

USO DE REATORES EM BATELADA COM INÓCULO DE *Aspergillus niger* PARA TRATAMENTO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DA INDÚSTRIA DE BENEFICIAMENTO DA CASTANHA DE CAJU

Marcus ANDRADE (1); Karoline Oliveira (2); Livia Nobre (3) Glória MARINHO (4); Kelly RODRIGUES (5)

(1) CEFET CE, Avenida 13 de maio, 2081 Benfica CEP 60040-531 Fortaleza-CE, Tel: (85) 33073600; e-mail:

marcus.skyller@gmail.com

(2) CEFET CE, e-mail: karoline_lu@hotmail.com

(3) CEFET CE, e-mail: livianobre@hotmail.com

(4) CEFET CE, e-mail: gloriamarinho@cefetce.br

(5) CEFET CE, e-mail: kelly@cefetce.br

RESUMO

As indústrias de beneficiamento da castanha de caju possuem destaque na economia nordestina, sobretudo no Estado do Ceará, principal produtor e exportador do produto. Contudo, há a necessidade de promover o descarte adequado de seus efluentes, uma vez que apresentam em sua composição compostos fenólicos de difícil biodecomposição, como cardóis e ácido anacárdico, os quais representam séria ameaça ao ambiente e ao homem por serem compostos mutagênicos. Neste trabalho, primeiramente, foi realizado teste de toxicidade em placas de Petri contendo meio de cultura Sabouraud e LCC (Líquido da castanha do caju), principal fonte de cardóis e ácido anacárdico nestas águas residuárias, com variações de 5% a 100%. Em outra etapa, foram utilizados 18 reatores, com volume útil de 500 mL, operados em batelada para o tratamento de água residuária da indústria de beneficiamento da castanha de caju. Em seis dos reatores foi adicionado inóculo de *Aspergillus niger* AN 400, na concentração de 2×10^6 esporos/mL e água residuária, em outros seis reatores foi adicionado inóculo de *Aspergillus niger* AN 400, na mesma concentração dos reatores com fungos, água residuária e glicose. Foram utilizados 6 reatores de controle, os quais não receberam inóculo fúngico, possuindo em seu interior apenas água residuária. O desmonte dos reatores foi feito (1 RC, 1RF, 1 RFG) a cada dois dias. As variáveis estudadas foram: DQO (Demanda Química de oxigênio), fenóis, pH (potencial hidrogeniônico) e SSV (Sólidos Suspensos Voláteis). Houve redução da concentração de quase 100% de fenóis em todos os reatores estudados, embora a redução da concentração de DQO tenha sido mais acentuada nos reatores com fungo (79%) contra 43% alcançados pelos reatores de controle, indicando a grande versatilidade do *Aspergillus niger* não apenas na utilização dos fenóis, mas também dos compostos derivados de sua degradação.

PALAVRAS-CHAVES: água residuária da castanha de caju, *Aspergillus niger* AN 400, fenóis, reatores em batelada.

1. INTRODUÇÃO

A indústria de beneficiamento da castanha de caju vem destacando-se cada vez mais no cenário econômico cearense devido sua alta capacidade de produção. Todos esses processos industriais geram grandes volumes de resíduos, principalmente quando se fala no LCC, líquido da casca da castanha de caju, que é obtido, segundo Soares (1986), após determinadas fases do processo de beneficiamento da castanha, as quais são basicamente oito: pesagem, armazenagem, secagem, classificação, lavagem, extração do LCC e a descortinagem. O LCC é constituído de uma mistura de compostos fenólicos de longa cadeia. Os principais constituintes do LCC são os ácidos anacárdicos e os cardóis, que conforme estudos de Agostini-Costa *et al* (2005) são os mais abundantes no líquido, sendo o LCC utilizado para a fabricação de tintas, vernizes, corantes, lubrificantes, desinfetantes, inseticidas.

As águas residuárias contendo compostos fenólicos, como as da indústria da castanha de caju, possuem características ácidas, mutagênicas e carcinogênicas e é necessário o tratamento dos efluentes antes de sua disposição final em corpos hídricos. De acordo com o CONAMA (2005), os índices permitidos de compostos fenólicos nos efluentes são de 0,5 mg/L, sendo necessário a busca por tecnologias para tratar tais efluentes, de modo a tornar a concentração desses tóxicos presentes no efluente em níveis aceitáveis para o lançamento a fim de não causar danos ao meio ambiente.

