Constantes de velocidade obtidos para os reatores RC, RFI e RFIG, segundo modelo cinético de primeira ordem.

Reator	k (dias $^{-1}$)	R^2
RC	0,2	0,809
RFI	0,157	0,917
RFIG	0,167	0,943

Embora a remoção de fenóis tenha sido similar, tanto nos reatores com fungos (RFI e RFIG) quanto nos de controle (RC), em relação à remoção de matéria orgânica solúvel, os reatores que receberam inóculo fúngico atingiram maiores percentuais de remoção, 74,5% e 89,5%, respectivamente, no último dia do experimento.

Os reatores controle (RC) apresentaram remoção máxima de matéria orgânica solúvel, em termos de DQO, de apenas 43%, no 10º dia de operação (Figura 3).

A maior eficiência de remoção de fenóis em relação à de matéria orgânica solúvel ocorreu, possivelmente, devido à formação de subprodutos oriundos da degradação dos compostos fenólicos,

como os ácidos mucônico e 2-hidroximucônico [19, 20] e à excreção de outras substâncias de caráter ácido pelos fungos durante as reações metabólicas de síntese [3].

Assim, devido à eficiência de remoção de matéria orgânica solúvel, medida em DQO, nos reatores inoculados com fungos ter sido superior em relação aos demais reatores, pode-se inferir que a melhor resposta ocorreu com o uso destes micro-organismos no tratamento da água residuária, pois nestes reatores não somente houve diminuição da concentração de fenóis, mas também dos compostos derivados de sua degradação.

Apesar dos reatores controle terem apresentado remoção de fenol de até 100%, no último dia da batelada, a degradação aeróbia de compostos fenólicos pode originar compostos que geram DQO [20], os quais são mais difíceis de serem degradados. Isso pode explicar a baixa remoção de matéria orgânica nos reatores controle quando comparados com reatores com fungos.

Rodrigues et al. [21], em experimento em batelada, com *Aspergillus niger* AN 400, visando à remoção de fenol de meio sintético, verificaram que a presença de glicose contribui na manutenção dos baixos valores de pH.

Posteriormente, a análise microbiológica do meio que indicou, nos reatores RFIG, a predominância de formas morfológicamente semelhantes à *Aspergillus niger*, bem como de leveduras, esporos fúngicos e bactérias em menor concentração, fato que endossou a participação ativa da espécie *Aspergillus niger* nesses reatores.

Nos reatores RFI e RC foram observadas estruturas morfológicamente semelhantes ao *Aspergillus niger*, porém, aparentemente, em menor concentração em relação a outros micro-organismos, como fungos e bactérias que não foram possíveis ser identificadas.

Com relação ao pH do meio, os reatores de controle (RC) e os que continham fungos sem a presença de glicose (RFI) apresentaram variações de 4 a 7, com aumento gradual até atingir o valor máximo da faixa de variação.

Nos reatores contendo fungos e glicose (RFIG), o valor do pH manteve-se praticamente inalterado durante todo o processo (entre 4 e 3,5), mostrando a importância da adição da glicose para a eficiência do processo e manutenção das condições ácidas do meio.

