

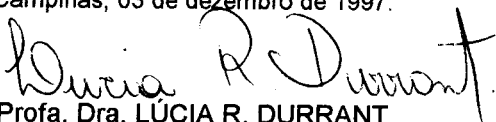
**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**ESTUDO DE MICRORGANISMOS QUE REDUZEM A
DQO DO EFLUENTE DE UMA CERVEJARIA**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por ANA LUCIA PONTES PENTEADO aprovada pela Comissão Julgadora em 03 de dezembro de 1997.

Campinas, 03 de dezembro de 1997.


Profa. Dra. LÚCIA R. DURRANT
Presidente da Banca

Ana Lúcia P. Penteado
Farmacêutica - Industrial - USP

Profa. Dra. Lúcia R. Durrant
Orientadora

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos

Campinas - SP
1997

UNIDADE	BO
N.º CHAMADA	
V.	Ex.
TOMBO BC	32594
PROC.	395/98
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 1100
DATA	16/03/98
N.º CPD	

CM-00104798-1

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

P387e

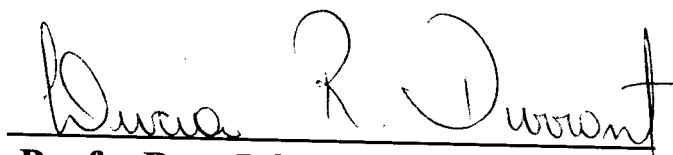
Penteado, Ana Lúcia Pontes

Estudo de microrganismos que reduzem a DQO do
efluente de uma cervejaria / Ana Lúcia Pontes Penteado. --
Campinas, SP: [s.n.], 1997.

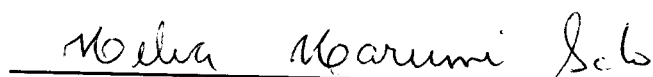
Orientador: Lúcia Regina Durrant
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Cerveja - industria. 2.Aspergillus niger. 3.Aspergillus
fumigatus. 4.Bacillus cereus. 5.Demanda química de
oxigênio (DQO). I.Durrant, Lúcia Regina. II.Universidade
Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de
Alimentos. III.Título.

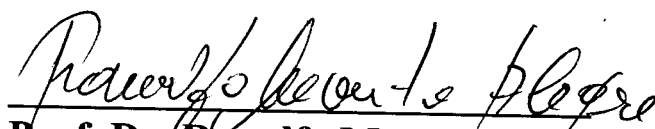
BANCA EXAMINADORA



**Profa. Dra. Lúcia Regina Durrant
(ORIENTADORA)**



**Profa. Dra. Hélia Harumi Sato
(MEMBRO)**



**Prof. Dr. Ranulfo Monte Alegre
(MEMBRO)**

**Prof. Dr. José Luiz Pereira
(MEMBRO)**

**Aos meus pais
por todo o apoio durante estes anos,**

dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus.

À Profa. Dra. Lúcia R. Durrant, pela orientação e confiança.

Ao Marcos Daminelli pela atenção e interesse neste projeto.

Ao Wilson Martins.

Ao Márcio Maran, por sempre permitir as minhas idas a fábrica.

Ao Edison por ter me ensinado, sempre que precisei.

Aos professores da Engenharia Civil, Edson e Tuca.

À Maria Aparecida Vieira pela amizade e ajuda.

À Valéria por ter cedido gentilmente o kit Api.

À Eli, Dirce Maria, Cida, Miriam, Argentina, Janice, Mariane, Fabiana, Chico, Marcelo, Antonio, pelo agradável convívio nestes anos de Unicamp.

À Daniela Franco, pela organização do laboratório.

Ao Capes, pela ajuda financeira.

À Dona Noberta e Dona Olivia, pelo difícil e valioso serviço.

À Margaret, da secretaria de pós - graduação pela paciência e competência.

Aos Professores Doutores Hélia Sato, Ranulfo M. Alegre e José Luiz Pereira, pelas correções e sugestões feitas no boneco.

À todos os professores, que passaram pela minha vida.

agradeço.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
SUMÁRIO.....	x
SUMMARY.....	xi
1 - INTRODUÇÃO.....	1
2. - OBJETIVOS.....	4
3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1. Tratamento Biológico.....	5
3.1.1. Conceito.....	5
3.2. Nutrientes.....	7
3.3. Características dos efluentes das indústria de alimentos.....	8
3.4. Atuação de microrganismos no tratamento de efluentes das indústrias de alimentos.....	9
3.4.1. Bactérias.....	9
3.4.1.1. <i>Bacillus</i>	12
3.4.2. Leveduras.....	13
3.4.3. Fungos filamentosos.....	16
3.4.3.1. <i>Aspergillus niger</i>	18

3.4.3.2. <i>Aspergillus fumigatus</i>	20
3.5. Imobilização.....	21
3.6. Métodos normalmente utilizados na determinação da carga poluidora de efluentes industriais.....	22
3.6.1. Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	23
3.6.2. Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO).....	23
4 - MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1 Materiais.....	24
4.1.1. Pontos de amostragem da estação de tratamento de efluentes (ETE).....	24
4.1.2. Microrganismos utilizados.....	24
4.1.3. Meios de cultura e soluções utilizadas.....	24
4.1.4. Aparelhagem utilizada.....	26
4.2. Métodos.....	27
4.2.1. Isolamento de microrganismos dos diferentes pontos de amostragem da ETE.....	27
4.2.2. Pré seleção de microrganismos.....	28
4.2.3. Preparo dos substratos.....	28
4.2.4. Condições de cultivo.....	29
4.2.5. Estudos da redução da DQO.....	29
4.2.5.1. Bactérias e Leveduras.....	29

4.2.5.2. Fungos filamentosos.....	30
4.2.6. Concentração dos inóculos.....	30
4.2.7. Preparo dos inóculos.....	30
4.2.7.1. Fungos.....	30
4.2.7.2. Bactérias e Leveduras.....	30
4.2.8. Determinação da DQO.....	31
4.2.9. Determinação do nitrogênio.....	31
4.2.10. Seleção de linhagens com maior capacidade de redução na DQO.....	32
4.2.11. Caracterização morfo - fisiológica e bioquímica da linhagem selecionada e isolada B.49.....	32
4.2.12. Caracterização fenotípica (API).....	33
4.2.13. Influência do pH inicial do meio Ef ₁ na eficiência da linhagem B.49 (<i>Bacillus cereus</i>), <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> e <i>Pleurotus sajor-caju</i> , na redução de DQO	33
4.2.14. Avaliação do tamanho do inóculo e pH inicial do meio de crescimento Ef ₁ na redução da DQO pelos fungos <i>Aspergillus niger</i> e <i>Aspergillus fumigatus</i>	34
4.2.15. Efeito do tempo de cultivo dos fungos e da cepa de <i>Bacillus cereus</i> na redução da DQO.....	34
4.2.16. Estudo da influência da microbiota natural do efluente Ef ₁ na redução da DQO por <i>Bacillus cereus</i>	35

4.2.17. Estudo do efeito da adição de uma fonte de nitrogênio ao efluente Ef ₁ e sua redução na DQO.....	35
4.2.18. Estudo da influência de uma fonte de nitrogênio na massa fúngica produzida.....	35
4.2.19. Efeito da associação dos fungos <i>A. niger</i> e <i>A. fumigatus</i> na redução da DQO.....	36
4.2.20. Efeito da imobilização dos fungos <i>A. niger</i> e <i>A. fumigatus</i> em espumas de poliuretana, na redução da DQO.....	36
 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5.1. Isolamento dos microrganismos.....	37
5.2. Pré - seleção de microrganismos.....	37
5.3. Seleção de linhagens com maior capacidade de redução de DQO.....	38
5.4. Caracterização morfo - fisiológica e bioquímica da linhagem selecionada e isolada de B. 49.....	39
5.5. Caracterização fenotípica (API).....	40
5.6. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef ₁ na eficiência de <i>Bacillus cereus</i> , <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> e <i>Pleurotus sajor - caju</i> na redução da DQO	40
5.7. Estudo da influência da microbiota natural do efluente Ef ₁ na redução da DQO por <i>Bacillus cereus</i>	43

5.8. Avaliação do tamanho do inóculo e pH inicial do meio de crescimento Ef ₁ na redução da DQO pelos fungos <i>Aspergillus niger</i> e <i>Aspergillus fumigatus</i>	45
5.9. Efeito do tempo de cultivo dos fungos e da cepa da <i>Bacillus cereus</i> , na redução de DQO.....	46
5.10. Estudo do efeito da adição de (NH ₄) ₂ SO ₄ ao efluente Ef ₁ e sua redução na DQO.....	50
5.11. Estudo da influência de uma fonte de nitrogênio na massa fúngica produzida.....	52
5.12. Efeito da associação dos fungos <i>Aspergillus niger</i> e <i>Aspergillus fumigatus</i> na redução da DQO.....	56
5.13. Efeito da imobilização dos fungos <i>Aspergillus niger</i> e <i>Aspergillus fumigatus</i> em espumas de poliuretana, na redução da DQO.....	57
6 - CONCLUSÕES.....	59
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
8 - APÊNDICE.....	68

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Vazão específica média de algumas indústrias de alimentos.....	8
Tabela 2. Seleção de linhagens com maior capacidade de redução na DQO.....	68
Tabela 3. Características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas da linhagem de <i>Bacillus cereus</i>	69
Tabela 4. Fermentação dos açúcares por <i>Bacillus cereus</i> utilizando o sistema API 50CHB.....	70
Tabela 5a. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef ₁ estéril, na eficiência de <i>Bacillus cereus</i> na redução de DQO (amostra centrifugada)	71
Tabela 5b. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef ₁ estéril, na eficiência de <i>Bacillus cereus</i> na redução de DQO (amostra não centrifugada)	71
Tabela 6. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef ₁ na eficiência de <i>Pleurotus sajor - caju</i> na redução de DQO	72
Tabela 7. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef ₁ na eficiência de <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> na redução de DQO	72
Tabela 8a. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef ₁ bruto na eficiência de <i>Bacillus cereus</i> na redução de DQO (amostra centrifugada)	73

Tabela 8b. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef ₁ bruto na eficiência de <i>Bacillus cereus</i> na redução de DQO (amostra não centrifugada)	73
Tabela 9. Avaliação do tamanho do inóculo e pH na redução da DQO por <i>Aspergillus fumigatus</i>	45
Tabela 10. Avaliação do tamanho do inóculo e pH na redução da DQO por <i>Aspergillus niger</i>	45
Tabela 11. Estudo do efeito da adição de (NH ₄) ₂ SO ₄ ao efluente Ef ₁ e sua redução na DQO pelos fungos <i>A. niger</i> e <i>A. fumigatus</i>	51
Tabela 12. Estudo do efeito da adição de (NH ₄) ₂ SO ₄ ao efluente Ef ₁ bruto e sua redução na DQO por <i>Bacillus cereus</i>	52
Tabela 13. Estudo do efeito da adição de (NH ₄) ₂ SO ₄ ao efluente Ef ₁ estéril e sua redução na DQO por <i>Bacillus cereus</i>	52
Tabela 14. Redução na Demanda Química de Oxigênio do efluente de cervejaria inoculado com diferentes culturas de fungos.....	57
Tabela 15. Imobilização dos fungos <i>Aspergillus niger</i> e <i>Aspergillus fumigatus</i> em espumas de poliuretana no pH inicial do meio de crescimento Ef ₁ de maior redução de DQO.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anabolismo e catabolismo do carbono durante o tratamento aeróbio de efluentes líquidos.....	6
Figura 2. Fluxograma da Estação de Tratamento de Efluentes (ETE).....	27
Figura 3. Distribuição dos microrganismos isolados nos diferentes pontos de amostragem da ETE.....	37
Figura 4. Seleção de microrganismos com maior capacidade de redução da DQO do efluente Ef ₁	39
Figura 5. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef ₁ previamente estéril, na eficiência de <i>Bacillus cereus</i> na redução de DQO. 4a) Determinação da DQO realizada na amostra centrifugada. 4b) Determinação da DQO realizada na amostra não centrifugada.....	41
Figura 6. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef ₁ previamente estéril, na eficiência de <i>Pleurotus sajor - caju</i> na redução de DQO	42
Figura 7. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef ₁ previamente estéril, na eficiência de <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> na redução da DQO	42
Figura 8. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef ₁ bruto, na eficiência de <i>Bacillus cereus</i> na redução de DQO. 8a) Determinação da DQO realizada na amostra centrifugada.	

8b) Determinação da DQO realizada na amostra não centrifugada.....	44
Figura 9. Efeito do tempo de cultivo do fungo <i>Aspergillus niger</i> na redução de DQO.....	46
Figura 10. Efeito do tempo de cultivo do fungo <i>Aspergillus fumigatus</i> na redução de DQO	47
Figura 11. Efeito do tempo de cultivo do fungo <i>P. ostreatoroseus</i> na redução da DQO.....	48
Figura 12. Efeito do tempo de cultivo do fungo <i>Pleurotus sajor - caju</i> na redução de DQO	48
Figura 13. Efeito do tempo de cultivo da cepa <i>Bacillus cereus</i> na redução de DQO	49
Figura 14. Influência da adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ao efluente Ef ₁ bruto na massa fúngica produzida por <i>Aspergillus niger</i>	53
Figura 15. Influência da adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ao efluente Ef ₁ previamente estéril na massa fúngica produzida por <i>Aspergillus niger</i>	54
Figura 16. Influência da adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ao efluente Ef ₁ bruto na massa fúngica produzida por <i>Aspergillus fumigatus</i>	55
Figura 17. Influência da adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ao efluente Ef ₁ previamente estéril na massa fúngica produzida por <i>Aspergillus fumigatus</i>	56

SUMÁRIO

Noventa linhagens de microrganismos isolados das diferentes etapas da Estação de tratamento de efluente (E.T.E.) de uma cervejaria situada na região de Campinas - S.P. e cinco fungos provenientes da coleção do Laboratório de Sistemática e Fisiologia Microbiana (L.S.F.M.) foram estudados quanto a capacidade de redução da DQO do efluente oriundo do tanque de equalização Ef₁.

Foram selecionadas três linhagens que apresentaram melhor capacidade de redução de DQO, sendo que duas (*Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus*) pertencem a coleção do L.S.F.M. e uma foi isolada da ETE tendo sido identificada como *Bacillus cereus*.

Foi estudada a influência de diversos fatores tais como: influência do pH inicial do meio de crescimento (Ef₁), tamanho de inóculo, adição de (NH₄)₂SO₄, tempo de crescimento, associação e imobilização dos fungos *A. niger* e *A. fumigatus* na redução da DQO do efluente proveniente do tanque de equalização Ef₁.

Os resultados foram satisfatórios, sendo que a cepa de *Bacillus cereus* apresentou uma faixa de 58,70 à 84,72% para redução da DQO, já para os fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus* os resultados foram de 30,00 - 81,81% e de 75,49 - 80,43% respectivamente, nos tempos de crescimento e pH inicial do meio Ef₁ de maior eficiência de redução de DQO.

A adição de (NH₄)₂SO₄ ao efluente Ef₁ resultou numa melhora na redução da DQO para todos os microrganismos estudados. A imobilização fúngica de *A. fumigatus* em espuma de poliuretana foi eficaz no estudo de redução da DQO de efluentes.

SUMMARY

Ninety strains of microorganisms isolated from different stages of a wastewater treatment plant (W.T.P.) of a brewery at Campinas region - São Paulo and five fungi from the Microbial Physiology Systematic Laboratory (M.P.S.L.) collection were studied in relation to their chemical oxygen demand (COD) reducing capacity of the effluent from the equalization tank Ef₁.

Three strains that have been shown the best reducing ability were selected, two of which (*Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus*) belonging to the M.P.S.L. and one was isolated from the W.T.P. have been identified as *Bacillus cereus*.

The influence of various factors was studied such as: the initial pH of the growing medium (Ef₁), inoculum size, addition of a nitrogen source, growing time, association and immobilization of the fungi *A. niger* and *A. fumigatus* in removing effluent chemical oxygen demand from the equalization tank Ef₁.

The results were satisfactory. The *Bacillus cereus* strain shown a range from 58,70 to 84,72% for the COD removing, for the fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus* the results were from 30,40 to 81,81% and from 75,49 to 80,43% respectively, at the growing times and initial pH of the medium Ef₁ which gave the best results in COD removing.

The addition of (NH₄)₂SO₄ to the Ef₁ effluent resulted in a improvement of COD reduction for all microorganisms studied. In the study of effluents COD reduction, the *Aspergillus fumigatus* immobilization in polyurethane foam was efficient.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem havido uma grande preocupação quanto aos crescentes problemas na disposição dos resíduos municipais e industriais. Segundo artigo publicado no jornal o Estado de São Paulo (março/1997), o comitê das bacias hidrográficas dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí, criado em 1989, na busca de soluções para a grave situação dos recursos hídricos da região, terá como principal desafio, evitar um colapso no abastecimento de água na região, que abrange 50 municípios. O relatório mais recente de atividades do comitê confirma a gravidade da situação. O documento cita estudos da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB), indicando que a geração de esgotos urbanos na região das bacias já superou 200 toneladas diárias. Deste total, apenas 3% recebem algum tratamento antes de serem despejados nos rios.

Os rios podem tornar-se química e biologicamente afetados pela carga poluidora que recebem. Embora os mesmos sejam diretamente atingidos, os prejuízos à saúde da população, podem ser reduzidos se existirem estações eficientes de tratamento de água e de esgoto. As obras para recuperação dos rios da região, nos próximos 20 anos, implicarão num custo de até US\$ 4 bilhões.

O parâmetro normalmente utilizado para se medir o nível de poluição é denominado de Demanda Química de Oxigênio (DQO), que pode ser definido como o oxigênio necessário para oxidar os componentes do efluente à dióxido de carbono e água em sua maior parte (PERRY & ISHERWOOD, 1995).

O tratamento de efluentes não é somente um fenômeno físico, ele também envolve uma complexa série de reações bioquímicas, relacionadas a um grande número de microrganismos (GRAY, 1989). Desse modo, o tratamento biológico se destaca como o único tipo de tratamento que pode resolver o problema na redução da DQO, tendo como objetivo, coagular e remover os sólidos coloidais não sedimentáveis e estabilizar a matéria orgânica.

Para a realização deste tipo de tratamento, os organismos quimioheterotróficos são de fundamental importância por causa dos seus requerimentos por compostos orgânicos, além de carbono e fonte de energia, (METCALF & EDDY, 1991).

Entre os microrganismos heterotróficos destacam-se as bactérias que são as mais versáteis, quando comparadas a outros organismos associados com o tratamento de efluentes, devido a sua adaptação tanto as condições presentes como também, facilidade de metabolizar os substratos do meio onde se encontram. De acordo com GRAY (1989), nos sistemas de tratamentos biológicos as bactérias encontram-se entre os grupos mais importantes de microrganismos. BERTHOUX e RUDD (citados por GRAY, 1989) destacam o gênero *Bacillus* como sendo organismos úteis nestes tipos de tratamentos, isto é, eles degradam matéria orgânica com formação de gás carbônico e água.

Os fungos heterotróficos podem ser tão eficientes quanto as bactérias heterotróficas na remoção de matéria orgânica das águas residuais (TOMLISOR e WILLIAMS citados por GRAY, 1989). No entanto, o uso destes fungos apresentam desvantagem quando comparado aos processos que utilizam bactérias, pelo fato dos mesmos produzirem grande quantidade de biomassa, o que resulta em uma maior produção de lodo a ser removido.

A utilização de microrganismos como meio de despoluição, tornou-se tão importante, que uma empresa de transporte coletivo (Companhia Lionesa), fez uso de um produto em pó contendo sais minerais e bactérias liofilizadas (em um suporte vegetal), para a limpeza das “sanfonas” de seus ônibus articulados e pretende aplicar o mesmo método para limpar as escadas rolantes do metrô de Lyon (ROUX; VERMÉGLIO & BESNAINOU, 1996).

Levando-se em consideração a escassez de água e um crescimento no consumo da mesma, aumento médio na demanda de água de 3,10% nos anos de 1994 a 1995 apenas nas bacias dos três rios citados anteriormente, os municípios e o governo estadual deveriam atuar em conjunto, para evitar um colapso nos sistema de água em toda a região em um futuro próximo.