Em se tratando de compostos de alto peso molecular, como é o caso do ácido anacárdico e dos cardóis, tem-se estudado os gêneros *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Phanerochaete* entre outros, os quais utilizam os compostos aromáticos em seu metabolismo por meio de enzimas catabólicas (GARCIA *et. al.* 2000). Os reatores biológicos com fungos surgem como uma tecnologia alternativa e apresentam resultados positivos, podendo-se citar os trabalhos de Rodrigues *et. al.* (2004), Rodrigues *et. al.* (2005) e Sampaio *et. al.* (2005). Os fungos atuam como decompositores primários na natureza e possuem grande potencial na degradação dos mais diferentes tipos de poluentes, além de suportarem possíveis variações de carga orgânica, pH e oxigênio. Outra característica favorável para a aplicação dos fungos na descontaminação de efluentes industriais é a presença de diversas enzimas, citando-se, entre elas, lacases, proteases e fenol-hidroxilase (RODRIGUES, 2006).

Outra característica interessante dos fungos é a capacidade de crescer fazendo uso de compostos fenólicos como substrato, assim relatado por Santos e Linardi (2003), que realizaram teste utilizando simultaneamente fenol e glicose para verificar o crescimento dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Os resultados encontrados pelos autores comprovaram que os fungos dos gêneros citados foram capazes de degradar fenol, o que ocorre através do rompimento do anel aromático tendo como principais subprodutos ácidos orgânicos (FADIL *et al*, 2003).

Neste trabalho foi estudado o tratamento da água residuária contendo compostos fenólicos, com e sem adição de glicose ao meio, a fim de verificar a eficiência do processo pelo uso de fungos, tendo-se utilizado como inóculo, *Aspergillus niger* AN 400.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A exploração da cultura do caju é considerada uma das principais atividades agroindustriais do Nordeste do Brasil. Como o principal produto explorado nesta atividade tem-se a amêndoa da castanha de caju, que é industrialmente beneficiada nos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí, sendo uma das principais fontes de receita na exportação de produtos industrializados no Estado do Ceará. Outra alternativa para a exploração econômica do caju é a industrialização do seu pseudofruto (pedúnculo) que representa cerca de 90% do peso do fruto do caju. O potencial de agroindustrialização do pedúnculo do caju permite que dele sejam obtidos diversos produtos da agroindústria de processamento de frutos tais como bebidas, sucos, doces, conservas entre outros (SOUZA FILHO *et al* 2006).

De acordo com Soares (1986) *apud* Santos (2007), o fluxograma do processo de beneficiamento da castanha de caju envolve basicamente oito etapas: pesagem, armazenagem, secagem, classificação (separação das castanhas de acordo com o tamanho), lavagem, extração do LCC (líquido da castanha de caju), em

residuárias, com quantidades acima de 1000 mg/L. Sendo que valores em torno de 0,1 µg/L em águas de abastecimento causam danos à saúde humana (RAO e VIRARAGHAVAN 2002).

Os fungos utilizados em reatores biológicos surgem como uma alternativa interessante para o tratamento de efluentes industriais, pois são importantes decompositores na natureza, despertando interesse devido ao grande potencial desses microrganismos em degradar os mais diferentes tipos de substratos devido a secretação de diferentes enzimas, as quais atuam sobre o organopoluente, tornando-o mais acessíveis à biodegradação (RODRIGUES et al., 2006). Além disso, a rápida reprodução e proliferação desses microrganismos e a capacidade de suportarem possíveis variações de carga orgânica, oxigênio, umidade e pH, podem ser mencionados como indicadores da viabilidade em empregá-los em reatores biológicos para o tratamento de águas residuárias (RODRIGUES et al., 2006).

Os fungos dentro do saneamento atuam nos processos de transformação dos resíduos orgânicos, onde funcionam como recicladores de matéria nos diversos ecossistemas. O potencial fúngico para degradar polímeros tem sido amplamente estudado e, em muitos casos, aplicado para remoção de compostos de difícil degradação. Esses microrganismos, de um modo geral, promovem degradação de compostos aromáticos, através dos sistemas enzimáticos citocromo P450 monoxigenase e lignolítico (PRENAFETA BOLDÚ, 2002 *apud* SANTOS et al., 2004).

Assim, a utilização de fungos no tratamento de água residuária contendo LCC não apenas visa à obtenção de um resíduo líquido de menor potencial poluidor, com remoção de matéria orgânica carbonácea e de nutrientes, mas também aprofundar o conhecimento sobre a operação de reatores com fungos a partir da determinação de variáveis de partida e controle do processo, o que ajudará na otimização desta tecnologia de tratamento.