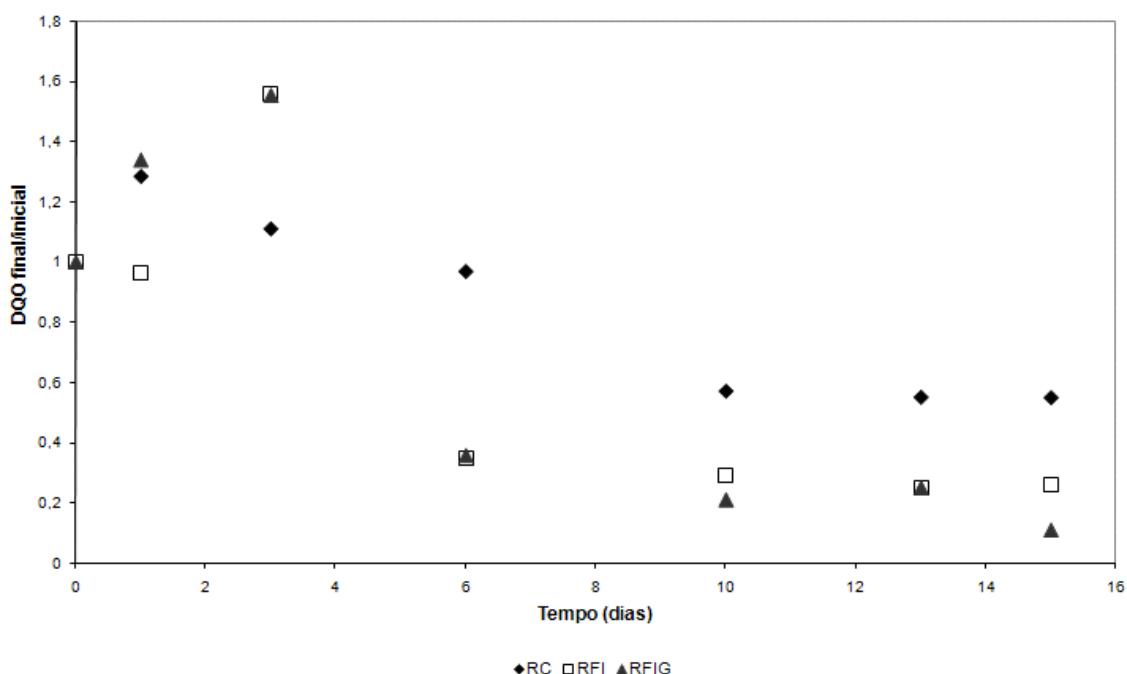


Figura 3. Variação da matéria orgânica em termos de DQO final/inicial no meio – reatores RC, RFI e RFIG.

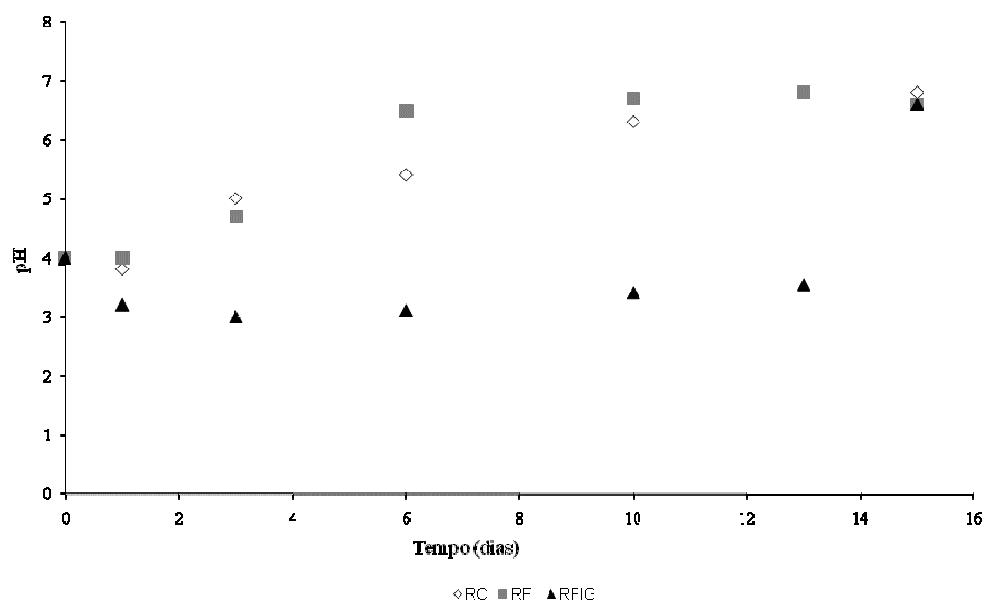


Figura 4. Variação do valor do pH do meio – reatores RC, RFI e RFIG.

Isto pode ocorrer porque a glicose se constitui em uma fonte de carbono de assimilação mais fácil, favorecendo o crescimento da população microbiana e também a maior utilização do substrato, o que geraria maior quantidade de ácidos [20, 21].