As indústrias de cerveja e de malte merecem uma grande atenção, pois elas contribuem não somente com uma grande quantidade de água residuária, mas também com um fluxo rico em contaminação orgânica. VRIENS e colaboradores (1990), citam que as indústrias cervejeira e de malte utilizam grandes quantidades de água, sendo que apenas 10 à 25% são destinadas ao consumo humano. Segundo MORTENSEN (1977), o tratamento biológico dos resíduos provenientes dessas indústrias enfrenta problemas por causa de alterações que ocorrem na composição e no pH da água residuária. No entanto, estes problemas podem ser evitados pelo uso de um tanque de equalização ou pelo uso de uma planta de lodo ativado de baixa carga com um tempo longo de retenção, como por exemplo o uso de uma vala oxidativa. Em tal planta a biodegradação do resíduo é muito alta e realiza-se rapidamente.

2. OBJETIVOS

- a) Isolamento de microrganismos das diferentes etapas (Ef_1 - tanque de equalização; Ef_2 - tanque de acidificação; Ef_3 - saída dos reatores; Ef_4 - saídas dos reatores, entrando na lagoa de aeração; Ef_5 - retorno do lodo a lagoa aerada; Ef_6 - efluente que sai da lagoa aerada) do tratamento de efluentes de uma cervejaria.
- b) Seleção de microrganismos que apresentam maior poder de redução da DQO do efluente em estudo.
- c) Caracterização fisiológica, bioquímica e taxonômica dos microrganismos isolados e selecionados.
- d) Estudo do efeito da adição de uma fonte de nitrogênio ao efluente Ef_1 e sua redução na DQO pelos microrganismos selecionados.
- e) Estudo da influência de uma fonte de nitrogênio na massa fúngica produzida.
- f) Avaliação da capacidade de redução da DQO do efluente em estudo por fungos obtidos da coleção do Laboratório de Sistemática e Fisiologia Microbiana (LSFM).
- g) Estudo do efeito do pH inicial do meio de crescimento (Ef_1) na redução da DQO pelos microrganismos selecionados.
- h) Determinação do efeito da imobilização dos fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus* em espumas de poliuretana na redução da DQO do efluente em estudo.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Tratamento Biológico

3.1.1. Conceito:

VON SPERLING (1996) relata que o tratamento biológico de esgotos, ocorre inteiramente por mecanismos biológicos. Estes processos reproduzem, de certa maneira, aqueles que ocorrem naturalmente em um corpo d'água, após o lançamento de despejos. No corpo d'água, a matéria orgânica é convertida em produtos mineralizados inertes por mecanismos puramente naturais, caracterizando-se assim o fenômeno da autodepuração. Em uma estação de tratamento de esgotos, além de ocorrerem os fenômenos citados, tem-se em paralelo a introdução de tecnologia que tem como objetivo, fazer com que o processo de depuração, se desenvolva em condições controladas, ou seja controle da eficiência, e em taxas mais elevadas, solução mais compacta.

A compreensão da microbiologia do tratamento de esgotos é, portanto, essencial para a otimização do projeto e operação dos sistemas de tratamento biológico (VON SPERLING, 1996).

Mesmo que alguns processos físicos ou químicos sejam freqüentemente utilizados nas indústrias de bebidas e alimentos, os processos biológicos são os principais métodos utilizados para tratar estas descargas líquidas. Este pode ser dividido em duas principais categorias, (TRIMMING the..., 1996):

- Sistema anaeróbio - Na ausência de oxigênio, os microrganismos convertem carboidratos, proteínas e gorduras em biomassa e metano.
- Sistema aeróbio - Na presença de oxigênio, os microrganismos convertem a matéria orgânica em biomassa, a qual pode ser posteriormente removida por um processo físico, geralmente sedimentação.

Em se tratando de tratamento aeróbio de águas residuárias, VRIENS e colaboradores 1990, relatam que durante a oxidação biológica, os microrganismos removem as matérias orgânicas presentes nos efluentes. Uma porção do substrato original ou resíduo é convertido em massa celular por meio de uma série de reações metabólicas (anabolismo), enquanto que a outra parte, é completamente oxidada a produtos finais (catabolismo). Por meio desta última reação os organismos ganham energia para seu crescimento. Minerais, dióxido de carbono, água e amônia também são produzidos. Quando o suprimento de alimento é esgotado, a massa microbiana é consumida por auto oxidação. Uma operação efetiva no processo de oxidação biológica, requer concentração suficiente de oxigênio e nutrientes o tempo todo e resulta num acúmulo de biomassa microbiana.

O esquema abaixo (Figura 1), mostra as reações de anabolismo e catabolismo do carbono durante o tratamento aeróbio de efluentes líquidos.

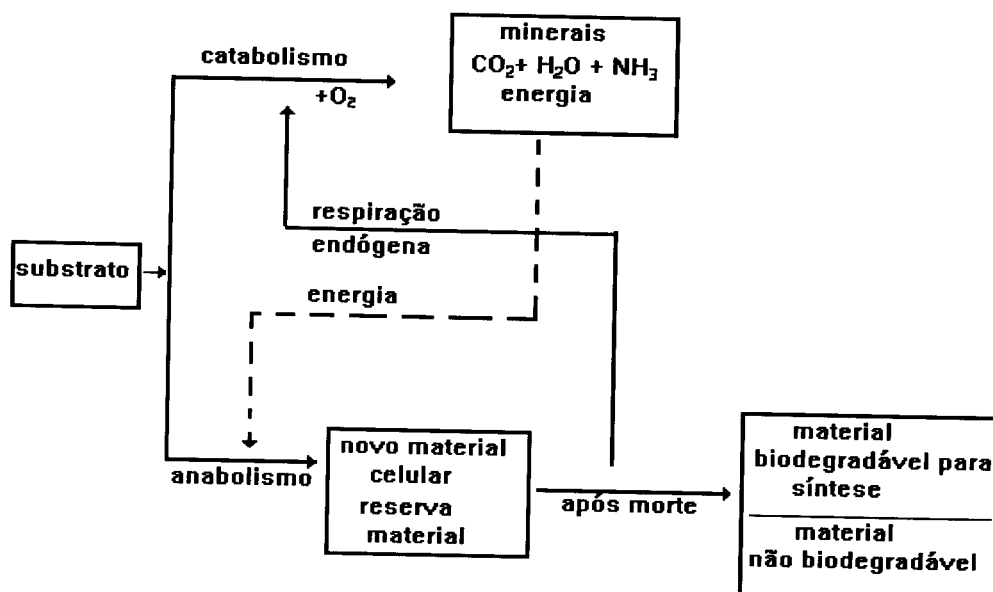


Figura 1. Anabolismo e catabolismo do carbono durante o tratamento aeróbio de efluentes líquidos (VRIENS *et alii*, 1990).

3.2. Nutrientes

Segundo GOSTICK (1997)*, o sistema de tratamento biológico de efluentes, melhora a qualidade das águas residuárias, favorecendo o crescimento e metabolismo dos microrganismos nos poluentes. A biomassa resultante pode então ser separada do efluente tratado. Para o crescimento microbiano duas coisas são necessárias:

- Energia química, proveniente da quebra e oxidação de compostos orgânicos ou ocasionalmente de moléculas inorgânicas.
- Nutrientes, o qual compõe a estrutura da célula microbiana.

GOSTICK (1997), menciona que mais de 95% da massa celular desidratada é composta por carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, fósforo e enxofre. Estes macronutrientes compõem, na maioria das vezes, as células microbianas. Uma deficiência nos nutrientes já citados tem um efeito dramático no desempenho da planta de tratamento de efluentes. Isto normalmente se manifestará em uma diminuição da eficiência de redução da demanda bioquímica de oxigênio levando a liberação de efluentes com alta DBO. A limitação de nutrientes também pode afetar a ecologia microbiana da biomassa e ocasionar mudanças nos perfis das espécies. Isto poderia ter um efeito adverso no desempenho da planta de tratamento de efluentes, como por exemplo, uma deterioração na sedimentação do lodo ativado, devido a um aumento no número de organismos filamentosos ou produtores de espuma.

Segundo GRAY (1989), as águas residuárias provenientes das indústrias cervejeiras e de enlatamento de conservas são particularmente deficientes em nitrogênio e fósforo, portanto é necessário a adição de nutrientes para se alcançar uma oxidação ótima do material carbonáceo.

- [http:// www.scisol.co.uk/nutrient.html](http://www.scisol.co.uk/nutrient.html)

3.3. Características dos efluentes das indústrias de alimentos

Os resíduos provenientes das indústrias de alimentos variam muito na sua composição. Estes podem ser constituídos de sólidos e líquidos, proteínas, carboidratos, gorduras e resíduos químicos que são utilizados tanto no processamento como na limpeza. Tais materiais geralmente não são perigosos e são biodegradáveis, mas seus altos conteúdos orgânicos podem acarretar problemas; em particular, tais resíduos podem aumentar substancialmente a DBO do efluente (HAYES, 1995).

O consumo de água varia muito entre as indústrias de alimento conforme se observa na Tabela 1, mostrada abaixo.

Tabela 1. Vazão específica média de algumas indústrias de alimentos (VON SPERLING, 1996).

Tipo	Unidade	Consumo de água por unidade (m ³ /unid) (*)
Frutas e legumes em conservas	1 ton conserva	4 - 50
Doces	1 ton produto	5 - 25
Açúcar de cana	1 ton açúcar	0,5 - 10,0
Matadouros	1 boi ou 2,5 porcos	0,3 - 0,4
Laticínios (leite)	1000 l leite	1 - 10
Laticínios (queijo ou manteiga)	1000 l leite	2 - 10
Margarina	1 ton margarina	20
Cervejaria	1000 l cerveja	5 - 20
Padaria	1 ton pão	2 - 4
Refrigerantes	1000 l refrigerante	2 - 5

(*) consumo em m³ por unidade produzida.

3.4. Atuação de microrganismos no tratamento de efluentes das indústrias de alimentos

Segundo METCALF & EDDY (1991), o papel dos microrganismos, principalmente o das bactérias no tratamento biológico seria na redução da DBO carbonácea, coagulação dos sólidos coloidais não sedimentáveis e a estabilização da matéria orgânica. Os microrganismos são utilizados para converter a matéria orgânica carbonácea e coloidal dissolvida em vários tipos de gases e em material celular. Já que o tecido celular tem uma gravidade específica levemente maior que a água, estas células podem ser removidas do líquido tratado por sedimentação.

Uma abordagem que talvez tenha algum potencial para o aumento da eficiência no processo de tratamento de efluentes é a inoculação do sistema com microrganismos, os quais tenham sido especialmente selecionados, para aquele processo particular de tratamento de efluentes CRUEGER & CRUEGER (1984).

3.4.1. Bactérias

Já há algum tempo se vem estudando o uso de microrganismos como redutores de poluição em diversos efluentes industriais.

As bactérias constituem-se no grupo de maior presença e importância nos sistemas de tratamento biológico. Considerando-se que a principal função de um sistema de tratamento é a redução da DBO, as bactérias heterotróficas são os principais agentes deste mecanismo (VON SPERLING, 1996).

PRASERTAN (1993), estudou o crescimento de quatro diferentes cepas de *Rhodocyclus gelatinosus* (T6, R4, R5, R7) em três diferentes efluentes provenientes de alimentos marinhos processados, com a finalidade de reduzir o potencial poluidor dos resíduos e de produção de biomassa celular. Após 5 dias de incubação, sob condições ótimas,

foi alcançado um máximo de massa celular de 5,6g/l (contendo 50% de proteína) e 86% de redução na demanda química de oxigênio para a cepa *R. gelatinosus* R7.

Em outro estudo, KUMAR & VISWANATHAN (1991) obtiveram como resultado final da biodegradação do efluente de uma destilaria os produtos; biomassa, ácidos voláteis e CO₂ através da utilização de 6 cepas de bactérias. A produção de ácido volátil foi estabilizada após 48-72 horas e correlacionada com os valores de redução da demanda química de oxigênio. Não houve uma correlação definida entre a produção de dióxido de carbono e a redução na DQO, sendo que os maiores valores ocorreram nas primeiras 24 horas, acompanhados por quantidade relativamente pequena na produção de CO₂. Entre 40 e 75 horas, foi observado a produção de grandes quantidades de dióxido de carbono com somente uma pequena redução na DQO.

A redução na DQO pelo tratamento do efluente com bactérias também pode ser encontrada nas indústrias de corantes. SARNAIK & KANEKAR (1995), mencionam em seu trabalho, que para a produção de violeta de metil (corante básico) é necessário o uso de fenol e dimetil anilina como matéria prima. É provável então que os efluentes provenientes de tais indústrias contenham este corante e substâncias químicas não utilizáveis. Já que tais poluentes talvez sejam tóxicos, sua remoção torna-se necessária. Os estudos conduzidos pelos autores tiveram como objetivo a biorremediação destes efluentes pela utilização de microrganismos. Quatro espécies de *Pseudomonas*, denominadas *Ps. alcaligenes*, *Ps. mendocina*, *Ps putida* “biovar”B e *Ps stutzeri*, foram isoladas das fezes de gado enriquecidas e de amostras de solos coletadas no próprio local da fábrica produtora de metil violeta. Todas as quatro espécies de *Pseudomonas* foram capazes de remover fenol (61-100%) e metil violeta (69,80-82,70%) com uma redução simultânea na demanda química de oxigênio (56,80-71,70%), carbono orgânico total (84-77,40%) e nitrogênio amoniacal (75,50-92,90%) da água residuária. As remoções demonstraram ser ótimas no pH alcalino original (7,45 - 10,6) do efluente, a temperatura ambiental (28°C ± 2°C), sob condições aeradas (cultura), a uma concentração de inóculo 1,5 x 10⁸ células/ml do efluente e um período de incubação de 24 - 48 horas. Portanto, *Pseudomonas spp* isoladas nas proximidades das indústrias de corantes poderiam ser usadas para a biorremediação destes poluentes, já que as mesmas estão naturalmente adaptadas.

O uso de outro gênero de bactéria na remoção da matéria orgânica foi estudado também por SORLINI & DAFFONCHIO (1995). Eles utilizaram 5 espécies de *Propionibacterium* (*P. acidipropionici*, *P. thoenii*, *P. freudenreichii*, *P. jensenii* e *P. shermanii*) na fermentação de leite integral e verificaram a sua eficiência para produção de ácidos graxos voláteis, ácidos acético e propiônico. As mudanças na carga orgânica do soro (DQO) e os bioindicadores envolvidos no processo também foram estudados. A redução na demanda química de oxigênio foi de 30%

No mesmo ano, MUN *et alii.* (1995) estudaram a possibilidade da utilização de óleo de palmeira como um substrato para a fermentação por *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N-14, com produção de acetona-butanol e etanol e com isto reduzir a DBO do resíduo. Dentre os dois tipos de resíduos, provenientes do óleo de palmeira o lodo centrifugado foi o melhor substrato e foi capaz de manter a produção de solventes por *C. saccharoperbutylacetonicum* N-14 sem adição de qualquer suplemento mineral. Uma hidrólise enzimática, catalisada por celulase antes da fermentação, foi capaz de aumentar a produção de butanol em 76,9% (de 2,47g/l a 4,7g/l) e de diminuir a DBO em 66% (de 26.500 ppm a 8.900 ppm).

Dois anos mais tarde KUMAR *et alii.* (1997), isolaram de uma destilaria uma bactéria anaeróbia facultativa pertencente ao gênero *Lactobacillus*. Esta cepa foi capaz de crescer nas águas resultantes da digestão anaeróbia de melaço de cana (diluída em 12,5% v/v), adicionada de glicose (10g/l). Após 7 dias de incubação foi alcançado 31% de descolorização e 57% de redução na DQO.

O uso de culturas mistas na remoção da carga orgânica também vem sendo estudado. Dados sobre a aplicação de uma cultura mista de bactérias especialmente quimioheterotrófica e fotohetero/ autotróficas (Micro-bak) em um tanque de água residuária de uma fábrica de açúcar foram relatados por BOCK & IWERT (1987). Como resultado foi descrito um aumento significativo na degradação de contaminante orgânico e uma redução na carga de nitrogênio sem aeração artificial. O conteúdo de nitrogênio foi reduzido a 10mg/l, o da DBO a 7 mg/l e DQO 106 e 108mg/l para as determinações realizadas em laboratório e em prova de campo, respectivamente.

A associação de microrganismos como um meio para a diminuição da poluição também foi estudado por ZOUARI & ELLOUZ (1996). Em seus estudos eles obtiveram por meio de enriquecimento um consórcio de microrganismos aeróbios, que cresceram em efluentes provenientes dos moinhos de óleo de oliva. Diversas culturas foram capazes de metabolizar compostos monoaromáticos, fornecidos como fonte única de carbono na concentração de 2g/l. Alguns consórcios degradaram misturas de 7 compostos aromáticos (4g/l) após 1 semana de incubação a temperatura de 32 °C. O consórcio também foi ativo diante de compostos mono aromáticos do efluente não diluído proveniente do moinho de óleo de oliva. Isto reduziu o efeito inibitório dos compostos fenólicos antes da digestão anaerobia do efluente de óleo de oliva (EOO) numa série por batelada. Não foi notada nenhuma inibição nas populações microbianas anaeróbias com o efluente de óleo de oliva tratado. A partir do consórcio mais ativo, nove cepas diferentes de bactérias foram isoladas e elas demonstraram ser capazes de crescer em compostos aromáticos simples. Uma remoção de 50% da DQO inicial e degradação de quase todos os compostos aromáticos simples provenientes dos efluentes de óleo de oliva não diluídos, foi obtido com misturas de bactérias reconstituídas. Uma leve redução na coloração foi obtida devido a adsorção de compostos coloridos nas células bacterianas. Presumivelmente, o consórcio não poderia reduzir e degradar os compostos coloridos no EOO.

3.4.1.1. *Bacillus*

INAMORI *et alii*. citados por (CHIESA & MANNING, 1984) utilizaram uma cepa especial de *Bacillus*, que demonstrou ser eficaz no tratamento de efluentes que contém amido. Esta linhagem foi utilizada no 1º bioreator, para reduzir a carga orgânica que se direcionava ao 2º estágio do tratamento (sistema de lodo ativado).

MALLADI & INGHAM (1993), pesquisaram a digestão termófila aeróbia das águas residuárias, resultantes da operação no processamento de batatas, as quais são caracterizadas por sua alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e sólidos suspensos totais (SST). Quatro bateladas destas águas foram coletadas a cada duas semanas. Após sedimentação por 1 hora e subsequente decantação, o sobrenadante teve uma DBO₅ variando de 620 a 1743 mg/l e SST variando de 0,31 a 0,49 mg/ml. A digestão termófila aeróbia (55°C, 0,6 litros ar/min)

predominantemente por *Bacillus spp.* diminuiu a DBO e os sólidos suspensos totais do sobrenadante de 98 e 75% respectivamente em 96 horas.

KODAMA *et alii.* (1981), examinaram o tratamento dos efluentes provenientes de uma cervejaria de “sake”, pelo uso de bactérias aeróbias em combinação com um processo de lodo ativado. As águas utilizadas para a lavagem de arroz foram responsáveis por quase 50-70% das substâncias poluentes totais. Algumas cepas, como por exemplo *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Nocardia* e *Bacillus*, foram selecionadas dos isolados, visto que, as mesmas cresceram espontaneamente em águas de lavagem de arroz. A DQO nestas águas foram reduzidas em 60-70%, a redução no sobrenadante foi de 82-91%. As águas residuárias de lavagem com 1400-1900 ppm de DQO foram tratadas pelo método bacteriano para reduzir a DQO a 400 - 600 ppm Finalmente, o efluente foi tratado pelo processo de lodo ativado para reduzir a DQO a 12 -22 ppm.