Na Figura 4 são mostradas as mudanças do pH ao longo da batelada, nos reatores RC, RFI e RFIG.

3.3 Influência da “concentração do inóculo” sobre a eficiência do processo biológico

No que se refere ao pH do meio, tanto os reatores RFIG (2×10^6 esporos/mL) quanto os RFIIG (2×10^4 esporos/mL) apresentaram valores característicos de meio ácido, exceto RFIIG, no último dia da batelada (Figura 5).

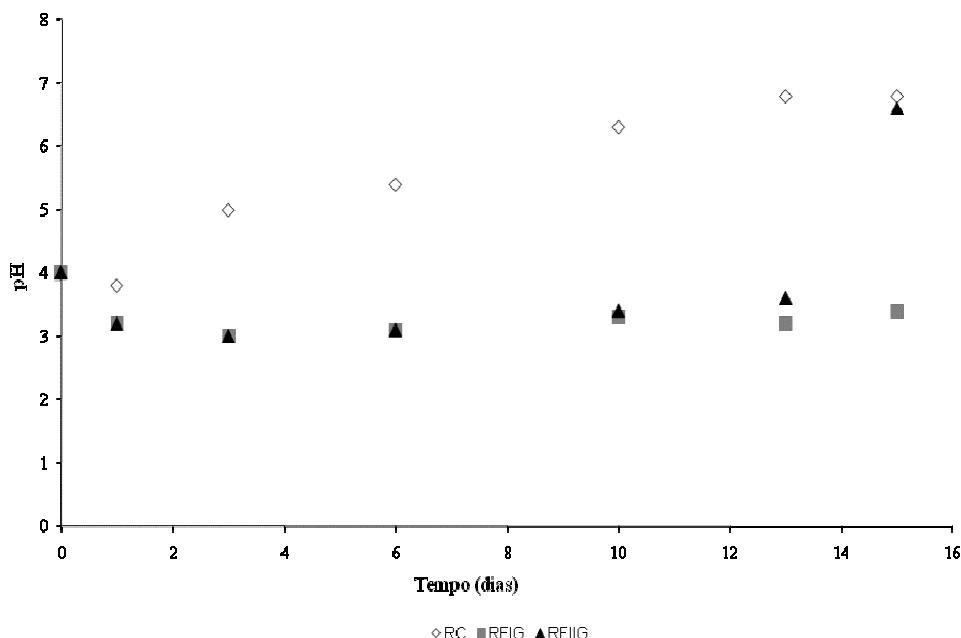


Figura 5. Variação do valor do pH do meio – reatores RC, RFIG e RFIIG.

É importante destacar que o pH possui relação direta com o crescimento dos fungos e com a produção de enzimas [18].

O'Donnell et al. [22], ao investigarem o efeito do controle do pH sobre a atividade de enzimas proteases produzidas por *A. niger*, observaram maior produção de biomassa em pH 3 (5,1 g de biomassa/L), registrando-se valores menores em pH 7 (1,9 g de biomassa/L), indicando que valores baixos de pH são mais propícios para o desenvolvimento dos fungos.

Neste trabalho, nos reatores RFIIG, que receberam menor quantidade de inóculo, a elevação do pH registrada nos últimos dias do experimento estaria relacionada possivelmente ao consumo de ácidos orgânicos que ocorreu de forma mais rápida nos referidos reatores.

No presente estudo, a medida da produção de biomassa mostrou que houve maior produção da mesma nos reatores que receberam a concentração de 2 x 104 esporos/mL, correspondente a 4380 mg SSV/L, no último dia do experimento, enquanto que nos reatores inoculados com 2 x 106 esporos/mL, a produção máxima foi de 3080 mg SSV/L.

Kyriacou et al. [13] em seus estudos, ao utilizarem como inóculo as concentrações de 104 e 106 esporos de *Aspergillus niger*/mL, obtiveram em

ambos os reatores valores baixos de pH, variando de 3,5 a 5.