3.4.2. Leveduras

O uso de leveduras também tem um papel importante na diminuição da poluição ambiental. MARWAHA *et alii.* (1988) avaliaram o potencial de 3 leveduras que metabolizam lactose, sob condições não estéreis, *Candida pseudotropicalis*, *Saccharomyces fragilis* e *Kluyveromyces marxianus* NCYC 179 na remoção de DBO₅ e DQO de efluentes da indústria leiteira. *C. pseudotropicalis* cultivada sob condições não estéreis manteve a máxima diminuição dos poluentes da indústria de leite (DBO₅ e DQO). Dados sobre a padronização das características das linhagens cultivadas a temperatura de 30°C, pH 5,5 e tempo de 24 horas de inóculo foram consideradas ótimas para o tratamento efetivo de águas residuárias de laticínios. No uso de procedimentos de imobilização, 40g de peso seco de células por litro foi a concentração celular de operação ótima para imobilização em matriz alginato. Sulfato de amônia e extratos de leveduras suplementares de 0,1% e 0,6% respectivamente, melhoraram a habilidade de células imobilizadas de leveduras na realização do tratamento. *Candida pseudotropicalis* imobilizada em alginato e cultivada sob condições ótimas de processo foi capaz de diminuir os poluentes a limites satisfatórios (DBO₅ a 20 °C; 30mg/l, DQO 250mg/l) como especificado pelo órgão responsável pela fiscalização.

CASTLLA *et alii.* (1984), utilizaram em seus estudos cepas de *Candida* e *Paecilomyces* para remoção da DQO em efluentes provenientes de vinhaça de cana de açúcar. Os autores utilizaram um processo aeróbio contínuo de 2 fases. Na primeira fase o vinhoto original foi utilizado para o crescimento de *C. utilis* e o sobrenadante resultante deste processo foi utilizado como meio para a segunda fase, onde uma cepa de *Paecilomyces variotii* cresceu sem adição de nutrientes. Foi alcançada uma redução de 87% na DQO e um rendimento de biomassa pelos dois microrganismos de 2,3 - 2,6 g/l /hora.

O uso de fungos no tratamento de efluentes, não só pode levar a uma diminuição na DQO, mas também pode ser usado vantajosamente na produção de matéria rica em material orgânico. Segundo MANILAL *et alii.* (1991), os fungos *Endomycopsis fibuliger* e *Candida utilis* foram utilizados para a produção de proteína unicelular através da fermentação submersa de um efluente de uma fábrica de amido de mandioca. A atividade amilolítica de *E. fibuliger* promoveu um aumento na velocidade de crescimento de *C. utilis*, desta forma houve uma remoção eficaz amido e açúcares livres do efluente após 28 horas de incubação sob condições específicas. Em decorrência disto, ocorreu uma redução de 91% na DBO e 94% de redução na DQO, e produção de níveis úteis de biomassa protéica (ex. 20g/100 ml de efluente após 96 horas de incubação).

KARIM & SISTRUNK (1985) estudaram a possibilidade do uso de certas cepas de leveduras na redução da alta carga orgânica das águas residuárias do processamento de batatas e a recuperação da biomassa. Uma redução efetiva na DQO foi conseguida nos efluentes originários de batatas cozidas descascadas e dos líquidos provenientes das mesmas, através de tratamento alcalino e fermentação com *Saccharomyces fibuliger* ATCC 9947. A DQO da água residuária fermentada ativamente provindas de águas das batatas descascadas pelo tratamento alcalino foi reduzida a 69, 79 e 85% dos valores iniciais após 24, 48 e 72 horas de fermentação, respectivamente. O efluente originário do descascamento por vapor das batatas foi reduzido em 85% do valor inicial da DQO após 24 horas de fermentação, já para as amostras centrifugadas foram obtidas as maiores reduções na DQO correspondente a 93%. A parte sólida das leveduras recuperadas do efluente fermentado de batatas cozidas descascadas variou de 1,55 a 2,0 g/l (peso seco), após 6 -28 horas de fermentação e teve um conteúdo bruto protéico de 29-31%.

Leveduras são citadas por SAITO *et alii.* (1983a), como capazes de reduzir a DQO de águas residuárias provenientes da destilação de “kokuto - shochu”. Estes microrganismos foram isolados num teste de isolamento a temperaturas relativamente altas. A levedura mais predominante foi identificada como *Hansenula fabianii*, que reduziu 40% dos compostos orgânicos totais na água residuária à temperatura de 37,5°C, porém, foi observado que ela quase não teve qualquer efeito sob os conteúdos protéicos, ácidos graxos (cadeia longa) e gorduras. Em outro trabalho publicado por SAITO *et alii.* (1983b) foi realizado um teste de “screening” sob condições ácidas para seleção de leveduras, onde foram isoladas leveduras capazes de reduzir a DQO de águas residuárias, provenientes da lavagem de arroz. A levedura mais predominante, identificada como *Hansenula anomala*, reduziu 40% dos compostos orgânicos totais, dando um efluente com DQO de aproximadamente 80 ppm.

YIAO (1988) menciona em seu trabalho que as indústrias que produzem glutamato monossódico liberam grande quantidade de água residuária que escoam todos os dias. Este líquido é rico em matéria orgânica e tem um pH baixo. Ele pode levar a poluição do meio ambiente, se for escoado sem algum tratamento. Este poluente industrial é um bom meio para a cultura de microrganismos. YIAO utilizou cinco tipos de leveduras para tratar estes efluentes. A levedura *Candida tropicalis* foi a que apresentou resultados mais satisfatórios, sendo que a DQO e DBO foram reduzidas em 69% e 54%, respectivamente, enquanto que a produção de proteína unicelular continha 54,4% de proteína.

A produção de proteína unicelular foi estudado por SHYU & CHEN (1996), como um meio para solucionar os problemas associados com a disposição de efluentes com altas concentrações de sais produzidas pelas indústrias de frutas e vegetais em conservas. Foram coletados efluentes e águas residuárias das salmouras provenientes das fábricas de conservas. Uma média diária da produção total de efluente foi de 5,5 toneladas com uma demanda química de oxigênio de 76.363 mg/l e uma relação DBO/DQO de 0,78-0,84. As cepas *Candida tropicalis*, *Candida utilis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* e *Saccharomyces cerevisiae* foram testadas. *K. marxianus* tolerou uma concentração de NaCl de 18%. Os resultados indicaram um pH de 4,2 e uma relação de carbono/nitrogênio igual a 14, como os requerimentos ótimos tanto para as características do resíduo como o crescimento das leveduras. Níveis máximos de 13 e 7 g de peso seco da massa

celular/litro foram obtidos quando a salmoura continha concentrações de NaCl de 3 e 13% respectivamente. Devido a alta relação DBO/DQO 83% da DQO total poderia ser removido em um único tratamento.

Também na indústria cervejeira encontra-se o uso de microrganismos com a finalidade de reduzir problemas associados com a disposição dos resíduos de cerveja e dos líquidos que saem da compressão dos grãos. O crescimento da levedura *Candida sp.* nestes efluentes foi estudado por um autor anônimo (BIOCONVERSION of...,1985), com o intuito de verificar a possibilidade da diminuição destes problemas. A composição química e os conteúdos de DQO e DBO dos efluentes foram tabulados e o crescimento contínuo e não contínuo da cultura foi registrado. A carga poluente no efluente foi reduzida a 75-90% após tratamento com *Candida spp.* sob condições assépticas, e com isso, pode-se afirmar que a tecnologia descrita é imediatamente aplicável em escala industrial. Acredita-se que todos os efluentes de cervejaria poderiam ser purificados utilizando-se tal técnica, para produzir forragem animal e água residuária não poluidora.

3.4.3. Fungos filamentosos

Desde o começo deste século a utilização dos fungos tem sido associada aos produtos de fermentação incluindo antibióticos, enzimas e uma gama de derivados bioquímicos. Além da aplicação destes microrganismos em indústrias de fermentação, novos aspectos biotecnológicos tem sido explorados, inclusive de caráter ambiental, como o tratamento de resíduos líquidos e a biorremediação de solos poluídos (WAINWRIGHT, 1990).

KARIM & SISTRUNK (1984) citam em seu trabalho que CHURCH *et alii.*, selecionaram linhagens de *Trichoderma viride*, *Gliocladium deliquescens* e *Aspergillus oryzae*, como os fungos mais apropriados para a redução da DBO₅ de resíduos processados de milho e soja não estéreis entre 21 cepas de 11 diferentes gêneros de fungos. O processo foi adaptável a uma fermentação contínua. Neste trabalho, a manutenção de outras cepas de fungos como organismos dominantes pode ser alcançado pelo uso de um inóculo concentrado, pH de 3,0 a 4,0 e alimentação a uma taxa alta, suficiente para evitar que a cultura chegue a fase estacionária. A massa micélica continha grandes conteúdos de lisina, treonina e triptofano

e foi usada com sucesso nos testes de alimentação em ratos. A inoculação de *Trichoderma viride* em resíduos de enlatados de milho numa planta piloto de sistema contínuo de fermentação com capacidade de 41,8 litros, levou a uma remoção de 96% na DBO, 88% de remoção na DQO e 93% de remoção do carbono orgânico total. O tempo de residência foi de 18-22 horas e a variação na temperatura de 18-35 °C. A produção de micélio em peso seco foi equivalente, a aproximadamente 50% da DBO₅ de alimentação e o conteúdo de nitrogênio foi equivalente a 50% de proteína. O requerimento de oxigênio foi somente 0,2 -0,3 Kg O₂ dissolvido /Kg DBO₅ removido. *G. deliquescens* foi o organismo mais efetivo para os resíduos de soja contendo altas concentrações de SO₂.

Conforme o tipo de efluente, pode se ter diferentes tipos de microrganismos que melhor reduzam a carga poluente. BEUCHAT *et alii.* (1978) estudaram o crescimento de *Neurospora sitophila* em efluentes alcalinos oriundos das operações de processos de nabo sueco, batata e pêssago. Através da realização de uma fermentação submersa a 30°C, foi observada uma redução de DQO de 42-68% dos valores iniciais para águas residuárias provenientes do descascamento e de 17-25% nas águas de enxágüe após 4 dias. Este procedimento na redução da DQO seria de interesse como uma técnica de pré tratamento, para as fábricas que lançam seus efluentes, provenientes das operações de processamento de frutas e vegetais, nos sistemas de tratamento municipal.

KARIM & SISTRUNK (1984) encontraram também que o uso de certas cepas selecionadas de fungos poderiam reduzir a DQO de efluentes provenientes do descascamento de batatas pelo vapor. O fungo *Neurospora sitophila* NRRL 2884 demonstrou-se ser efetivo na redução da demanda química de oxigênio, promovendo diminuição de 69 e 90% do valor original após 24 e 48 horas de fermentação, respectivamente.

HIRAMATH citado por WAINWRIGHT (1990) fez uso de 7 espécies de fungos isolados de uma lagoa de estabilização. O esgoto tratado apresentou reduções satisfatórias nos níveis de DBO, fosfatos e amônia.

KIDA *et alii.* (1995), notaram que o tratamento biológico foi um método alternativo (ao invés de se despejar o efluente no mar) e eficiente para o tratamento de águas residuárias

provenientes de destilaria de fabricação de shochu (bebida alcoólica tradicional no Japão), os quais apresentaram um alto conteúdo de matéria orgânica e sólidos suspensos. *Aspergillus awamori* var. *kawachi* foi cultivado aerobicamente a 35°C em água residuária da destilaria mencionada, durante período de um dia sob agitação em fermentador (volume útil de 18 litros). As concentrações de DBO e íon fosfato no filtrado do meio cultivado foram reduzidas drasticamente, sendo os valores correspondentes a 56% e 80%, respectivamente.

3.4.3.1. Fungo *Aspergillus niger*

Existem muitos trabalhos relacionados ao fungo *Aspergillus niger*. Em 1975, HANG *et alii.* demonstraram que *A. niger* era capaz de converter, rapidamente, 97% do açúcar proveniente de líquidos dos grãos utilizados na cervejaria em massa fúngica. A produção de micélio seco, baseado no açúcar consumido foi de aproximadamente 57%. Este fungo produziu 1,10% de ácido titulável como ácido cítrico e reduziu a demanda bioquímica de oxigênio em 96%.

LAMO & MENEZES (1979) realizaram estudos quanto ao uso de água residuária provenientes do processamento de mandioca, como substrato para produção de biomassa fúngica e o uso desta como alimento. Foram feitos testes com *Aspergillus niger*, *Gliocladium deliquescens*, *Trichoderma viride*, *Penicillium elegans* e *Aspergillus oryzae*. Foram citados dados relativos a composição da água residuária antes da produção da biomassa, redução da DBO e DQO por várias espécies de fungos, produção de peso seco, cinética da fermentação e conteúdo protéico da biomassa produzida. Os resultados mostraram que a cultura de *G. deliquescens* reduziu a carga orgânica da água residuária em aproximadamente 80% e produziu biomassa contendo 35% de proteína. *A. oryzae* embora tenha proporcionado menores índices de redução de DQO, apresentou biomassa com teor mais elevado de proteína.

NUDEL *et alii.* (1987) descreveram o tratamento aeróbio de vinhaça, com culturas puras e mistas para a produção de biomassa e redução da DQO. Os microrganismos utilizados foram *Candida utilis* NRRL 1097 (variante principal), *Paecilomyces varioti* ATCC 11971, *Saccharomycopsis lipolitica*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus sp.*, *Azotobacter vinelandii* NRRL B 4207 e B- 4204, *Azotobacter chroococcum*

NRRL B 488, *Brevibacterium flavum* ATCC 21269 e *Corynebacterium acetoacidophilum* ATCC 21270. Os meios usados para a fermentação foram vinhaça não suplementada e suplementada com 5g/l de sulfato de amônia e 0,5g/l de fosfato de potássio hidrogenado. O pH foi ajustado a 5, exceto para *Corynebacterium* e *Brevibacterium* spp. onde ele foi de 6,5 e 7,0. Proteína unicelular com concentração de 9-23 g/l foram obtidas com redução na DQO de 30-65% em culturas por bateladas. Com o emprego de *C. utilis* e *A. niger* em cultura contínua de duas fases, o máximo de redução na DQO alcançada foi de 89%. Esta cultura mista, talvez tenha alguma aplicação para disposição de vinhaça.

O tratamento do soro de mandioca com *Aspergillus niger* foi estudado por IKENEBOMEH & CHIKWENDU (1990) como um meio para a disposição de resíduos. Foram utilizados diversos meios de cultura para o crescimento de cepas submersas de *A. niger*. As porcentagens de redução em DQO e DBO foram de 69,7 e 54,5 respectivamente, para soro de mandioca não suplementado com sais.

HAMDÍ *et alii.* (1991), utilizaram efluentes provenientes dos moinhos de óleo de oliva para produção de proteína em experimentos de pequena escala. Foi utilizado meio não estéril sem controle de pH. A fermentação de *Aspergillus niger* nestes efluentes foi capaz de remover 61% da DQO, reduziu 58% dos compostos fenólicos totais e levou a produção de 14g/L de proteínas. A remoção dos compostos fenólicos resultou numa mudança na coloração do efluente de preto para marrom.

Como uma forma de diminuir o problema de poluição ambiental EL- SAMRAGY *et alii.* (1993), utilizaram duas cepas de *Aspergillus niger* para a produção de ácido cítrico, através da utilização do soro salgado (substrato) proveniente do processo de fabricação de queijo DOMIATI, que é um tipo de queijo macio produzido no Egito. Ao soro esterilizado e desproteínizado foram adicionadas diferentes concentrações de sal (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12%) sendo logo após, inoculado com *A. niger* CAIM111 ou CAIM 167 e incubado por 15 dias a 30°C. As amostras foram analisadas em intervalos de 3 dias para verificação da concentração de ácido cítrico, DQO e DBO. A fermentação do soro salgado por ambas cepas reduziu a DQO e DBO do substrato, cujas reduções diminuíram com o aumento na concentração de sal. Uma desproteínização do soro antes da fermentação contribuiu para abaixar a DBO e DQO.

Deste modo, foi possível concluir que a fermentação pode ser usada para reduzir a carga poluidora do soro salgado e que o soro é um substrato adequado para fermentação do ácido cítrico por *A. niger*.

HAMDI & GARCIA (1993) mencionam em seu trabalho que a baixa produção de metano proveniente dos moinhos de óleo de oliva, o qual são caracterizados pelas altas concentrações na demanda química de oxigênio, são causados pela presença de compostos inibitórios nestes efluentes industriais. Isto inclui taninos, compostos fenólicos e óleos os quais são tóxicos as bactérias metanogênicas. Eles estudaram o efeito do crescimento de *Aspergillus niger* nestes efluentes não diluídos e encontraram reduções de DQO e de substâncias fenólicas de 61 e 58%, respectivamente. Este efluente tratado foi detoxificado para as bactérias metanogênicas, as quais cresceram facilmente neste meio. Este pré tratamento aeróbio proporcionou um novo meio para a degradação de efluentes provenientes dos moinhos de óleo de oliva, antes da digestão anaeróbia.

3.4.3.2. Fungo *Aspergillus fumigatus*

A presença de *Aspergillus fumigatus* no processo de fabricação de cerveja foi notada por GYLLANG *et alii* (1977). Eles mencionam em seu trabalho, que *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus amstelodami* aparecem nos grãos de cereais, como a cevada, durante a germinação na fábrica de malte. Estes microrganismos podem causar borbulhamento na cerveja. O trabalho dos autores citados, foi pesquisar se estes fungos presentes na cevada, também provocavam um aumento em outras mudanças qualitativas na cevada e mosto, como quantidade de nitrogênio solúvel, redução da viscosidade e alteração da cor das amostras do mosto.

De acordo com OHMOMO *et alii*. (1987), o fungo *Aspergillus fumigatus* demonstrou ser eficiente tanto na descolorização de águas residuárias de melaços, como também na redução da DQO em 51% e em 56% do carbono orgânico total da solução inicial.

O fungo *Aspergillus fumigatus* também foi estudado em trabalho descrito por ABD ALLA & MAHMOUD (1994), onde foi examinado a liberação de açúcares redutores e

proteínas brutas, formados através do crescimento microbiológico em diferentes resíduos de plantas como: serragem, casca de amendoins, folhas de cana de açúcar e bagaço de cana de açúcar. Nestes resíduos além do tratamento com *Aspergillus fumigatus*, foram também utilizados *Penicillium oxalicum*, *Thermoascus aurantiacus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Streptomyces viridosporus* e *Streptomyces roseiscleroticus*. Desta forma, os autores puderam concluir que tais microrganismos, talvez possam produzir proteínas adicionais e valiosas para o uso humano.

3.5. Imobilização

O tratamento biológico de efluentes tem sido praticado de diversas formas desde o início deste século. Contudo, somente recentemente é que o processo de células imobilizadas tem sido estudado e aplicado na redução da poluição das águas por pesquisadores e engenheiros (TYAGI & VEMBU, 1990). Segundo estes autores, a imobilização pode ser definida como qualquer técnica que limite o movimento livre das células.

Os 2 principais tipos de imobilização segundo SCOTT (1987) são:

(1) Adesão; os microrganismos aderem a uma superfície ou a outros microrganismos por adesão própria, ou ligação química.

(2) Aprisionamento; os microrganismos são capturados nos interstícios de materiais fibrosos ou porosos, ou ainda por um sólido ou material poroso como um gel estabilizado ou membrana.

A imobilização de células tem sido usada ou pesquisada para muitas aplicações na área de biomédica, de biosensores, de química aplicada, de macromoléculas etc.

A imobilização apresenta a vantagem de que uma elevada concentração de biomassa pode ser retida em um reator por elevados períodos de tempo. Embora praticamente todos os microrganismos tenham o potencial de se aderirem a um suporte, através da produção de

polímeros extra-celulares que possibilitam a aderência físico-química a superfícies, apenas recentemente a aplicação tecnológica dos processos de sorção celular estão sendo aplicados em uma escala mais ampla e otimizada em vários processo biotecnológicos e no tratamento de esgotos (LUBBERDING, 1995).

Os suportes construídos por filamentos, preferencialmente de resinas sintéticas, podem ser usados para a imobilização de bactérias, leveduras, fungos, actinomycetes, algas e etc. Também podem ser usados para o tratamento de águas residuárias ou produção de etanol, por exemplo, por *Zymomonas mobilis* e ácido cítrico por *Aspergillus niger* por meio de fermentação. Estes suportes podem carregar um grande número de microrganismos com uma boa estabilidade. Os suportes podem ser usados em um reator do tipo leito fluidizado (Patente, 1986).

Outro tipo de imobilização foi citado por KIRKPATRICH *et alii.* (1987), onde a imobilização de *P. chrysosporium* foi feita em cubos de espuma de poliuretana. Esta técnica permitiu a produção de lignina peroxidase em uma base semi-contínua.

3.6. Métodos normalmente utilizados na determinação da carga poluidora de efluentes industriais

No projeto de uma estação de tratamento, normalmente não há interesse em se determinar os diversos compostos dos quais a água residuária é constituída. Isto, não só pela dificuldade em se executar vários destes testes em laboratório, mas também pelo fato dos resultados não serem diretamente utilizáveis como elementos de projeto e operação. Assim, é preferível a utilização de parâmetros indiretos, que traduzam o caráter ou o potencial poluidor do despejo em questão. Tais parâmetros definem a qualidade dos esgoto, podendo ser divididos em três categorias: parâmetros físicos, químicos e biológicos (VON SPERLING, 1996). Um destes parâmetros são os indicadores de matéria orgânica, que podem ser realizados tanto pela medida do carbono orgânico total (COT), como também pela demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO).

3.6.1. Demanda Química de Oxigênio

É utilizada como uma medida do equivalente do conteúdo de oxigênio presente em uma amostra de matéria orgânica, que é susceptível a oxidação por um oxidante químico forte. Para amostras vindas de uma fonte específica a DQO pode ser correlacionada empiricamente à DBO, carbono orgânico ou matéria orgânica (GREENBERG *et alii.*, 1992).

Para determinação da DQO a técnica de micro digestão descrita por JIRKA & CARTER (1975) vem sendo utilizada em indústrias. Para complementar este método é realizada uma medida espectrométrica automatizada da aparição de Cromo +3 após digestão da amostra. Para medir o valor da DQO em uma faixa de 3-900mg/L a sensibilidade adequada é possível de ser obtida a um comprimento de onda de 600nm, por meio do uso de uma célula de 50 mm. O método semi automatizado é comparado ao método padrão no que diz respeito a precisão, exatidão, facilidade de análise, e comparação dos dados.

3.6.2. Demanda Bioquímica de Oxigênio

Outro teste amplamente utilizado é a DBO, que consiste em medir o oxigênio utilizado durante um período específico de incubação, para a degradação bioquímica da matéria orgânica e para sua utilização na oxidação de material inorgânico, como íons sulfeto e ferroso. Ele também pode servir para medir o oxigênio utilizado na oxidação de formas reduzidas do nitrogênio (demanda de nitrogênio), se isto não for evitado pelo uso de um inibidor, (GREENBERG *et alii.*, 1992).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Materiais

4.1.1. Pontos de amostragem da estação de tratamento de efluentes (ETE):

Ef₁: Tanque de equalização

Ef₂: Tanque de acidificação

Ef₃: Saída dos reatores

Ef₄: Saída dos reatores, entrando na lagoa de aeração.

Ef₅: Retorno do lodo a lagoa aerada

Ef₆: Efluente que sai da lagoa aerada

4.1.2. Microrganismos utilizados

a) Linhagens (bactérias, leveduras e fungos) que foram isoladas dos diversos pontos de amostragem da ETE de uma cervejaria da região de Campinas - S.P.

b) Culturas pertencentes à coleção do Laboratório de Sistemática e Fisiologia Microbiana (L.S.F.M.) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP):

Aspergillus fumigatus; *Aspergillus niger*; *Lentinula edodes*; *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus sajor - caju*.

4.1.3. Meios de cultura e soluções utilizadas

4.3.1. Meio Nutriente (Ágar e Caldo)

4.3.2. Meio Extrato Malte

4.3.4. Glicose, extrato de levedura e peptona (GYP)

4.3.5. Agar Batata Dextrose (PDA)

4.1.3.1. Meio com Efluente (RAPP & BACKHAUS, 1992).

MgSO ₄ 7 H ₂ O	0,5g/l
KH ₂ PO ₄	1g/l
NaNO ₃	3g/l
Extrato de Levedura	1g/l
Peptona	0,3g/l
Efluente	1,5%
Agar	2,0%

4.1.3.2. Reagentes utilizados:

Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO):

-HgSO₄

- H₂SO₄ (concentrado) + AgSO₄- 0,03M

- K₂Cr₂O₇-1N

Determinação de nitrogênio:

- H₂SO₄ (concentrado)

- H₂O₂ - 30%

- KOH

- álcool polivinil

- estabilizante natural
- Reagente de Nessler

Sal utilizado como fonte de nitrogênio:

- $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$

Colorações utilizadas:

Coloração Scaeffér - Fulton

Coloração de Gram

4.1.4. Aparelhagem utilizada:

- Agitator rotatório, marca New Brunswick Scientific
- Câmara de fluxo laminar, marca Veco
- Centrífuga, modelo Himac CR 21, marca Hitachi.
- Digestor DR- 2000 - Hach
- Espectrofotômetro DR/ 2000
- Espectrofotômetro ultravioleta/visível, modelo Spectronic 20, marca Bausch & Lomb
- Digesdahl
- Equipamento de uso comum em laboratório: balança analítica, autoclave, estufas, pHmetros, etc.

4.2. MÉTODOS

4.2.1 Isolamento de microrganismos

Foram isoladas linhagens de bactérias, leveduras e fungos provenientes de amostras coletadas de 6 diferentes pontos (Ef_1 ; Ef_2 ; Ef_3 ; Ef_4 ; Ef_5 e Ef_6) da estação de tratamento de efluentes de uma cervejaria da região de Campinas, S.P. conforme mostrado na figura 2. As amostras foram coletadas e acondicionadas em frascos plásticos previamente esterilizados.

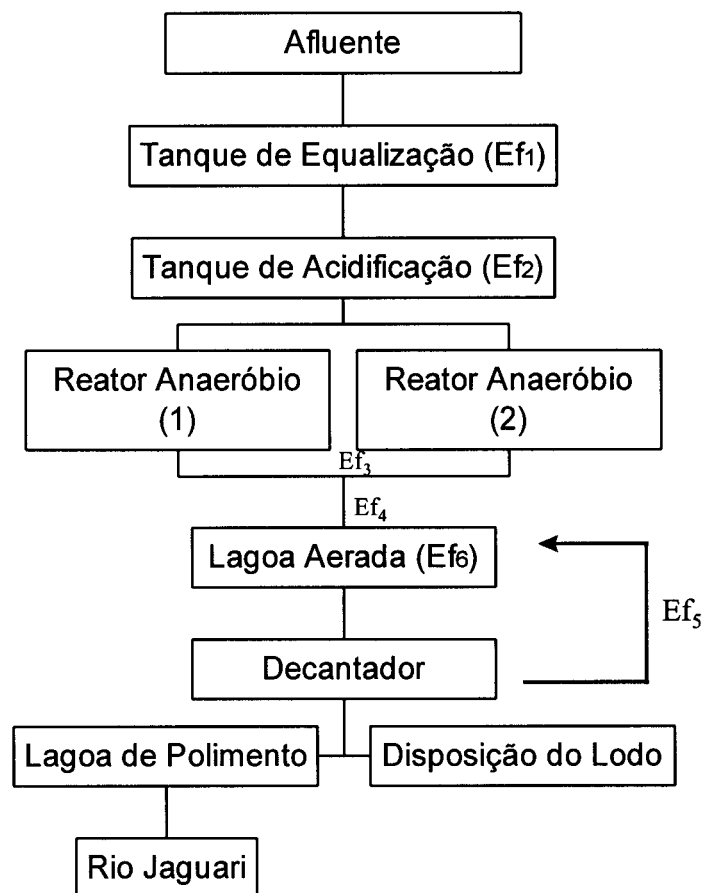


Figura 2. Fluxograma da Estação de Tratamento de Efluentes

Ef_3 : Saida dos reatores 1 e 2.

Ef_4 : Saida dos reatores 1 e 2, entrando na lagoa de aeração.

Ef_5 : Retorno do lodo a lagoa aerada.

Para o isolamento dos microrganismos acima citados, foram utilizados os meios: Extrato Malte, Ágar Nutriente e também o meio descrito no item 4.1.3.1., contendo amostras dos efluentes Ef_1 , Ef_2 , Ef_3 , Ef_4 , Ef_5 e Ef_6 onde o último teve seu pH ajustado em 4,8 e 7,0 com HCl ou NaOH. As amostras coletadas dos seis diferentes pontos da estação de tratamento de efluentes foram diluídas e inoculadas na superfície dos meios e incubados às temperaturas de 30°C e 37°C. As bactérias isoladas foram mantidas em meio nutriente ágar, as leveduras em extrato malte e os fungos em ágar batata, sendo conservados sob refrigeração.

4.2.2. Pré seleção de microrganismos

A pré seleção das linhagens foi realizada inoculando-se os microrganismos citados nos itens 4.1.2.(a e b), em placas com 100% do meio Ef_1 adicionado de ágar e ajustado nos diferentes pHs (5,5; 7,0 e 9,5). As placas foram incubadas nas temperaturas de 30°C e 37°C. Os microrganismos que apresentaram crescimento nos três diferentes pHs, foram selecionados para posterior estudo de redução da Demanda Química de Oxigênio.

O meio Ef_1 (tanque de equalização) foi escolhido tanto para a pré seleção dos microrganismos, como também para o estudo na redução da DQO, devido a este ponto ser o primeiro da estação de tratamento de efluentes da cervejaria em estudo, sendo portanto o mais rico em matéria orgânica. Os pHs de 5,5; 7,0 e 9,5 foram escolhidos devido as constantes mudanças na acidez e alcalinidade do tanque de equalização, ou seja, os microrganismos pré selecionados deveriam estar adaptados a estas flutuações.

4.2.3. Preparo dos substratos

O efluente coletado Ef_1 foi devidamente acondicionado em frascos plásticos, conservado em freezer, e descongelado a temperatura ambiente antes de sua utilização.

4.2.3.1. Substrato estéril - meio Ef_1

Erlenmeyers de capacidade 300ml contendo 150ml do efluente Ef_1 foram ajustados nos diferentes pHs de estudo (5,5; 6,5; 7,5; 8,5 e 9,5) com H_2SO_4 ou NaOH e esterilizados à temperatura de 115°C por 15 minutos, (VASSILIADS, 1983). A escolha desta temperatura e

tempo de esterilização abaixo da normalmente empregada (121°C, 20 minutos), foi realizada com o intuito de se evitar ao máximo alterações químicas no meio efluente Ef₁.

4.2.3.2. Substrato bruto (não estéril) - meio Ef₁

Para o estudo da influência da microbiota natural do efluente Ef₁ bruto (não estéril), na remoção da DQO, foram utilizados erlenmeyers previamente esterilizados onde as condições de pH e temperatura foram as mesmas descritas no item 4.2.3.1.

4.2.4. Condições de cultivo

As linhagens pré selecionadas de fungos, leveduras e bactérias foram cultivadas no meio Ef₁, em Erlenmeyers de capacidade 300ml contendo 150ml do meio (estéril ou não estéril). O crescimento destas linhagens foi realizada em “shaker” com agitação de 160 rpm a 38 °C em diferentes intervalos de tempo.

A temperatura utilizada foi padronizada na faixa de 38-40°C, isto devido ao fato desta faixa ser a encontrada no tanque de equalização (Ef₁) da cervejaria em estudo, ou seja, procurou-se simular em laboratório as condições encontradas normalmente na estação de tratamento de efluentes da cervejaria em estudo.

4.2.5. Estudos da redução de DQO

4.2.5.1. Bactérias e Leveduras

As linhagens de bactérias e leveduras foram cultivadas em meio Ef₁ estéril ou não conforme descrito no item 4.2.4. Após diferentes tempos de crescimento, amostras centrifugadas (15 minutos/17.000 rpm) ou não foram coletadas e determinada a DQO.

4.2.5.2. Fungos filamentosos

Para a coleta das amostras dos meios Ef₁ estéril ou não estéril cultivados com fungos, em diferentes intervalos de tempos, foi adotado um tempo de sedimentação. Após 15 minutos de repouso, onde as culturas fúngicas sofreram sedimentação, o sobrenadante foi coletado com o auxílio de uma pipeta estéril e transferido para frascos apropriados do digestor HACH para posterior análise de DQO.

4.2.6. Concentração dos inóculos

Os fungos, bactérias e leveduras foram inoculados no meio Ef₁, onde a concentração inicial utilizada foi de 2% (v/v) para os fungos e de 10% (v/v) para as bactérias e leveduras.

4.2.7. Preparo dos inóculos

4.2.7.1. Fungos

Para o preparo do inóculo fúngico foi adicionado 5 ml de água destilada estéril a um tubo de ensaio contendo a cultura crescida na superfície do meio PDA. A seguir, com o auxílio de uma alça foi retirado da superfície do PDA os esporos presentes. Da suspensão obtida 3 ml foram transferidos para erlenmeyers de 300ml contendo 150 ml de meio Ef₁.

4.2.7.2. Bactérias e Leveduras

Para o preparo do inóculo das bactérias e leveduras, as mesmas foram crescidas nos meios caldo nutriente e GYP respectivamente, sendo ativadas três vezes nestes meios, antes da inoculação no meio efluente Ef₁.

4.2.8. Determinação da DQO

Para determinação da DQO as amostras, centrifugadas ou não centrifugadas obtidas dos meios cultivados por bactérias, leveduras e fungos filamentosos (onde foi padronizado o tempo de sedimentação - item 4.2.5.2.) foram coletados com o auxílio de pipetas estéreis 1ml das amostras contidas nos erlenmeyers em intervalos de 0, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas. As alíquotas referidas foram então colocadas em frascos HACH (devidamente limpos e com tampas apropriadas) previamente adicionados de: 0,04 a 0,05 g de HgSO_4 , 2,5ml de uma mistura de H_2SO_4 (concentrado) com AgSO_4 , 0,3 ml de H_2O destilada e 0,5 ml de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Para possibilitar a leitura, 1 ml de água destilada foi acrescentado a cada frasco, os quais foram colocados em um reator, a temperatura constante de 140°C . Após 2 horas nesta temperatura, os frascos foram retirados e a leitura foi realizada no aparelho DR2000 - HACH, em comprimento de onda de 620 nm.

4.2.9. Determinação do Nitrogênio

Foram coletadas amostras provenientes do tanque de equalização (Ef_1) e a concentração de nitrogênio presente foi então determinada, segundo a metodologia descrita por HACH *et alii*. (1985).

O preparo da amostra foi realizado adicionando-se 25 ml de cada uma delas em balões volumétricos de capacidade 100ml e diluídos para 50 ml com água destilada. As amostras diluídas foram transferidas para balões de fundo chato e levadas a um aparelho digestor, onde a cada amostra foi adicionado 4 ml de H_2SO_4 concentrado. Os balões contendo as amostras permaneceram no digestor até 5 minutos após o aparecimento de uma fumaça branca, quando foram adicionados 17 ml de H_2O_2 30%. Decorridos 5 minutos, o aparelho foi desligado e os balões contendo as amostras foram retirados do calor. As amostras contidas nos balões de fundo chato foram transferidas para balões volumétricos e completados para 100ml com água destilada.

A seguir, as amostras de 100 ml foram transferidas para bequers para ajuste do pH de 3,8-4,2 com hidróxido de potássio. Aliquotas de 10 ml de cada solução foram transferidas para provetas de 50 ml, cujo volume foi completado para 50 ml com água destilada. A seguir, a estas soluções foram colocados 3 gotas de estabilizante mineral (Hach), e foi realizado a homogeneização do conteúdo da proveta. Logo após, a este mesmo recipiente foi adicionado 1ml do reagente de Nessler e a leitura foi realizada no comprimento de onda a 460 nm.

4.2.10. Seleção de linhagens com maior capacidade de redução na DQO

As linhagens pré selecionadas no item 4.2.2. foram testadas quanto a eficiência de redução de DQO do efluente Ef_1

Os inóculos para os microrganismos em estudo foram preparados conforme descrito no item 4.2.7. As concentrações de inóculo para estes microrganismos foi feita como citado no item 4.2.6.. O estudo da redução de DQO foi realizado conforme item 4.2.5., com o efluente EF_1 ajustado em pH 7,0 e tempo de crescimento de 48 horas para as bactérias e leveduras e de 72 horas para os fungos filamentosos. A determinação da DQO foi realizada para todas as amostras centrifugadas ou não centrifugadas. A porcentagem de redução de DQO foi medida através da comparação da DQO das amostras com a DQO do controle.

4.2.11. Caracterização morfo-fisiológica e bioquímica da linhagem isolada e selecionada B.49

O microrganismo isolado e selecionado no estudo, com melhor capacidade de redução na DQO, foi designado B.49 e foi identificado de acordo com as características bioquímicas e morfológicas descritas no manual de Bergey (1986) e Mc Faddin (1980).

Para a manutenção da cultura, a mesma foi inoculada em meio Ágar Nutriente inclinado e conservada sob refrigeração.

4.2.12. Caracterização Fenotípica

O API 50 CHB (Biomérieux) utilizado para caracterização fenotípica da linhagem B. 49, contém um sistema de galerias com 49 tipos de carboidratos desidratados.

As galerias acima citadas foram inoculadas com uma suspensão da linhagem em questão, segundo a instrução do fabricante. Durante a incubação, os carboidratos fermentados produziram ácidos com conseqüente diminuição de pH, acarretando uma mudança na coloração inicial dos meios. Os resultados no sistema de galerias foram anotados nos tempos de 24 e 48 horas após incubação e enviados ao laboratório representante da Biomérieux no Brasil, para análise dos resultados.

4.2.13. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef₁ na eficiência da linhagem B.49 (*Bacillus cereus*), do *Pleurotus ostreatoroseus* e do *Pleurotus sajor-caju*, na redução de DQO

Para o estudo da influência do pH inicial do meio de crescimento Ef₁ na eficiência da linhagem B. 49 (*Bacillus cereus*), *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus sajor - caju* na redução de DQO, foram seguidas as metodologias descritas nos itens 4.2.3.1.; 4.2.4. e 4.2.5. Os microrganismos anteriormente citados foram inoculados conforme descrito no item 4.2.6., em frascos erlenmeyers com o meio Ef₁ estéril. Em tempos pré determinados, foram coletadas amostras para realização da determinação da DQO. Para os fungos os tempos selecionados foram 72 e 144 horas e para a bactéria 24 e 48 horas.

4.2.14. Avaliação do tamanho do inóculo e pH inicial do meio de crescimento Ef₁ na redução da DQO pelos fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus*

A avaliação do tamanho do inóculo e pH inicial do meio de crescimento Ef₁ na redução da DQO foram realizadas para os fungos *A. niger* e *A. fumigatus*. Para tanto foram inoculados 1, 2 e 5% da suspensão de esporos dos fungos em meio Ef₁, conforme item 4.2.7.1. A metodologia empregada na redução da DQO foi conforme itens 4.2.3.1.; 4.2.4. e 4.2.5. No tempo 0 e de 72 horas foram coletadas as amostras e realizada as determinações da DQO.

4.2.15. Efeito do tempo de cultivo dos fungos e da cepa de *B. cereus* na redução da DQO

O estudo de redução da DQO frente a diferentes tempos de cultivo no pH inicial do meio de crescimento Ef₁ de maior eficiência de remoção de DQO, foi realizado para *B. cereus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *P. ostreatoroseus* e *P. sajor-caju*, para cujo estudo foi seguida a metodologia descrita no item 4.2.5. Estes microrganismos foram escolhidos por apresentarem resultados mais satisfatórios quando comparado aos outros microrganismos estudados citados no item 4.2.10., quanto a redução na DQO. As condições de cultivo, concentração e preparo do inóculo foram descritas nos itens 4.2.4., 4.2.6. e 4.2.7., sendo que para a cepa de *B. cereus* a concentração de 2% foi equivalente a uma absorção de 0,45 a $\lambda=600\text{nm}$. O valor de pH inicial do meio de crescimento Ef₁ de maior eficiência de redução de DQO, foi obtido nos estudos realizados nos itens 4.2.13. e 4.2.14.

Os tempos de coleta das amostras para as determinações da DQO foram de 0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas para os fungos e de 2 em 2 horas para *Bacillus cereus*.

4.2.16. Estudo da influência da microbiota natural do efluente Ef₁ na redução de DQO por *Bacillus cereus*

O estudo quanto a influência da microbiota natural do efluente Ef₁ na redução de DQO foi realizada para *Bacillus cereus*. Para o estudo as metodologias empregadas foram descritas nos itens 4.2.3., 4.2.4., 4.2.5.1., 4.2.6. e 4.2.7.2. respectivamente. As determinações de DQO foram realizadas nas amostras coletadas (centrifugadas ou não) nos tempos de 0, 24 e 48 horas para todos os pHs em estudo.