Aqueles autores relataram ainda que nos reatores com maior tamanho de inóculo, o pH do meio atingiu mais rapidamente os menores valores de pH, como consequência de uma produção de ácidos orgânicos mais elevada.

Contudo, concentrações muito elevadas de esporos no inóculo resultam em crescimento na forma filamentosa, o que conduziria à diminuição da eficiência do tratamento, enquanto que em concentrações de 104 esporos/mL de inóculo, os fungos tenderiam a formar pellets, estrutura que permitiria a produção de enzimas específicas que poderiam favorecer a obtenção de maior eficiência do processo [13].

Em relação à remoção de matéria orgânica solúvel, no reator RFIIG a eficiência de remoção chegou a 71%, no 10º dia, quando, nas mesmas condições, foi obtido em RFIG uma remoção de 79%. Particularmente, no último dia de batelada (15º), a remoção de matéria orgânica solúvel nos reatores RFIG foi de 75%, enquanto em RFIIG foram alcançadas remoções de 91%.

No reator RFIIG, que recebeu como inóculo a concentração de 2 x 104 esporos/mL, verificou-se que, no último dia do experimento, o pH aumentou, provavelmente devido ao consumo de ácidos.

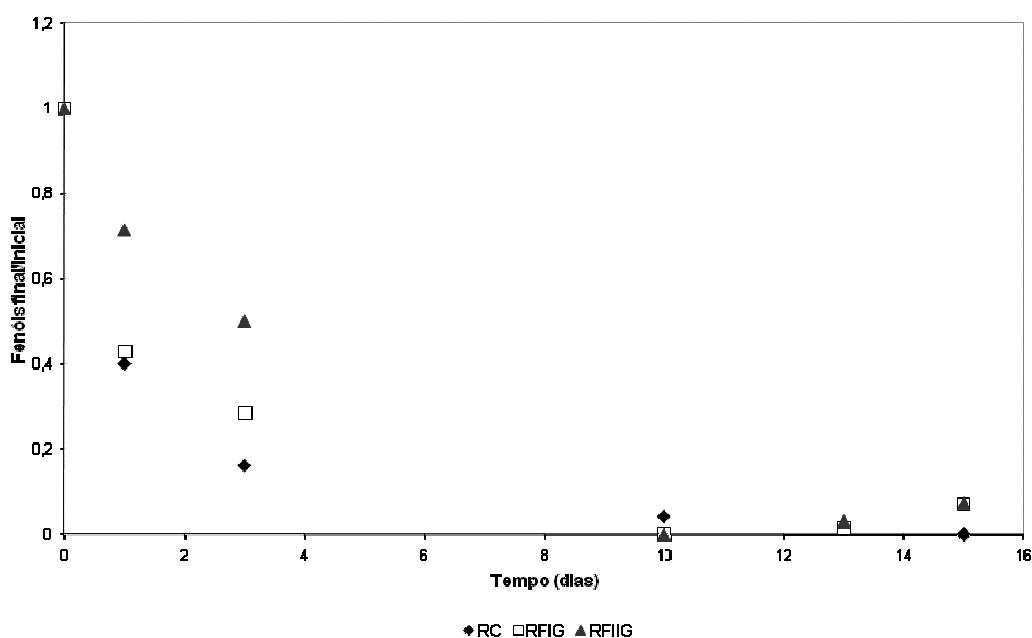


Figura 6. Variação da concentração de fenóis no meio – reatores RC, RFIG e RFIIG.