4.2.17. Estudo do efeito da adição de uma fonte de nitrogênio ao efluente Ef₁ e sua redução na DQO

O estudo quanto ao efeito da adição de (NH₄)₂SO₄ ao efluente Ef₁ e sua redução na DQO foi realizado para os microrganismos *A. niger*, *A. fumigatus* e *B. cereus*. Para o estudo a metodologia empregada foi descrita nos itens 4.2.3., 4.2.4., 4.2.5., 4.2.6. e 4.2.7. onde o pH do efluente foi ajustado ao pH inicial do meio de crescimento Ef₁ de maior eficiência de redução de DQO de cada microrganismo, conforme descrito nos itens 4.2.13 e 4.2.14, adicionado de diferentes concentrações de sulfato de amônio (0,05%, 0,1% e 0,15%), e inoculados com os microrganismos selecionados. Após o tempo determinado de cultivo, as amostras foram coletadas para as determinações da DQO.

4.2.18. Estudo da influência de uma fonte de nitrogênio na massa fúngica produzida

No tempo de 72 horas foi determinado o peso seco da massa fúngica produzida no efluente Ef₁ (previamente esterilizado, ou não) e pH ajustado ao pH inicial do meio de crescimento Ef₁ de maior eficiência de redução de DQO dos fungos em estudo. Em papéis de filtro Whatman nº 1, previamente pesados, foram filtrados os efluentes (previamente estéreis ou não estéreis) crescidos pelos fungos *A. niger* e *A. fumigatus*, cujo cultivo foi realizado à temperatura de 38 - 39°C sob agitação e com ou sem adição de (NH₄)₂SO₄ no efluente em

estudo. Os filtrados foram colocados em uma estufa a temperatura constante de 80°C. Após 24 horas foi realizada uma nova pesagem. A diferença entre o peso do filtro e o peso do papel de filtro mais o material retido filtrado foi a massa fúngica produzida.

4.2.19. Efeito da associação dos fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus* na redução da DQO

Para o estudo de redução de DQO, pela associação dos fungos *A.niger* e *A. fumigatus* foi empregada a metodologia descrita nos itens 4.2.3., 4.2.4., 4.2.5.2., 4.2.6. e 4.2.7.1. sendo que, os meios de crescimento Ef₁ foram ajustados no pH inicial de maior eficiência de redução de DQO de cada fungo determinados segundo o item 4.2.14.. Foram feitas as associações dos microrganismos em estudo tanto no efluente previamente estéril como não estéril. Os resultados obtidos foram comparados aos observados nos meios, nos quais os fungos foram inoculados isoladamente. Após 72 horas foi medida a redução na DQO.

4.2.20. Efeito da imobilização dos fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus* em espumas de poliuretana, na redução da DQO

Para o estudo da imobilização dos fungos *A. niger* e *A. fumigatus* os esporos foram crescidos e preparados conforme itens 4.2.3.1.; 4.2.4., 4.2.6 e 4.2.7.1.

Cubos de espuma devidamente cortada no tamanho de 1 cm x 1 cm x 1 cm foram lavados diversas vezes com água destilada, autoclavados a temperatura de 121°C por 20 minutos, lavados, pressionados para remoção da água e novamente esterilizados. Frascos erlenmeyers de 1000 ml de capacidade contendo 400 ml do meio Ef₁ ajustado no pH inicial de maior eficiência de redução de DQO foram inoculados com uma suspensão de esporos e adicionados de 80-100 unidades de espuma de poliuretana. Os erlenmeyers foram incubados em agitador à temperatura de 38°C, 200 rpm por 72 horas. Após este período foi observado a imobilização dos fungos em estudo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Isolamento dos microrganismos

Foram isoladas 90 linhagens de microrganismos dos 6 diferentes pontos de amostragem da estação de tratamento de efluentes (E.T.E.), (Figura 2.) da cervejaria em estudo. Os microrganismos isolados e suas distribuição nas diversas fases da E.T.E. estão esquematizados na figura 3. Das 90 linhagens isoladas, 80% foram bactérias, 16% leveduras e 4% fungos.

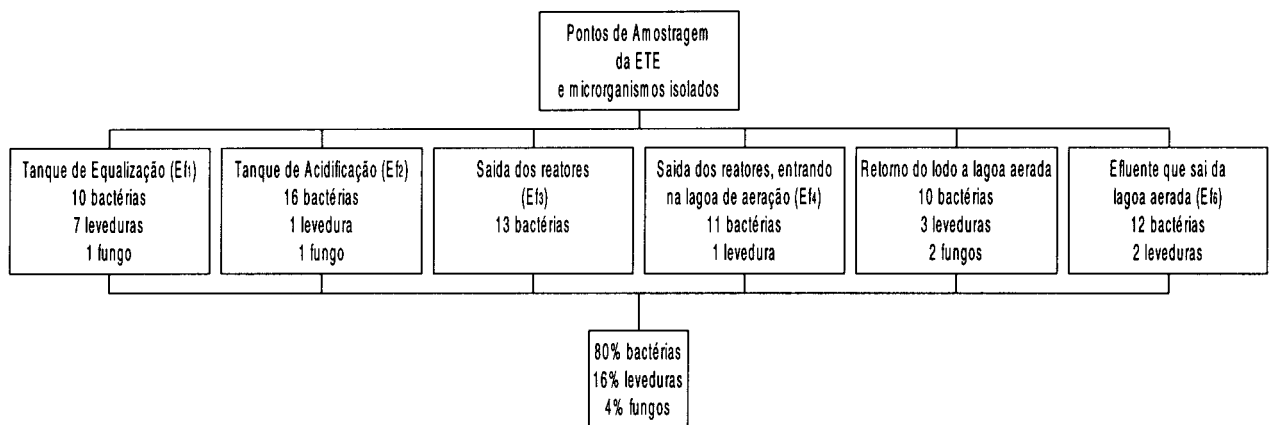


Figura 3. Distribuição dos microrganismos isolados nos diferentes pontos de amostragem da ETE.

5.2. Pré seleção de microrganismos

Foram pré selecionados 26 microrganismos devido à sua capacidade de crescimento em meio contendo 100% do efluente Ef₁ com pH previamente ajustado em 5,5; 7,5 e 9,0 , sendo que 5 pertencem a coleção do L.S.F.M. e 21 foram isolados da E.T.E.

5.3. Seleção de linhagens com maior capacidade de redução de DQO

As linhagens de *A. niger*, *A. fumigatus* e B.49 (isolada da E.T.E.) foram selecionadas por apresentarem maior capacidade de redução de DQO do efluente Ef₁ como mostra a tabela 2 em apêndice. Alguns microrganismos apresentaram valores de DQO superior para as amostras obtidas dos meios Ef₁ cultivados em comparação com aqueles obtidos no tempo 0 hora. Isto talvez decorra da produção de algum metabólito com alta DQO pelas cepas estudadas, como por exemplo, etanol pelas leveduras. JIRKA E CARTER (1975), determinaram a DQO para diversos compostos orgânicos e encontraram diferentes valores como: acetato-207 mg/l; etanol-180 mg/l; dextrose-113 mg/l; metanol-139 mg/l; ácido oxálico-128 mg/l; ácido glutâmico-98 mg/l, etc.

NIETO *et alii*. (1993), estudaram a biodegradação, de resíduos provenientes da extração de óleo de oliva, pelo uso de *Bacillus pumilus* e *Aspergillus terreus* e encontraram que após 48 horas de fermentação, *B. pumilus* começou a produzir novos compostos fenólicos e deste modo houve um aumento da DQO. Com *A. terreus* este fenômeno ocorreu somente após 6 dias e deste modo 4 dias foi o tempo utilizado como sendo o período máximo de fermentação que atingiu a degradação ótima.

Para a seleção dos microrganismo, sumarizada na figura 4, foi realizado o crescimento destas linhagens no efluente Ef₁ de acordo com o método descrito no item 4.2.10., as medidas da DQO foram feitas como descrito no item 4.2.8.

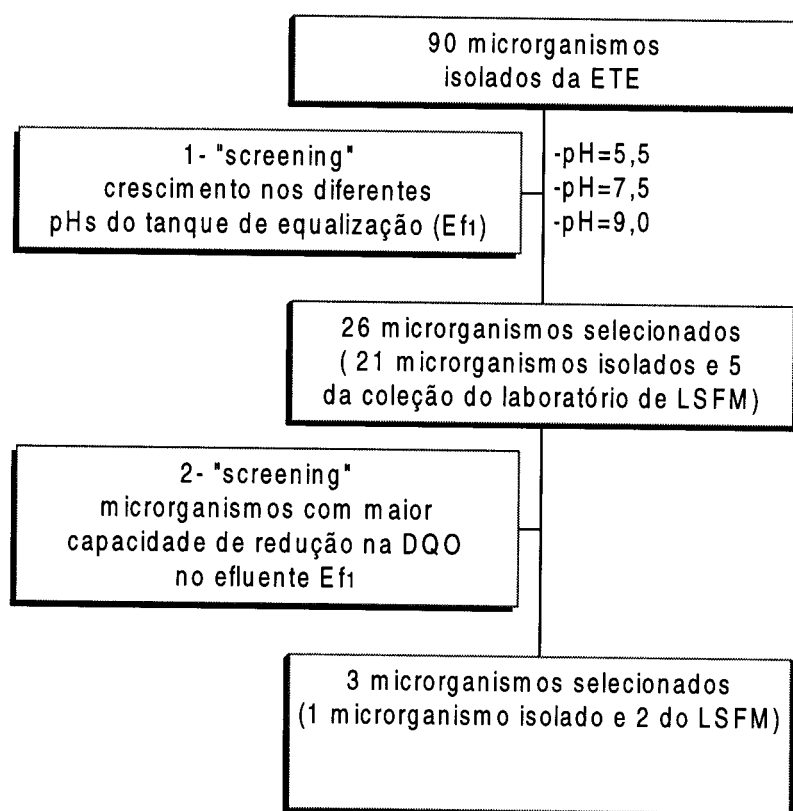


Figura 4. Seleção de microrganismos com maior capacidade de redução de DQO do efluente Ef₁.

5.4. Caracterização morfo - fisiológica e bioquímica da linhagem selecionada e isolada B.49

A linhagem B.49 isolada do tanque de equalização (Ef₁) da estação de tratamentos de efluentes da cervejaria em estudo, foi a que apresentou a melhor capacidade de redução de DQO do efluente Ef₁. De acordo com as características morfofisiológicas descritas pelo manual de Bergey (1986) e Mac Faddin (1980), esta linhagem foi identificada como *Bacillus cereus*. As características morfológicas estão descritas na tabela 3, em apêndice.

5.5. Caracterização fenotípica (API)

Para confirmar a identificação da cepa B.49, fez-se o teste de fermentação dos carboidratos pelo kit API 50 CHB. Após 24 e 48 horas foram realizadas as leituras que se baseiam na mudança de coloração. Os resultados representados na tabela 4, em apêndice, foram enviados ao laboratório responsável Biomerieux no Brasil, e o microrganismo foi confirmado como sendo *Bacillus cereus*, com 99,9% de testes concordantes.

5.6. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef₁ na eficiência de *Bacillus cereus*, *P. ostreatoroseus* e *P. sajor - caju* na redução de DQO

A influência do pH inicial do meio de crescimento Ef₁ na eficiência de *B. cereus* na redução de DQO está ilustrada nas tabelas 5a e 5b em apêndice e nas figuras 5a e 5b.

Foi verificado neste experimento que as melhores reduções da DQO foram alcançadas no tempo de 24 horas para as amostras centrifugadas e não centrifugadas para todos os pHs estudados. O melhor resultado para redução da DQO foi de valor 84,72% no pH inicial do meio de crescimento Ef₁ ajustado em 6,5 conforme ilustrado na tabela 5(a) em apêndice.

No tempo de 48 horas houve um aumento no valor de DQO, isto talvez se deva a produção de algum metabólito secundário.

As amostras obtidas dos meios Ef₁ cultivado com *B. cereus* e centrifugadas (Figura 5a e Tabela 5a em apêndice) quando comparadas com as não centrifugadas (Figura 5b e Tabela 5b em apêndice) obtiveram as maiores reduções de DQO para todos os pHs nos tempos de 24 e 48 horas, isto se deve a eliminação das células e sólidos suspensos do meio analisado.

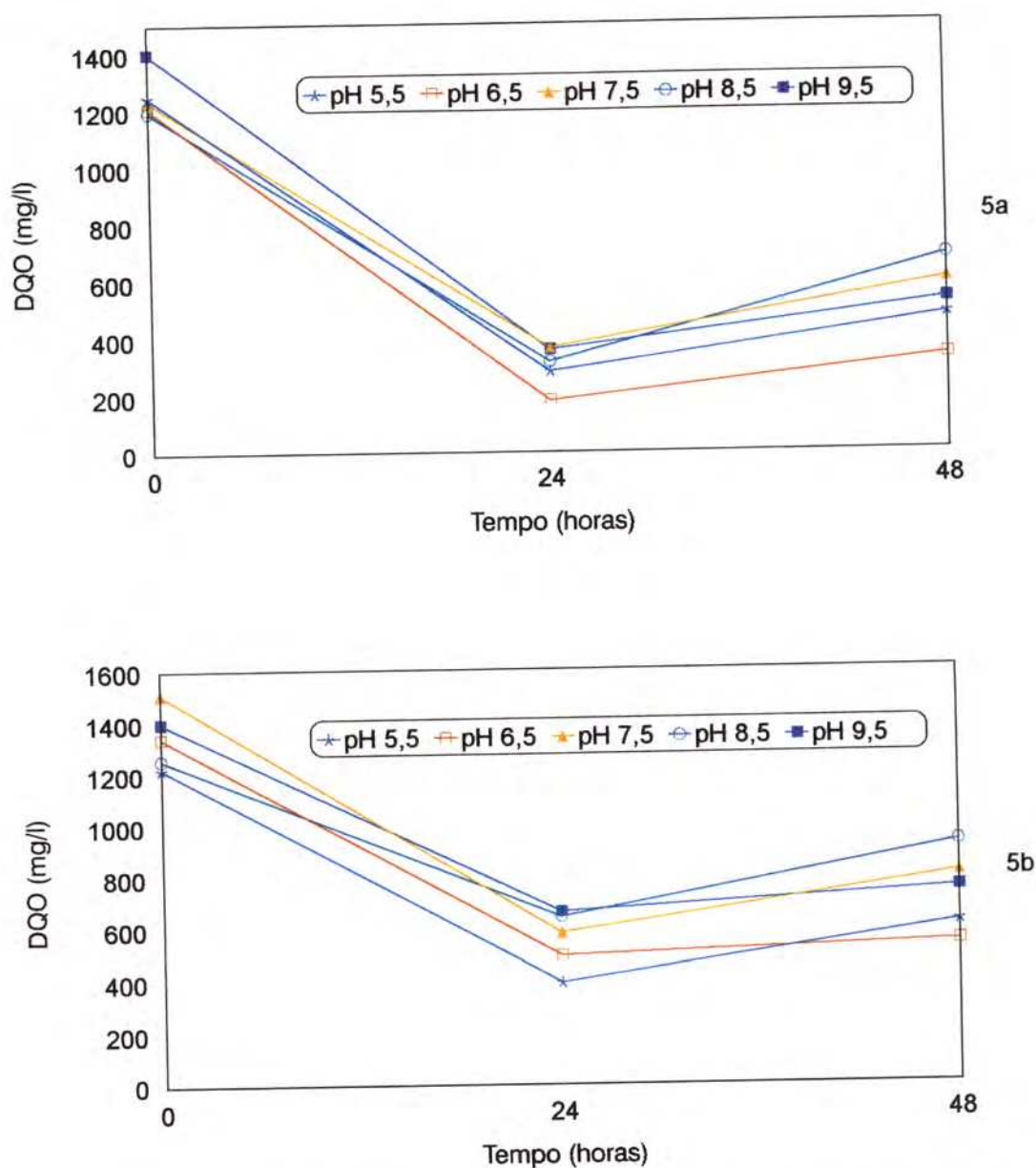


Figura 5. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef₁ previamente estéril, na eficiência de *Bacillus cereus* na redução de DQO. 5a) Determinação da DQO realizada na amostra centrifugada; 5b) Determinação da DQO realizada na amostra não centrifugada.

As linhagens de *P. ostreatoroseus* e *P. sajor-caju*, foram escolhidas para o estudo de redução de DQO pelo fato de serem fungos comestíveis, possibilitando um uso posterior dos mesmos através da utilização da massa celular produzida.

Para os fungos, *Pleurotus sajor - caju* foi o que mostrou melhor resultado em relação a porcentagem de redução na DQO, estando os valores situados na faixa de 54 - 59% no

período de 144 horas, para os pHs em estudo (Figura 6 e Tabela 6 em apêndice). Já para o fungo *Pleurotus ostreatoroseus* o maior valor encontrado para redução na DQO foi de 46% (Figura 7 e Tabela 7 em apêndice) para valor de pH 8,5.

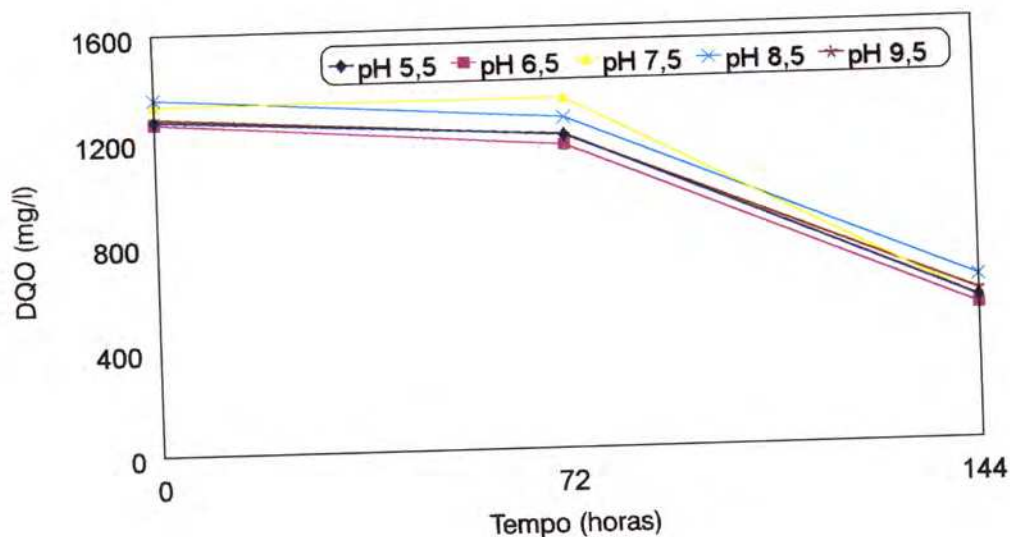


Figura 6. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef_1 previamente estéril, na eficiência de *Pleurotus sajor-caju* na redução de DQO.

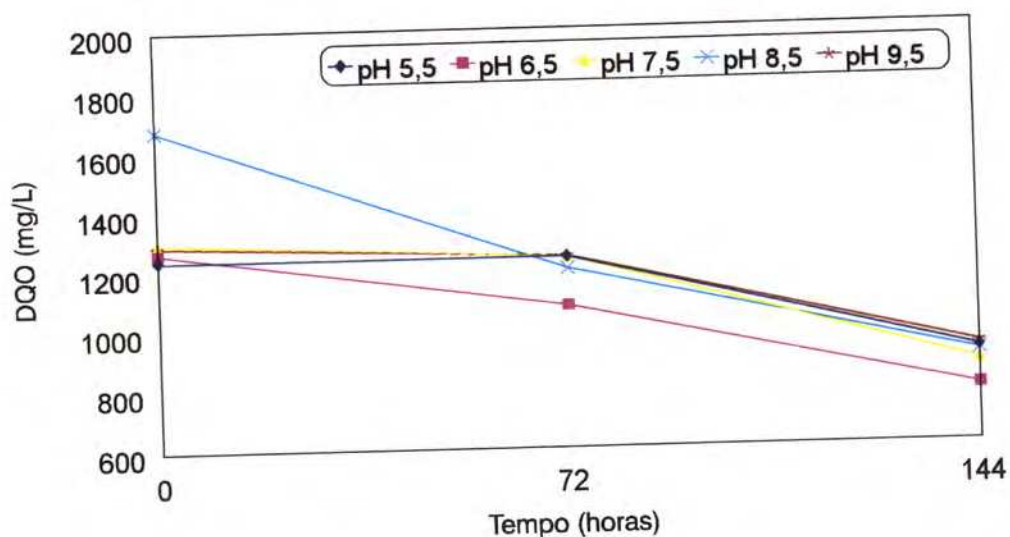


Figura 7. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef_1 previamente estéril, na eficiência de *Pleurotus ostreatoroseus* na redução de DQO.

5.7. Estudo da influência da microbiota natural do efluente Ef₁ na redução da DQO por *Bacillus cereus*

No estudo da influência da microbiota natural do efluente Ef₁ na redução da DQO por *B. cereus*, as maiores reduções foram encontradas no período de 48 horas para todos os pHs em estudo (Figura 8a e Tabela 8a em apêndice), sendo os valores superiores a 89% de redução para a amostra centrifugada. Quando a determinação da DQO foi realizada na amostra obtida do meio Ef₁ cultivado e não centrifugado os valores encontrados na porcentagem de redução de DQO variaram de 63 a 72% para todos os pHs em estudo (Figura 8b e Tabela 8b em apêndice). Os valores de redução de DQO encontrados para as amostras não centrifugadas foram menores para todos os pHs usados, quando comparados com as amostras centrifugadas correspondentes, isto se deve a eliminação de células (viáveis e não viáveis) e sólidos (suspensos e sedimentáveis) do meio Ef₁ pela centrifugação.

MALLADI e INGHAM (1993), em seus estudos, utilizaram microrganismos autoctones para o tratamento termofílico aeróbio de águas residuárias provenientes do processamento de batatas. Uma linhagem de *Bacillus spp* foi a cepa predominante durante a fermentação. O resultado obtido para redução da DBO foi de 98%, durante 96 horas de digestão.

Para a redução da DQO da amostra obtida do meio Ef₁ cultivado somente por *Bacillus cereus* os melhores resultados foram encontradas no período de 24 horas, para todos os pHs em estudo, sendo que para o período de 48 horas houve um aumento nos valores de DQO, isto talvez se deva a produção de algum metabólito secundário (Figura 5 e Tabela 5, em apêndice).

Pelos dados obtidos de redução da DQO, foi observado que a microbiota natural do efluente Ef₁ contribuiu para a remoção da DQO em todos os pHs avaliados.

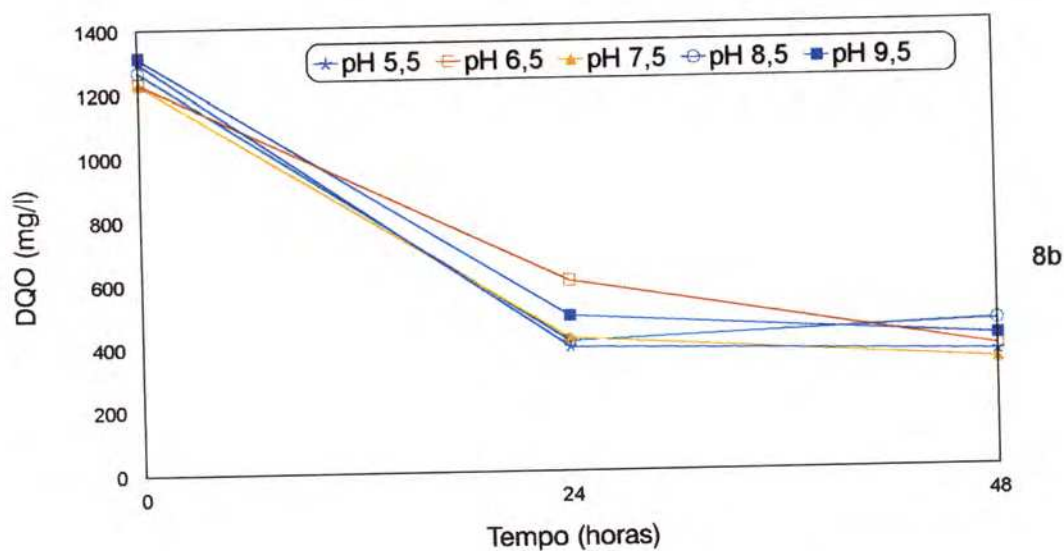
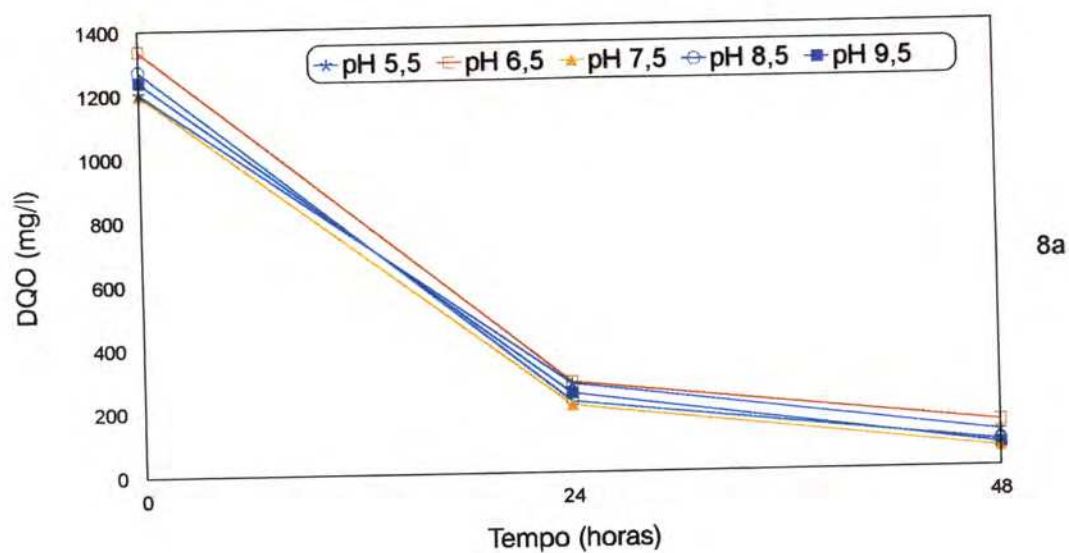


Figura 8. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef_1 bruto, na eficiência de *Bacillus cereus* na redução de DQO. 8a) Determinação da DQO realizada na amostra centrifugada; 8b) Determinação da DQO realizada na amostra não centrifugada.

5.8. Avaliação do tamanho do inóculo e pH inicial do meio de crescimento Ef_1 na redução da DQO pelos fungos *A. niger* e *A. fumigatus*

Os estudos de crescimento indicaram que a maior porcentagem de redução de DQO foi alcançada para *A. niger* (81,81%) em pH 5,5 e *A. fumigatus* (78,85%) em pH 6,5 após 72 horas de incubação conforme demonstrado nas tabelas 9 e 10 abaixo citadas. Os resultados indicaram que diferentes porcentagens de inóculos (1, 2 e 5%) não alteraram a DQO.

Tabela 9. Avaliação do tamanho do inóculo e pH na redução da DQO por *Aspergillus fumigatus*.

Inóculo	pH inicial do meio de crescimento Ef_1				
	5,5	6,5	7,5	8,5	9,5
	Redução da DQO (%)				
1%	7,6	74,8	63,7	75,0	70,0
2%	24,35	78,8	72,6	75,0	71,0
5%	23,22	76,7	72,6	70,0	68,0

Tabela 10. Avaliação do tamanho do inóculo e pH na redução da DQO por *Aspergillus niger*.

Inóculo	pH inicial do meio de crescimento Ef_1				
	5,5	6,5	7,5	8,5	9,5
	Redução da DQO (%)				
1%	80,29	15,48	3,9	9,3	12,0
2%	81,81	18,08	8,3	5,6	11,0
5%	81,28	11,90	9,4	2,5	5,5

LAMO & MENEZES (1978) em seus estudos, observaram o efeito do pH na redução da DQO pelo crescimento de *Aspergillus niger* 2 e *Aspergillus oryzae* 18 em vinhaça. Após 72 horas notaram que ambos as cepas se desenvolveram em meios que se encontravamem uma faixa de pH de 3,5 a 4,5, apresentando reduções desejáveis da DQO na faixa de 45 a 50%.

5.9. Efeito do tempo de cultivo dos fungos e da cepa de *B. cereus*, na redução de DQO

Os resultados do efeito do tempo de cultivo no pH inicial do meio de crescimento Ef₁ de maior eficiência de redução de DQO para os microrganismos *A. niger*, *A. fumigatus*, *P. ostreatoroseus*, *P. sajor - caju* e *B. cereus*, estão ilustrados nas figuras 9, 10, 11, 12 e 13 respectivamente.

O cultivo do fungo *A. niger* apresentou melhor redução de DQO a partir de 72 horas de incubação (Figura 9).

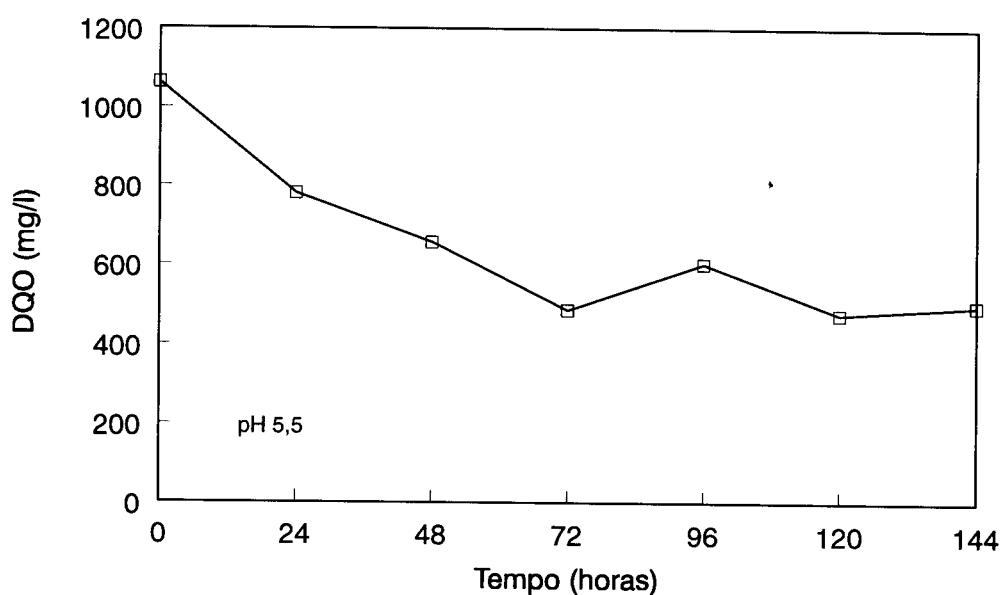


Figura 9. Efeito do tempo de cultivo do fungo *Aspergillus niger* na redução de DQO.

HANDI *et alii.* (1991), relataram a redução de 61% na DQO após 72 horas de tratamento biológico das águas residuárias provenientes dos moinhos de óleo de oliva, utilizando uma cepa de *A. niger*.

Para o fungo *A. fumigatus* a melhor porcentagem de redução de DQO (80,43%) foi encontrada para o tempo de 144 horas de fermentação (Figura 10).

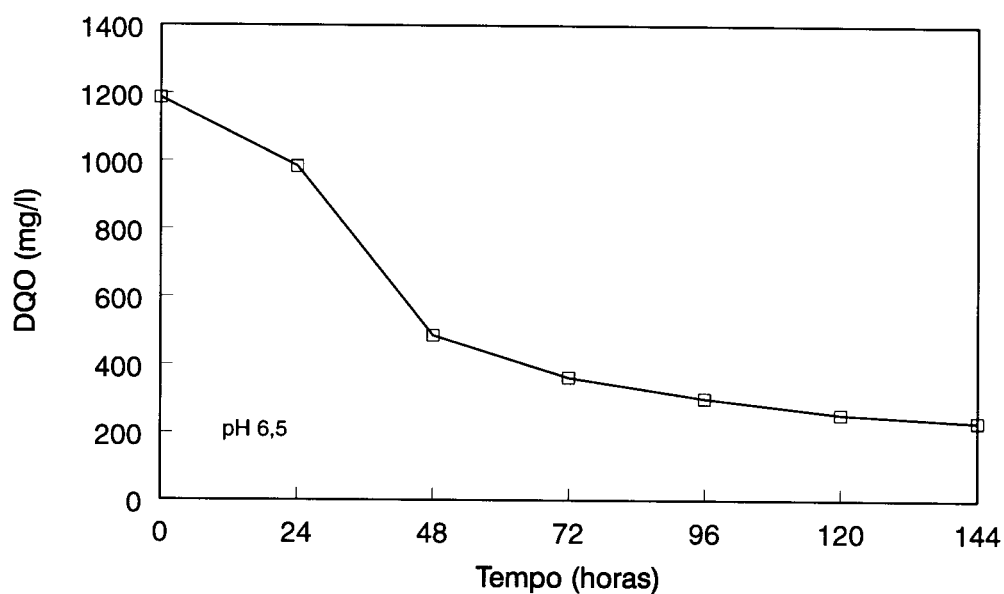


Figura 10. Efeito do tempo de cultivo do fungo *Aspergillus fumigatus* na redução de DQO.

No estudo da utilização dos fungos comestíveis *P. ostreatoroseus* e *P. sajor - caju* foram obtidos respectivamente 35,22 e 49,26% de redução de DQO após de 144 horas de cultivo (Figuras 11 e 12).

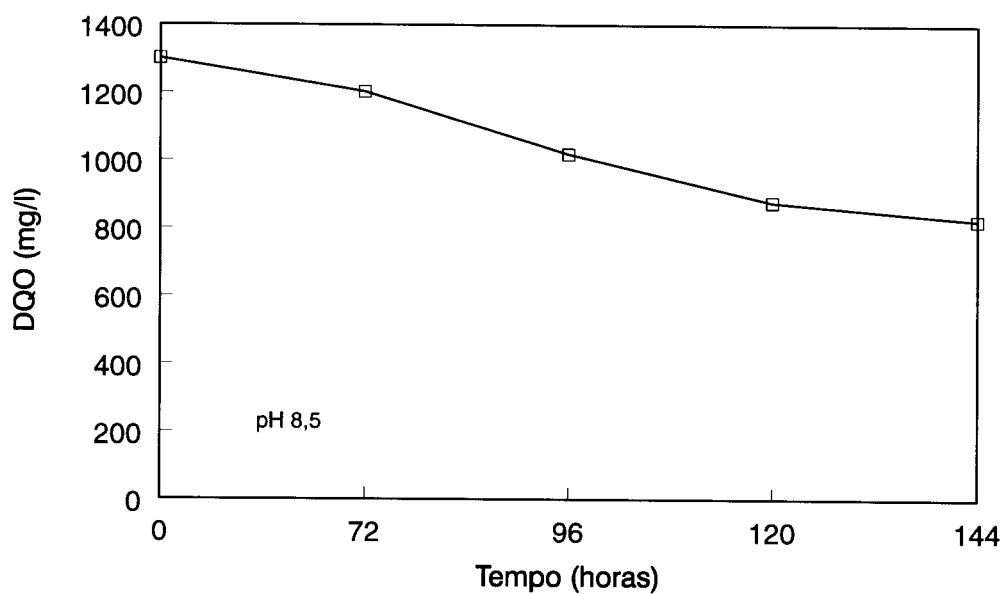


Figura 11. Efeito do tempo de cultivo do fungo *P. ostreatoroseus* na redução da DQO.

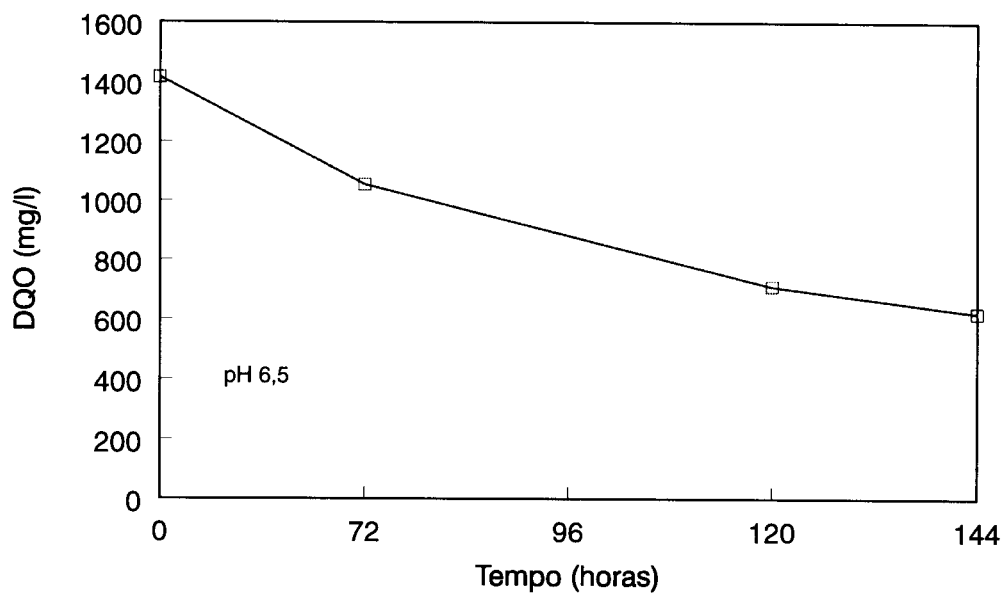


Figura 12. Efeito do tempo de cultivo do fungo *Pleurotus sajor-caju* na redução da DQO.

Os valores obtidos na redução de DQO por *P. ostreatoroseus* e *P. sajor-caju*, não foram satisfatórios quando, comparados com aqueles obtidos por *A. niger* e *A. fumigatus*. Estes últimos foram capazes de promover maior redução de DQO em tempo menor.

KARIM & SISTRUNK (1984), encontraram em seus estudos valores de 69 e 90% de redução de DQO de efluente proveniente do descascamento de batatas por vapor, após 24 e 48 horas de fermentação pelo fungo *N. sitophila*.

EL-SAMRAGY *et alii*. (1993), utilizaram duas diferentes cepas de *A. niger* na fermentação de soro salgado de queijo e obtiveram redução de 77,8% de DQO após 15 dias, para cada uma das linhagens estudadas.

A linhagem de *B. cereus* apresentou o melhor resultado (58,7%) de redução da DQO. no período de tempo de 12 horas, nos tempos subsequentes os valores da DQO foram crescentes, como se observa na figura 13.

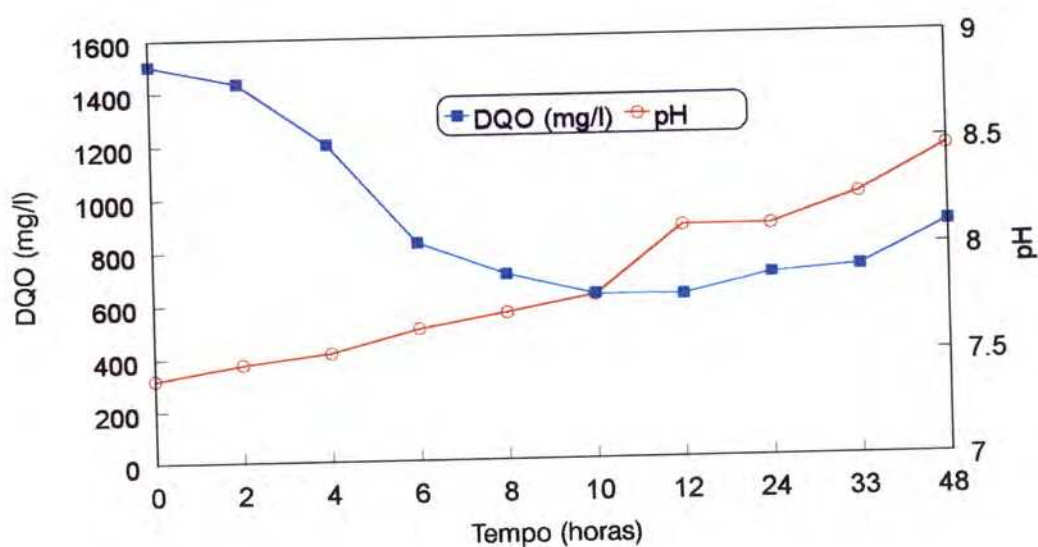


Figura 13. Efeito do tempo de cultivo da cepa *Bacillus cereus* na redução de DQO.