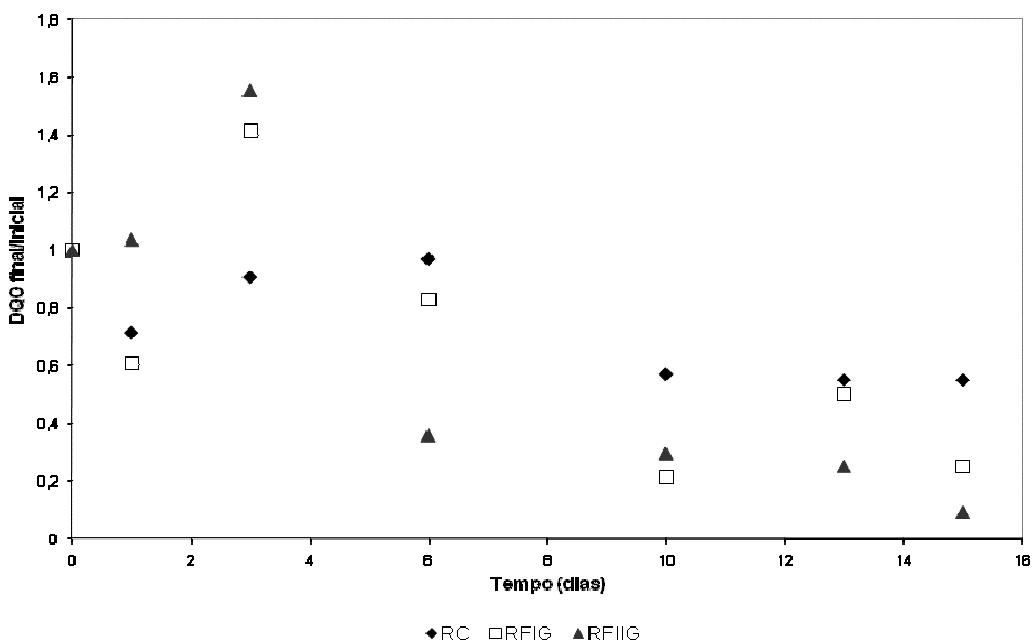


Figura 7. Variação da matéria orgânica, em termos de DQO final/DQO inicial no meio – reatores RC, RFIG e RFIIG.

Na Figura 6 é apresentada a variação da concentração de fenóis ao longo de diferentes tempos de reação nos reatores RC, RFIG e RFIIG.

Foram alcançadas, em RFIG e RFIIG, eficiências similares quanto à diminuição da concentração de fenóis, respectivamente de 93%, no último dia de operação.

O aumento da concentração de matéria orgânica nos últimos dias do experimento pode estar relacionado à excreção de metabólitos de reserva

pelos micro-organismos mediante a maior escassez de fontes de carbono no meio.

Na Figura 7 é mostrada a variação de matéria orgânica solúvel, em termos de DQO, nos reatores RC, RFIG e RFIIG.

As remoções de matéria orgânica solúvel nos reatores com fungos (RFIG e RFIIG) apresentaram valores muito superiores à eficiência máxima de remoção alcançada pelo controle (43%), no 10º. dia de operação.

Em estudo semelhante, Amaral Júnior [24] que utilizou como inóculo *Aspergillus niger* AN 400, nas concentrações de 2 x 106 esporos/mL e de 2 x 107 esporos/mL, para o tratamento de meio sintético contendo corante têxtil preto pirazol, relatou a obtenção de melhor eficiência de remoção do corante quando do emprego de inóculo com a maior concentração de esporos, sendo que os reatores inoculados com a menor concentração (2 x 106 esporos/mL) alcançaram remoções próximas de 75%.

Srivastava & Thakur [25], ao estudarem a remoção de cromo por *Aspergillus* sp de meio sintético pelo uso de inóculo nas concentrações de 5, 10, 20 e 30% p/v, verificaram que a melhor eficiência de remoção do poluente, de 78%, foi alcançada quando do emprego da concentração de 20% p/v.

Pereira & Lemos [26], por sua vez, obtiveram melhor resposta de biodegradação de petróleo por *Aspergillus versicolor* na forma de micélio, utilizando a menor “concentração de inóculo” dentre os valores estudados (2 g/L, 5 g/L, 7,5 g/L e 10 g/L).

Os autores relataram que quantidades maiores de inóculo, embora favorecessem o aumento da população fúngica, a partir de um determinado valor, influenciaria negativamente no processo de degradação.

Em geral, estes trabalhos apontam para um limite máximo em termos da concentração a ser utilizada como inóculo, contudo é importante destacar que o “tamanho do inóculo” está relacionado à espécie fúngica e ao substrato disponível à mesma para consumo.