Os valores de pH foram crescentes para o período de crescimento estudado, o que talvez decorra da produção de compostos aminados ou utilização de ácidos orgânicos por *B. cereus* (Figura 13).

KUMAR *et alii.* (1991) estudaram o crescimento de seis cepas de bactérias em águas residuárias de destilaria e relacionaram a produção de biomassa, dióxido de carbono, ácidos voláteis com a redução de DQO. Estas cepas levaram a uma diminuição da DQO na faixa de 51-81%, sendo que três cepas mantiveram estável o máximo valor de redução de DQO após 72 horas, enquanto que as outras três restantes continuaram a reduzir a DQO em períodos superiores a 120 horas.

SASAKI *et alii.* (1991), descreveram o uso de duas bactérias fotossintéticas para remoção da DQO da água escoada do cozimento de soja. Após 40 horas de fermentação os valores foram de 81% e 79% de redução de DQO para *Rhodopseudomonas gelatinosa* e *Rhodopseudomonas gelatinosa* A1 respectivamente.

NIETO *et alii.* (1993), obtiveram 52,32% de redução de DQO, pela fermentação de efluentes produzidos pela indústria extratora de óleo de oliva por *Bacillus pumilus* no período de 2 dias.

5.10. Estudo do efeito da adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ao efluente Ef₁ e sua redução na DQO

A adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ao meio Ef₁ foi feita porque o mesmo tinha baixas concentrações de nitrogênio (4-8 mg/l).

As águas residuárias domésticas não tratadas, com concentrações de nitrogênio inferior à 20 mg/l são consideradas pobres neste nutriente segundo METCALF e EDDY (1991).

Foi determinada a influência da adição de diferentes concentrações de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,2; 0,4 e 0,7%) ao meio efluente estéril na redução de DQO, sendo utilizado o pH inicial do meio

de crescimento Ef₁ de maior eficiência de redução de DQO para cada microrganismo. *A. niger* reduziu a DQO de 1178 a 234 mg/l, quando a quantidade adicionada de (NH₄)₂SO₄ foi 0,2% (P/V, concentração final). Para o fungo *A. fumigatus* não houve uma variação significativa na redução de DQO para as diferentes concentrações do sal, sendo que a redução de DQO para a concentração 0,7% foi um pouco superior as obtidas com concentrações de 0,2% e 0,4% conforme demonstrado na tabela 11 abaixo.

Tabela 11. Estudo do efeito da adição de (NH₄)₂SO₄ ao efluente Ef₁ e sua redução na DQO pelos fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus*.

Concentração de (NH ₄) ₂ SO ₄	Redução de DQO em 72h (%)	
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
0,2% de (NH ₄) ₂ SO ₄	80,13	82,93
0,4% de (NH ₄) ₂ SO ₄	71,47	82,18
0,7% de (NH ₄) ₂ SO ₄	62,47	86,00
Controle	47,68	67,75

KARIM & SISTRUNK (1984), apesar de terem trabalhado com efluentes provenientes do descascamento de batatas, obtiveram maior redução de DQO quando inocularam *Neurospora sitophila* no efluente previamente adicionado de uma fonte inorgânica de nitrogênio [(NH₄)₂HPO₄]. As reduções obtidas foram de 69 e 90% , em comparação com os valores de DQO inicial, após 24 e 48 horas de fermentação respectivamente.

Para a cepa de *B. cereus* foi estudada a influência da adição de diferentes concentrações de (NH₄)₂SO₄ (0,01; 0,02 e 0,03%) ao meio efluente Ef₁ estéril e não estéril.

As maiores reduções de DQO (75-83%) foram alcançadas pela inoculação de *B. cereus* no efluente bruto adicionado de (NH₄)₂SO₄. Para o efluente bruto sem adição de *B. cereus* (Controle), foi obtido apenas 34,18% de redução de DQO, quando este meio foi adicionado de (NH₄)₂SO₄ e crescido pela microbiota natural o valor foi de 51,53% e de 77,2% pelo cultivo por *B. cereus* e microbiota natural sem adição de (NH₄)₂SO₄. A cepa mostrou participação importante na redução da carga orgânica, como pode se observar pelos resultados expostos na tabela 12, abaixo citada.

Tabela 12. Estudo do efeito da adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ao efluente Ef₁ bruto e sua redução na DQO por *Bacillus cereus*.

Tratamento do efluente	Redução da DQO em 24 h (%)
<i>B. cereus</i> + 0,01% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	80
<i>B. cereus</i> + 0,02% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	83
<i>B. cereus</i> + 0,03% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	74,7
<i>B. cereus</i>	77,2
+ 0,01% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	51,53
Controle	34,18

Já para os resultados referentes a inoculação de *B. cereus* no meio Ef₁ estéril (Tabela 13 abaixo), os melhores resultados de redução de DQO foram alcançados para o meio adicionado de 0,01 e 0,03% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ com valores de 76,6 e 77,16% respectivamente. Para o meio sem adição de sal, a redução de DQO foi de 62,7%.

Tabela 13. Estudo do efeito da adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ao efluente Ef₁ estéril e sua redução na DQO por *Bacillus cereus*.

Tratamento do efluente	Redução da DQO em 24 h (%)
<i>B. cereus</i> + 0,01% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	76,6
<i>B. cereus</i> + 0,02% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	52,4
<i>B. cereus</i> + 0,03% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	77,16
<i>B. cereus</i>	62,7

5.11. Estudo da influência de uma fonte de nitrogênio na massa fúngica produzida

Foi realizado o estudo da influência da adição ao efluente Ef₁ de 0,7% (P/V, concentração final) de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ na massa fúngica produzida.

Para o fungo *A. niger* quando o cultivo foi realizado no meio Ef₁ bruto (não estéril) com e sem adição de (NH₄)₂SO₄, não houve um aumento na massa fúngica produzida sendo os resultados coincidentes e de valor 0,16 g/l, conforme demonstrado na figura 14.

Provavelmente os microrganismos com uma atividade metabólica mais alta (bactérias e leveduras) foram aqueles que consumiram mais rapidamente o nitrogênio disponível no meio, deixando nada ou quase nada desta fonte para o fungo.

Não foi notada uma melhora na redução de DQO pela adição de (NH₄)₂SO₄ ao meio Ef₁, sendo que o meio sem adição de sal foi o que apresentou uma melhor redução da demanda química de oxigênio.

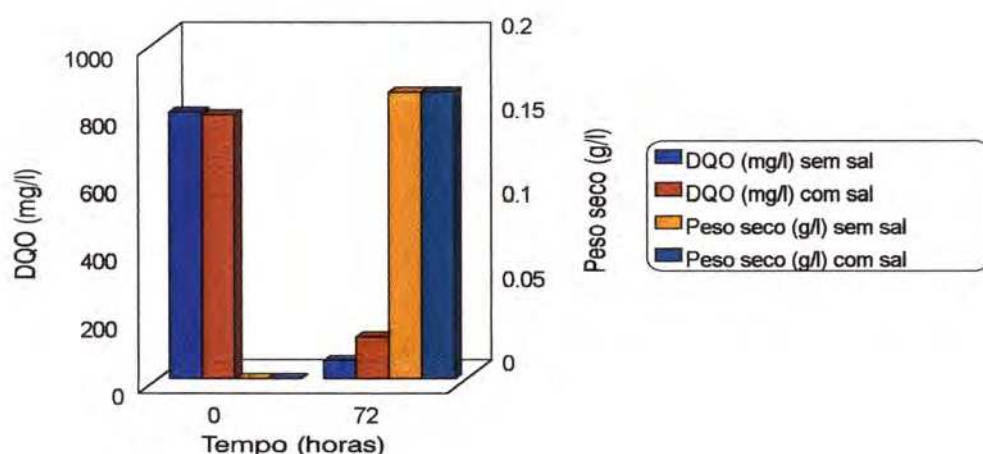


Figura 14. Influência da adição de (NH₄)₂SO₄ ao efluente Ef₁ bruto na massa fúngica produzida por *Aspergillus niger*.

Já para o cultivo do fungo *A. niger* no meio Ef₁ previamente estéril, adicionado de (NH₄)₂SO₄ na concentração de 0,7% foi observado aumento de 50% na massa celular, quando comparado com o meio sem a adição de (NH₄)₂SO₄ conforme demonstrado na figura 15. Isto talvez se deva a utilização de nitrogênio disponível unicamente por *A. niger*.

A redução de DQO pelo fungo *Aspergillus niger* no meio efluente Ef₁ previamente estéril, foi aumentada em quase 100%, quando o mesmo foi adicionado de (NH₄)₂SO₄. O resultado mostra que o crescimento do fungo promoveu maior redução de DQO (Figura 15).

Pelos dados obtidos, referenciados nas figuras 14 e 15, foi observado que a microbiota autóctone contribui para uma melhor redução de DQO.

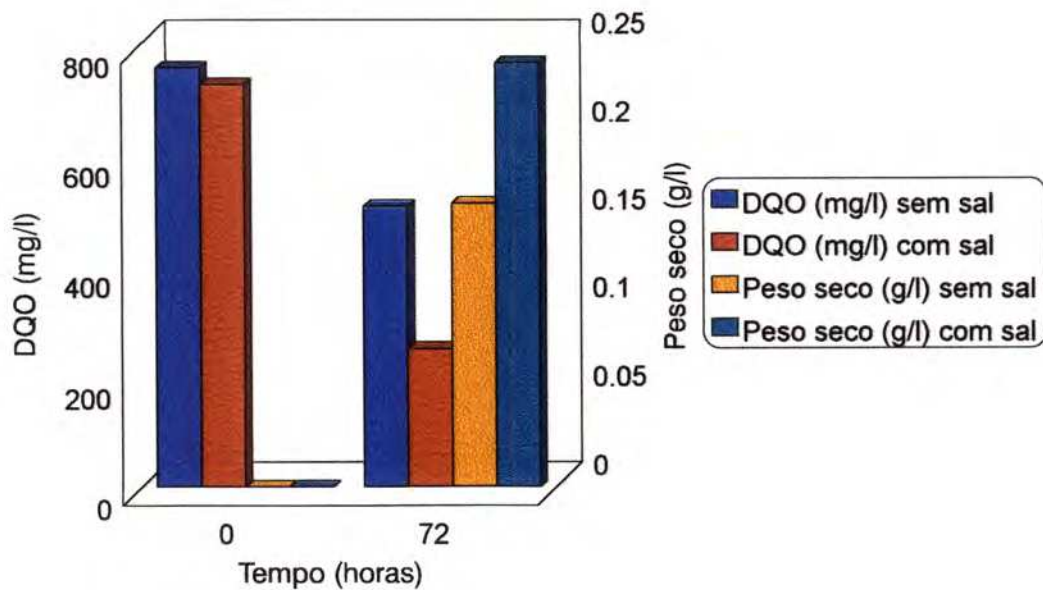


Figura 15. Influência da adição de (NH₄)₂SO₄ ao efluente Ef₁ previamente estéril na massa fúngica produzida por *Aspergillus niger*.

Para o cultivo do fungo *A. fumigatus* no meio Ef₁ bruto (não estéril), foi observado um aumento de 25% na massa fúngica (peso seco), quando o meio foi adicionado de (NH₄)₂SO₄, sendo os valores de 0,20g/l e 0,16g/l respectivamente, para o efluente adicionado ou não da fonte de nitrogênio. A redução da DQO foi melhor e de valor 93% para o meio não adicionado de sal quando comparado com o meio adicionado de sal (81%) (Figura 16).

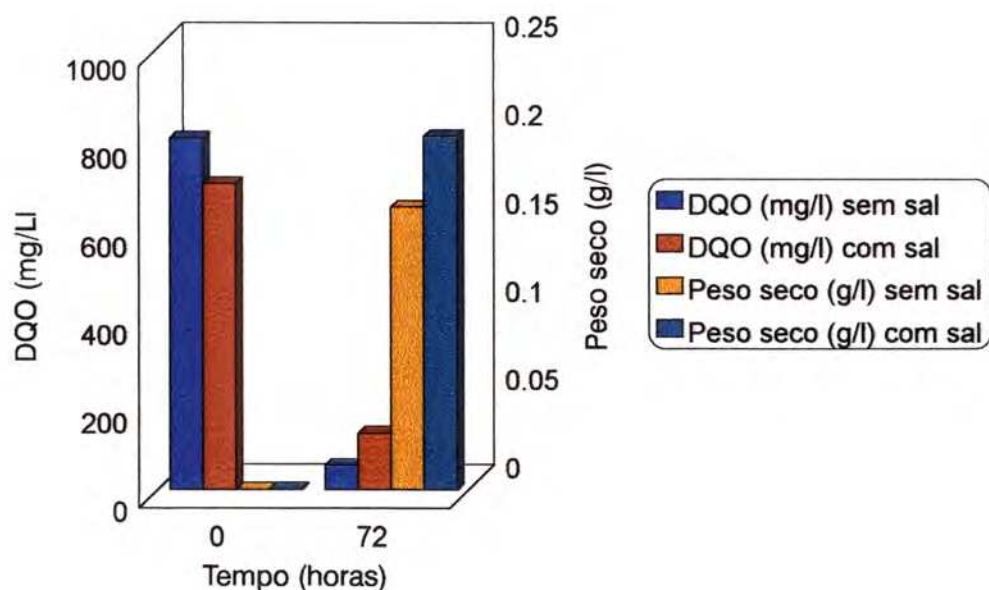


Figura 16. Influência da adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ao efluente Ef_1 bruto na massa fúngica produzida por *Aspergillus fumigatus*.

Quando *A. fumigatus* foi inoculado no meio Ef_1 (previamente estéril), o aumento da massa fúngica foi maior e de valor 37,9%, quando comparado com a massa fúngica obtida sem a adição da fonte de nitrogênio ao meio Ef_1 . Em relação a redução da DQO pelo fungo não foi notada melhora significativa, estando os valores próximos a 65% de redução. Para o fungo *Aspergillus fumigatus* uma aumento na massa celular não correspondeu a maior redução de DQO (Figura17).

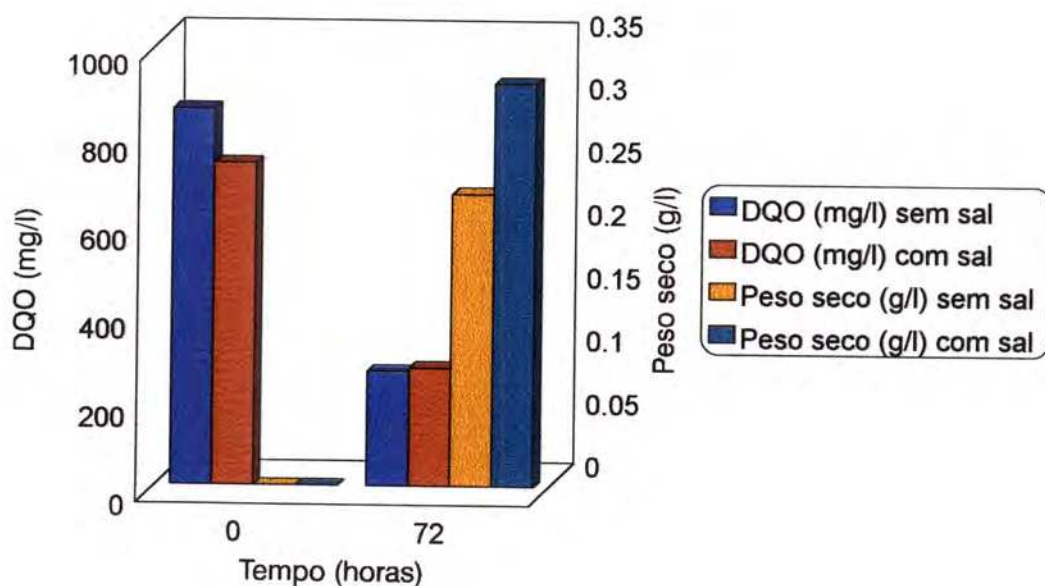


Figura 17. Influência da adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ao efluente Ef_1 previamente estéril na massa fúngica produzida por *Aspergillus fumigatus*.

Os valores obtidos para a massa fúngica produzida pelos dois fungos em estudo foram maiores, quando os mesmos foram crescidos no meio Ef_1 estéril. Isto talvez decorra do fato que no meio Ef_1 bruto a competição por nutrientes seja maior, então microrganismos como bactérias e leveduras presentes ao meio consumiram nitrogênio disponível.

5.12. Efeito da associação dos fungos *A. niger* e *A. fumigatus* na redução da DQO

No estudo da redução de DQO do efluente previamente estéril e não estéril por *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus* e mistura destes dois fungos no período de 72 horas, os melhores resultados foram encontradas para as amostras do efluente (previamente estéril e não estéril) inoculados com *A. fumigatus* conforme demonstrado na tabela 14 abaixo citada.

Tabela 14. Redução na Demanda Química de Oxigênio do efluente de cervejaria inoculado com diferentes culturas de fungos.

Tratamento do Efluente	Redução da DQO em 72h (%)
Efluente bruto + <i>A. niger</i>	74,77
Efluente bruto estéril + <i>A. niger</i>	43,78
Efluente bruto + <i>A. fumigatus</i>	80,90
Efluente bruto estéril + <i>A. fumigatus</i>	75,49
Efluente bruto + <i>A. fumigatus</i> + <i>A. niger</i>	80,72
Efluente bruto estéril + <i>A. fumigatus</i> + <i>A. niger</i>	72,61

Já para *A. niger* a maior redução foi atingida quando o mesmo foi inoculado ao efluente bruto em comparação com o efluente estéril. Quanto a associação dos dois fungos, as reduções de DQO foram semelhantes aos resultados alcançados pelo *A. fumigatus*.

Quando Ef₁ foi inoculado com a associação de fungos (*A. niger* + *A. fumigatus*), a redução de DQO foi sensivelmente melhor para o efluente bruto quando comparado com o efluente estéril, o que talvez seja devido a contribuição da flora natural do efluente no consumo de matéria orgânica, pois o mesmo resultado foi obtido nos estudos de comparação de efluentes brutos e efluentes estéreis.

5.13. Efeito da imobilização dos fungos *A. niger* e *A. fumigatus* em espumas de poliuretana, na redução da DQO

No estudo da redução da DQO do meio Ef₁ estéril por meio da imobilização dos fungos *A. niger* e *A. fumigatus* em espumas de poliuretana, em pH inicial do meio de crescimento Ef₁ de maior redução de DQO e tempo de 72 horas, os melhores resultados foram alcançados para o fungo *A. fumigatus* (80%). Já para o fungo *A. niger* o valor encontrado (30%) foi bem inferior ao do *A. fumigatus*. A tabela 15, abaixo citada, mostra os

valores para as DQOs dos fungos em estudo. A imobilização em espumas de poliuretana foi satisfatória para ambos os fungos.

Tabela 15. Imobilização dos fungos *A. niger* e *A. fumigatus* em espumas de poliuretana no pH inicial do meio de crescimento Ef₁ de maior redução de DQO

Tratamento do efluente	Tempo de cultivo		Redução de DQO (%)
	0	72	
	DQO do efluente (mg/l)		
Controle pH 5,5 ^a	863	817	
Controle pH 6,5 ^a	817	801	
<i>Aspergillus niger</i>	863	600	30,0
<i>Aspergillus fumigatus</i>	836	171	80,0

^a efluente não inoculado com fungos

A imobilização de microrganismos em espumas de poliuretana já apresenta aplicações comerciais no tratamento de efluentes. TYAGI & VEMBU (1990), citam dois processos já patenteados (Captor e Linpor), nos quais as espumas são adicionadas ao tanque de aeração, mantendo assim os microrganismos no processo de lodo ativado.

ANSELMO, *et alii* (1985), estudaram a imobilização de *Fusarium flocciferum* pelo aprisionamento em agar, k-carrageenan, alginato, poliuretana e por adsorção em “pre formed” espumas de poliuretana. Aprisionamento e a adsorção de células em poliuretana foram capazes de degradar fenol nas concentrações de 4 e 2,5g/l respectivamente sem perda de sua atividade sob uso repetitivo por mais de dois meses.

6. CONCLUSÕES

- Os fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus* e a bactéria *Bacillus cereus*, apresentaram resultados satisfatórios quanto a redução de DQO de efluente de cervejaria.
- A redução de DQO apresentou resultados mais satisfatórios para as amostras centrifugadas obtidas dos meios cultivados por *Bacillus cereus*.
- A microbiota natural do efluente Ef₁ contribuiu para a redução da DQO.
- A adição de diferentes concentrações de (NH₄)₂SO₄ ao meio efluente Ef₁, resultou em diferentes porcentagens de redução da DQO pelo fungo *Aspergillus niger*, já para o fungo *Aspergillus fumigatus* não houve uma variação significativa na redução.
- A influência da adição de (NH₄)₂SO₄, ao meio efluente Ef₁, levou a um aumento na massa celular dos fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus*, quando os mesmos foram inoculados no meio efluente Ef₁ estéril.
- A imobilização dos fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus* em espumas de poliuretana foi satisfatória para ambos. Quanto a redução da DQO pelo processo de imobilização, apenas *Aspergillus fumigatus* mostrou ser eficiente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABD ALLA, M.H.; MAHMOUD, A.L.E. Biodegradation of plant wastes to sugars and protein by microorganisms. *Folia-Microbiologia*, v.39, n.3, p.222-224, 1994.
- ANSELMO, A.M.; MATEUS, M.; CABRAL, J.M.S.; NOVAIS, J.M. Degradation of phenol by immobilized cells of *Fusarium flocciferum*. *Biotechnology Letters*, v.7, n.12, p.889-894, 1985.
- BEUCHAT, L.R.; BOUGH, W.A.; YOUNG, C.T. Use of alkaline peeling effluents from vegetable and fruit processing operation by *Neurospora sitophila*. *Journal of Food Protection*, v.41, n.1, p.24-27, 1978.
- BIOCONVERSION of brewery effluents to single cell protein. *Bios*, v.16, n.8/9, p. 40-46, 1985.
- BOCK, H.; IWERT, D. Development and testing of a mixed bacterial culture for improving the purification efficiency of sugar factory waste water holding tanks using the Schoeppenstedt sugar factory as example. *Zuckerindustrie*, v.112, n.12, p.1086-1089, 1987.
- BURGESS, S. Anaerobic treatment of Irish creamey effluents. *Process Biochemistry*, v.24, n.4, Suppl., p. 6-7, 1985.
- CASTLLA, B.R.; WAEHNER, R.S.; GIULIETTI, A.M. Aerobic microbial treatment of sugar cane stillage by *Candida utilis* and *Paecilomyces variotti* in two step continuous cultures. *Biotechnology Letters*, v.6, n.3, p.195-198, 1984.

- CHIESA, S.C.; MANNING, JR., J. F. Fermentation industry. *J. Water Pollut. Control Fed.*, v.56, n.6, p.633-36, 1984.
- CHURCH, D. B.; NASH, H.A.; BROSZ, W. Use of fungi imperfecti in treating food processing wastes. *Developments in Industrial Microbiology*, v.13, p.30-46, 1972.
- CRUEGER, W.; CRUEGER, A. Biotechnology. A textbook of industrial microbiology Ed. by Brock Madison: T.D. Science Tech., Inc. 1984. 308p.
- EL-SAMRAGY, Y.A.; SHEHATA, A.E.; FODA, M.I.; KHORSHID, M.A. Effect of salt on the production of citric acid from whey as a means for pollution control in Domiati cheese manufacture. *Dairy, Food and Environmental Sanitation*, v.13, n.11, p.638-641, 1993.
- GOSTICK, N. A. Nutrient and micronutrient requirements in biological effluent treatment. *Technology*, v.31, n.8, p. 33-35, 1996. www.scisol.co.uk/nutrient.html
- GRAY, N.F. Biology of wastewater treatment; New York: Oxford University Press, 1989. 815p.
- GREENBERG, A.E.; CLESCERI, L.S.; EATON, A.D. Standard methods for the examination of water and wastewater; 18. ed. Washington: American Public Health Association, 1992.
- GYLLANG, H.; SAETMARK, L.; MARTINSON, E. The influence of some fungi on malt quality. *Proceedings, European - Brewery - Convention; 16th Congress*, p.245-254, 5 ref., 1977.
- HACH, C.C.; BRAYTON, V.S.; KOPELOVE, A. B. A powerful kjeldahl nitrogen method using peroxymonosulfuric acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, v.33, p.1117-1123, 1985.

- HAMDI, M.; GARCIA, J.L. Anaerobic digestion of olive mill wastewaters after detoxification by prior culture of *Aspergillus niger*. *Process Biochemistry*, v.28, p.155-159, 1993.
- HAMDI, M.; KHADIR, A.; GARCIA, J.L. The use of *Aspergillus niger* for the bioconversion of olive mill waste waters. *Applied Microbiology Biotechnology*, v.34, p.828-831, 1991.
- HANG, Y.D.; SPLITTSTOESSER D.F.; WOODAMS, E.E. Utilization of brewery spent grain liquor by *Aspergillus niger*. *Applied Microbiology*, november: 879-880, 1975.
- HAYES, P.R. Food microbiology and hygiene, 2.ed. London: Chapman&Hall, 1995. 516p.
- IKENEBOMEH, M.J.; CHIKWENDU, A.E. Cassava whey treatment with *Aspergillus niger*. *Acta Biotechnologica*. v.10, n.4, p.341-48, 1990.
- JIRKA, A.M. & CARTER, M.J. Micro semi - automated analysis of surface and wastewaters for chemical oxygen demand. *Analytical Chemistry*, v.47, n.8, p.1397-1402, 1975.
- KARIM, M.I.A.; SISTRUNK, W.A. Efficiency of selected strains of fungi in reducing chemical oxygen demand in wastewater from steam - peeled potatoes. *Journal of Food Processing and Preservation*, v.8, p.211-218, 1984.
- KARIM, M.I.A.; SISTRUNK, W.A.. The use of selected strains of yeasts in the treatment of processing wastewater from lye-peeled and steam - peeled potatoes. *Journal of Food Processing and Preservation*, v.8, n.3/4, p.175-189, 1984.
- KIDA, K.; MORIMURA, S.; ABE, N.; SONODA, Y. Biological treatment of shochu distillery wastewater. *Process Biochemistry*, v.30, n.2, p.125-132, 1995.
- KIRKPATRICK, N.; PALMER, J.M.. *Applied Microbiology and Biotechnology*. v.27, p.129-133, 1987.

- KODAMA, K.; KYONO, T.; OMURATA, M.; IKEMI, M.; TACHIBANA, T. Bacterial treatment of waste water discharged from sake brewery. *Journal of the Society of Brewing*, v.76, n.4, p.276-279, 1981.
- KUMAR, S.; VISWANATHAN, L. Production of biomass, carbon dioxide, volatile acids, and their interrelationship with decrease in chemical oxygen demand, during distillery waste treatment by bacterial strains. *Enzyme and Microbial - Technology*, v.13, n.2, p.179-187, 1991.
- KUMAR, V.; WATI, L.; FITZGIBBON, F.; NIGAM, P.; BANAT, I.M.; SINGH, D.; MARCHANT, R. Bioremediation and decolorization of anaerobically digested distillery spent wash. *Biotechnology Letters*, v.19, n.4, p.311-313, 1997.
- LAMO, P.R. & MENEZES, T.J.B. Bioconversion of cassava processing waste water for fungal biomass production. *Coletanea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, v.10, p.1-14, 1979.
- LEVY, C. Consórcio de bacias elegerá presidente. O Estado de São Paulo, São Paulo, 25 março 1997. Caderno cidades, p.c3.
- LUBBERDING, H.J. Applied anaerobic digestion. In: International course on anaerobic treatment. Wageningen Agricultural University / IHE Delft. Wageningen, 17-28 Jul. 1995. Apud: Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 2.ed. Belo Horizonte, p.32, 1996.
- MAC FADDIN, J.F. Biochemical tests for identification of medical bacteria. 2.ed. Baltimore: Williams & Williams, 1980.
- MALLADI, B.; INGHAM, S.C. Thermophilic aerobic treatment of potato processing wastewater. *World journal of Microbiology & Biotechnology*, v.9, n.1, p.45-49, 1993.

- MANILAL, V.B.; NARAYANAN, C.S.; BALAGOPALAN, C. Cassava starch effluent treatment with concomitant SCP production. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v.7, n.2, p.185-190, 1991.
- MARWAHA, S.S., KENNEDY, J.F.; TEWARI, H.K.; REDHU, A. Development of non - conventional technology employing immobilized yeast cells for the treatment of dairy industry effluents. *International Industrial Biotechnology*; v.8, n.6, p.17-23, 1988.
- METCALF; EDDY, Wastewater engineering: 3.ed. New York: McGraw Hill, 1991.
- MORTENSEN, B.F. Effluent control in food processing industries. *Process Biochemistry*, p.19-22, 1977.
- MUN, T.L.; ISHIZAKI, A.; YOSHINO, S.; FURUKAWA, K. Production of acetone, butanol and ethanol from palm oil waste by *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4. *Biotechnology Letters*, v.17, n.6, p.649-654, 1995.
- NIETO, L.M.; HOYOS, S. E. G.; RUBIO, F. C.; PAREJA, M. P. G.; CORMENZANA, A. R. The biological purification of waste products from olive oil extraction. *Bioresource Technology*, v.43, p.215-219, 1993.
- NUDEL, B.C.; WACHNER, R.S.; FRAILE, E.R.; GIULIETTI, A.M. The use of single and mixed cultures for aerobic treatment of cane sugar stillage and SCP production. *Biol. Wastes*, v.22, n.1, p.67-73, 1987.
- OHMOMO, S.; KANEKO, Y.; SIRIANUNTAPIBOON, S.; SOMCHAI, P.; ATTHASAMPUNNA, P.; NAKAMURA, I. Decolorization of molasses wastes water by a thermophilic strain, *Aspergillus fumigatus* G-2-6. *Agricultural and Biological Chemistry Journal*, v.51, n.12, p. 3339-3346, 1987.
- PATENT- 1986 Microorganism support with intertwisted synthetic resin fibers

- PERRY M.; ISHERWOOD, H. Relating extract losses with the chemical oxygen demand of a brewery effluent. *MBAA Technical Quarterly*, v. 32, p.19-21, 1995.
- PRASERTSAN, P.; CHOORIT, W.; SUWANNO, S. Optimization for growth of *Rhodocyclus gelatinous* in seafood processing effluents. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v.9, n.5, p.593-596, 1993.
- RAPP, P.; BACKHAUS, S. Formation of extracellular lipases by filamentous fungi, yeast and bacteria. *Enzyme and Microbial - Technology*, v.14, Nov., 1992.
- ROUX, J.C.; VERMÉGLIO, A.; BESNAINOU, B. Despoluição: os microorganismos ganham terreno. *França-Flash Meio Ambiente*, v.9, p.6-7, outubro, novembro, dezembro, 1996.
- SAITO, K.; HASUO, T.; TERADA, S.; FUJIKAWA, S.; TADENUMA, M. Utilization of wild yeasts. II Treatment of waste water discharged from muscovado spirit (kokuto shochu) manufacture using yeast. *Journal of the Society of Brewing*, v.78, n.12, p. 954-958, 1983a.
- SAITO, K.; HASUO, T.; TERADA, S.; ICHIJIMA, N.; MAETANI, T.; TADENUMA, M. Utilization of wild yeasts. II Treatment of waste water discharged from muscovado spirit (kokuto shochu) manufacture using yeast. *Journal of the Society of Brewing*, v.78, n.12, p.959-961, 1983b.
- SARNAIK, S.; KANEKAR, P. Bioremediation of colour of methyl violet and phenol from a dye-industry waste effluent using *Pseudomonas spp.* isolated from factory soil. *Journal of Applied Bacteriology*, v.79, p.459-469, 1995.
- SASAKI, K.; NOPARATNARAPORN, N.; HAYASHI, M.; NISHIZAWA, Y.; NAGAI, S. Single - cell protein production by treatment of soybean wastes with *Rhodopseudomonas gelatinosa*. *Journal of fermentation technology*, v.59, n.6, p.471-477, 1981.

- SCOTT, C. D. Immobilized cells: a review of recent literature. *Enzyme and Microbial Technology*, v.9, p.66-73, 1987.
- SHYU, Y.T.; CHIEN. L.C. Use of single cell protein production to treat the waste brine from fruits & vegetables preserves. *Food Science*, Taiwan, v.23, n.1, p.20-28, 1996.
- SNEATH, P.H.A. Endospore forming Gram positive rods and cocci. In SNEATH, P.H.A.; MAIR, N.S.; SHARPE, M.E. & HOLT, J.G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.2, Williams & Wilkins, Baltimore, 1986.
- SORLINI, C.; DAFFONCHIO, D. Production of volatile fatty acids by fermentation of whole milk whey by propionibacteria. *Latte*, v.20, n.3, p.284-286, 1995.
- TRIMMING the waste. *Food Processsing*, August - pg. 20-21.
- TYAGI, R.D.; VEMBU, K. Wastewater treatment by immobilized cells ed. Florida, CRC Press, Inc., 1990. 281p.
- VASSILIADIS, F. The Rappaport-Vassiliadis (RV) enrichment medium for the isolation of *salmonellae*: Na overview. *Journal of Applied Bacteriology*, v.54, p.69-76, 1983.
- VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 2.ed. Belo Horizonte, 1996.
- VRIENS, L.; VAN SOEST, V.; VERACHTERT, H. Biological treatment of malting and brewing effluents. *Critical Reviews in Biotechnology*, v.10, n.1, p.1-46, 1990.
- YIAO, H. Single - cell protein from wastewater of monosodium glutamate manufacture. *Process Biochemistry*, p.176-177, Dec., 1988.
- WAINWRIGHT, M., Novel uses for fungi in biotechnology. *Chemistry & Industry*, p.31-34, 1990.

ZOUARI, N.; ELLOUZ, R. Microbial consortia for the aerobic degradation of aromatic compounds in olive oil mil effluent. *Journal of Industrial Microbiology*, v.16, p.155-162, 1996.

APÊNDICE

Tabela 2. Seleção de linhagens com maior capacidade de redução na DQO.

Microrganismos	Redução da DQO (%)	
	amostra não centrifugada	amostra centrifugada
21 (bactéria)	- 41,29	- 11,65
39 (levedura)	*	*
45 (bactéria)	- 27,60	- 18,26
47 (bactéria)	- 31,00	- 18,76
49 (bactéria)	+ 35,80	+ 46,11
52 (bactéria)	- 16,76	- 27,02
53 (bactéria)	- 22,60	- 21,07
57 (levedura)	*	*
60 (bactéria)	- 21,60	+ 7,0
61 (bactéria)	- 4,54	+ 0,247
76 (bactéria)	+ 1,36	+ 16,61
80 (bactéria)	- 9,93	- 15,12
88 (bactéria)	- 4,62	+ 7,85
91 (bactéria)	- 12,36	+ 0,66
94 (bactéria)	+ 10,38	+ 26,61
99 (bactéria)	- 6,52	+ 12,31
106 (bactéria)	- 24,33	+ 8,26
109 (bactéria)	- 14,00	+ 11,48
111 (bactéria)	+ 19,56	+ 39,00
124 (bactéria)	+ 23,57	nd
96RF (fungo)	+ 4,62	- 3,9
<i>A. niger</i>	+ 62,54	+ 58,00
<i>A. fumigatus</i>	+ 66,71	+ 75,70

(+): aumento da % de redução de DQO

(-): diminuição da % de redução de DQO

nd: não determinado

*** Valor acima da faixa de leitura permitida pelo aparelho**

Tabela 3. Características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas da linhagem de *Bacillus cereus*.

Características Morfológicas	
Forma	bastonete
Gram	+
Formação de esporo	+
Motilidade	+
Características Fisiológicas	
Temperatura de crescimento	30-40°C
NaCl	3 a 10%
Características Bioquímicas	
Catalase	+
Oxidase	+
Redução de nitrato a nitrito	+
Oxidação - Fermentação	fermentativo sem produção de gás
Indol	—
Liquefação da gelatina	+
Citrato	—
Voges- Proskauer	—
Urease	—
Litmus milk	ocorre peptonização
Fenilalanina deaminase	—
Degradação da L-Tirosina	—
Hidrólise de esculina	+
Hidrólise do amido	+
Produção de ácidos e gás a partir de:	
Glicose	acidificação sem produção de gás
Manitol	—
Arabinose	—
Xilose	—

Tabela 4. Fermentação dos açúcares por *B. cereus* utilizando o sistema (API 50 CHB).

<i>Açúcares</i>	<i>Produção de Ácidos</i>
Glicerol	+
Eritritol	—
D-Arabinose	—
L-Arabinose	—
Ribose	+
D-Xilose	—
L-Xilose	—
Adonitol	—
β Metil -xilósídeo	—
Galactose	—
D-glicose	+
D-frutose	+
D-manose	+
L-sorbose	—
Ramnose	—
Dulcitol	—
Inositol	—
Manitol	—
Sorbitol	—
α Metil D-manosídeo	—
α Metil D- glucosídeo	—
N-acetil -glucosamina	+
Amigdalina	—
Arbutina	+
Esculina	+
Salicina	+
Celobiose	+
Maltose	+
Lactose	—
Melibiose	—
Sacarose	+
Trealose	+
Inulina	—
Melezitose	—
D-Rafinose	—
Amido	+
Glicogênio	+
Xilitol	—
β Gentiobiose	—
D-Turanose	—
D-Lixose	—
D-Tagatose	—
D-fucose	—
D-arabitol	—
L-arabitol	—
Gluconato	—
2 ceto - gluconato	—
5 ceto-gluconato	—

Tabela 5. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef estéril, na eficiência de *Bacillus cereus* na redução de DQO.

5a)

pH do efluente	Tempo de cultivo (horas)			Redução de DQO em 24 h (%)
	0	24	48	
	DQO do efluente (mg/l)			
5,5	1252*	287	479	77,07
6,5	1211	185	335	84,72
7,5	1236	370	601	70,06
8,5	1198	320	684	73,28
9,5	1405	364	532	74,09

* amostra centrifugada

5b)

pH do efluente	Tempo de cultivo (horas)			Redução de DQO em 24 h (%)
	0	24	48	
	DQO do efluente (mg/l)			
5,5	1225*	396	621	67,67
6,5	1344	497	545	63,02
7,5	1513	584	809	61,40
8,5	1259	647	928	48,61
9,5	1402	668	753	52,35

* amostra não centrifugada

Tabela 6. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef_1 na eficiência de *Pleurotus sajor - caju* na redução de DQO.

pH do efluente	Tempo de cultivo (horas)			Redução de DQO em 144h (%)
	0	72	144	
	DQO do efluente (mg/l)			
5,5	1276	1194	542	57,5
6,5	1266	1156	514	59,39
7,5	1336	1334	538	59,73
8,5	1360	1260	624	54,11
9,5	1284	1192	568	55,76

Tabela 7. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef_1 na eficiência de *Pleurotus ostreatoroseus* na redução de DQO.

pH do efluente	Tempo de cultivo (horas)			Redução de DQO em 144 h (%)
	0	72	144	
	DQO do efluente (mg/l)			
5,5	1244	1242	916	26,36
6,5	1268	1078	790	37,69
7,5	1302	1240	874	32,87
8,5	1678	1202	906	46,0
9,5	1292	1244	930	28,0

Tabela 8. Influência do pH inicial do meio de crescimento Ef₁ bruto, na eficiência de *Bacillus cereus* na redução de DQO.

8a)

pH do efluente	Tempo de cultivo (horas)			Redução de DQO em 48 h (%)
	0	24	48	
	DQO do efluente (mg/l)			
5,5	1207*	281	114	90,51
6,5	1340	284	143	89,32
7,5	1201	213	62	94,8
8,5	1276	225	82	93,57
9,5	1243	251	74	94,0

* amostra centrifugada

8b)

pH do efluente	Tempo de cultivo (horas)			Redução de DQO em 48 h (%)
	0	24	48	
	DQO do efluente (mg/l)			
5,5	1299*	394	365	71,9
6,5	1233	603	382	69,01
7,5	1231	421	339	72,46
8,5	1269	412	462	63,59
9,5	1315	492	416	68,36

* amostra não centrifugada