Uma mesma espécie pode apresentar desempenho diferente para uma mesma concentração de inóculo em meios distintos, sendo importante determinar a concentração ótima de inóculo, a fim de controlar problemas futuros de crescimento excessivo do biofilme em reatores [3].

O biofilme é formado por micro-organismos, substâncias poliméricas e água [27] e o aumento acentuado de sua espessura pode acarretar problemas de limitação difusional [21].

Além disso, a quantidade de inóculo adicionada no reator poderá interferir diretamente na eficiência do processo, de modo que pode interferir na morfologia das células e, desta forma, na produção de diversos metabólitos, inclusive de enzimas utilizadas para a degradação de poluentes [12].

4 CONCLUSÃO

Independente da presença ou não de glicose, os reatores inoculados com fungos (RFI e RFIG) alcançaram excelentes percentuais de remoção de fenóis e de matéria orgânica solúvel, o que endossou a viabilidade do tratamento.

A parcela de esgoto sanitário presente na água residuária industrial utilizada neste trabalho funcionou como fonte primária de carbono e influenciou para que os reatores com fungos que não receberam adição de glicose (RFI) alcançassem boas remoções de fenóis e, particularmente, de matéria orgânica.

A concentração de 2 x 104 esporos/mL de *Aspergillus niger* pode ser utilizada como inóculo de reatores sem perda de eficiência do processo de tratamento de águas residuárias contendo compostos fenólicos, como as da indústria de beneficiamento da castanha de caju.

5 AGRADECIMENTOS

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo financiamento da pesquisa através do Programa Primeiro Projeto, processo nº. 273/06, convênio nº. 0006-00/2006. Ao IFCE pela concessão de bolsa de iniciação científica e de produtividade em pesquisa do Programa de Apoio à Pesquisa (ProAPP).

REFERÊNCIAS

- [1] SOUZA, K. R. **Degradação foto-fenton de carbono orgânico total em efluentes da indústria de beneficiamento da castanha de caju.** 2005. 78p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2005.
- [2] PIMENTEL, M. F.; LIMA, D. P. DE; MARTINS, L. R.; BEATRIZ, A.; SANTAELLA, S. T., LOTUFO, L. V. C. Ecotoxicological analysis of caschew nut effluents, specifically two of its major phenolics components, cardol and cardanol. *Pan American Journal of Aquatic Sciences*, [S.I], v. 4, n. 3, p. 363 – 368, 2009.
- [3] LOPES, M. **Estudo do metabolismo do fungo *Aspergillus niger* AN400 na remoção de nutrientes e de fenol.** 2009. 70 p. Trabalho de conclusão de curso - Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia

- do Ceará, [S.I], 2009.
- [4] CONAMA. **Resolução nº 357, de 29 de novembro de 2005.**
- [5] PASSOS, C.T. **Estudo da biodegradação do fenol por uma nova linhagem de *Aspergillus* sp.** 2006. 840f. Dissertação (Mestrado) - Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Natal, 2006.
- [6] SANTOS, V.L., LINARDI, V.R. Biodegradation of phenol by a filamentous fungi isolated from industrial effluents - identification and degradation potential **Process. Biochem.**, [S.I], v.39, nº. 8, p. 1001 – 1006, 2004.
- [7] SÁ, I.M.B. **Biotratamento de água resíduária de indústria de laticínios por ação de fungos decompositores.** 1997. 100f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1997.
- [8] RODRIGUES, K. A. **Tratamento biológico de água resíduária sintética de laticínios por decomposição fúngica.** 1999. 113f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.
- [9] SANTAELLA, S. T.; SILVA JÚNIOR, F. C. G.; GADELHA, D. A. C.; COSTA, K. O.; AGUIAR, R.; ARTHAUD, I. D. B.; LEITÃO, R. C. Tratamento de efluentes de refinaria de petróleo em reatores inoculados com *Aspergillus niger*. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, [S.I], v. 14, nº. 1, p. 139 – 148, 2009.
- [10] SAMPAIO, G. M. M. S. **Remoção de Metil paration e atrazina em reatores com fungos.** 2005. 140f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
- [11] PATON, C., WILLIS, P. Strain preservation, inoculum preparation and development. Oxford: Irl Press, 1990.
- [12] PAMBOUKIAN, C. R. **Influência das condições de preparo do inóculo na morfologia do micro-organismo e na síntese de glicoamilase.** 189 p. 1997. Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.
- [13] KYRIACOU, A., LASARIDI, K. E., KOTSOU, M., BALIS, C., PILIDIS, G. Combined bioremediation and advanced oxidation of green table olive processing wastewater. **Process. Biochem.**, [S.I], v.40, p.1401 – 1408, 2005.
- [14] LEITÃO, A.L.; DUARTE, M.P.; OLIVEIRA, J.S. Degradation of phenol by a halotolerant strain of *Penicillium chrysogenum*. **Int Biodeter and Biodegr.**, [S.I], v. 59, p. 220-225, 2007.
- [15] SANTOS, E. M. A., SAMPAIO, G. M. M. S., LEITÃO, R. C., FACÓ, A. M., MENEZES, E. A., SANTAELLA, S. T. Influência do tempo de detenção hidráulica em um sistema UASB seguido de um reator biológico com fungos para tratar efluentes de indústria de castanha de caju. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 11, n.1, 2006.
- [16] APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington: **American Public Health Association**, 20a. ed., 1998.
- [17] Merck. **The Testing of water.** 9th ed., [S.I.: s.n.], 1975.
- [18] SANTOS, E. M. A. **Remoção de demanda química de oxigênio e de fenóis totais de água resíduária do beneficiamento da castanha de caju em reatores biológicos com fungos.** 2008. 120f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.
- [19] FADIL, K.; CHAHLAOUI, A.; OUAHBI, A.; ZAID, A.; BORJA, R. Aerobic biodegradation and detoxification of wastewaters from the olive oil industry. **Int. Biodeter and Biodegradation**, [S.I], v. 51, nº. 5, 37 – 41, 2003.
- [20] SILVA, C.G.F. **Estudo da remoção de fenol por *Aspergillus ornatus* em reatores biológicos.** 2008. 50f. Trabalho de Conclusão de Curso - Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará, Fortaleza, 2008.
- [21] RODRIGUES, K. A., SAMPAIO, G. M. M. S., ZAIAT, M., SANTAELLA, S. T. Influência da glicose sobre o consumo de fenol por *Aspergillus niger* AN 400 em reatores em batelada. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, [S.I], v. 12, nº. 2, p. 222-228, 2007.
- [22] O'DONNELL, D., WANG, L., XU, J., RIDGWAY, D., GU, T., MOO-YOUNG, M. Enhanced heterologous protein production in *Aspergillus niger* through pH control of extracellular protease activity. **Biochem.**

- Eng. J. [S.l], v. 8, nº. 3, p. 187 – 193, 2001.
- [23] PAPAGIANNI, M. Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: biochemical aspects, membrane transport and modeling. **Biotechnology Advances**, [S.l], v. 25, n.1, p. 244-263, 2007.
- [24] Amaral Júnior, F. W. 2006. 40f. **Tratamento de água resíduária sintética têxtil por uso de reatores**. Trabalho de Conclusão do Curso - Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará, Fortaleza, 2006.
- [25] SRIVASTAVA, S.; THAKUR, I. S. Isolation and process parameter optimization of *Aspergillus* sp. for removal of chromium from tannery effluent. **Bioresour. Technol.**, [S.l], v. 97, n. 10, p. 1167-1173, 2006.
- [26] PEREIRA, L. T. C., LEMOS, J. L. S. Aplicação de escala da biodegradação de petróleo por *Aspergillus versicolor*. **Anais da XII Jornada de Iniciação Científica - CETEM**, Rio de Janeiro, Brasil, 2004.
- [27] XAVIER, J. B.; PICIOREANU, C.; ALMDEIDA, J. S.; van LOOSDRECHT, M.C.M. Biomatemática para estruturação de biofilmes. **Boletim de Biotecnol.**, [S.l], n. 76, 2003.