3. METODOLOGIA

3.1. Teste de toxicidade

Variou-se a concentração de líquido da casca da castanha de caju (LCC) em placas de Petri, acrescido de meio de cultura Saboraund. Foram escolhidas concentrações de LCC de: 30%, 50%, 70% e 100%, sendo o ensaio realizado em duplicata. Adicionou-se ainda ao meio, cloranfenicol (0,05g/L), para inibição de atividade bacteriana, e Vishniac (1mL/L), solução de nutrientes cuja composição é mostrada na Tabela 1.

Tabela 1: Composição química da solução de Vishniac

Produto Químico	g/L na solução
EDTA-etileno diamino tetracético	10,0
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	4,4
MnCl ₂ . 4H ₂ O	1,0
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0,32
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ . 4H ₂ O	0,22
CaCl ₂ . 2H ₂ O	1,47
FeSO ₄ . 4H ₂ O	1,0

Após a inoculação do *Aspergillus niger* AN 400, na forma de suspensão de esporos, as placas foram incubadas a uma temperatura de 28°C, que segundo Pamboukian (1997) é considerada ótima para o crescimento dos fungos.

3.2. Preparo do inoculo

Os esporos de *Aspergillus niger* AN 400 foram cultivados em placas de Petri em meio de cultura Saboraund previamente esterilizado onde foram acrescidos cloranfenicol (0,05g/L) e Vishniac (1mL/L). Depois de distribuído nas placas, a suspensão de esporos foi inoculada, permanecendo as mesmas sob temperatura de 28°C, durante período de 10 dias, até se obter o preenchimento de toda a superfície das placas. Após esse período, os esporos foram removidos com solução Tween 80 e guardados em frasco estéril para posterior contagem em câmara de Neubauer (Figura 1), utilizando microscópio ótico, com aumento de 400 vezes.

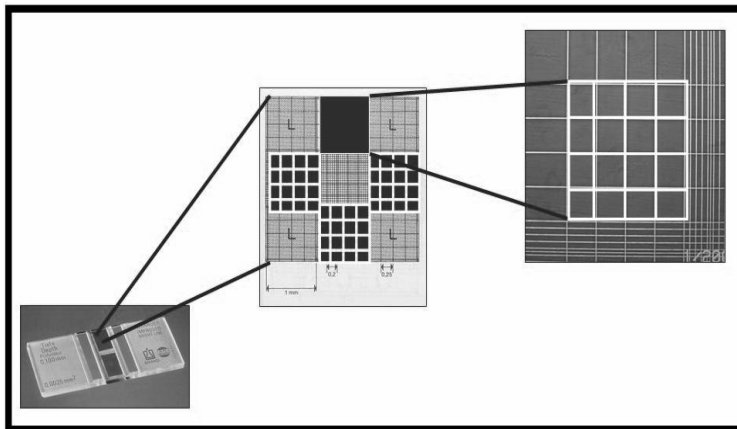


Figura 1 – Câmara de Neubauer

3.3. Ensaio em batelada

Neste ensaio foram utilizados 18 reatores, cada um com volume reacional de 500 mL, os quais receberam água residuária da indústria de beneficiamento da castanha de caju, proveniente da indústria Iracema, localizada em Fortaleza; solução Vishniac (1mL/L) e cloranfenicol (0,05g/L), este último para inibição de atividade bacteriana. Dos 18 reatores, 6 foram reatores de controle (RC), que receberam apenas água residuária; 6 reatores com fungos (RF), que receberam água residuária e inoculo fúngico e 6 reatores com fungos, que receberam água residuária e glicose (0,5 g/L).

A glicose foi usada como fonte primária de carbono, substância mais fácil de ser assimilada pelos fungos (Griffin, 1994). A concentração de esporos utilizada no inóculo foi de 2×10^6 esporos/mL. A aeração foi provida artificialmente por minicompressores de ar. O pH inicial do meio foi ajustado de 6,0 para 3,5, com uso de ácido sulfúrico 2,5M, para melhor desenvolvimento do *Aspergillus niger*, bem como minimização da atividade bacteriana. A operação dos reatores ocorreu conforme descrito na Tabela 2.

O ensaio abrangeu um período de 15 dias, ocorrendo, a cada dois dias, a paralisação de três reatores (1 RC, 1RF e 1 RFG). As análises realizadas foram: DQO, pH e SSV, cujos procedimentos encontram-se descritos em APHA (1998), exceto fenóis, que ocorreu segundo Merk (1975).

Tabela 2: Cronograma de operação dos reatores em batelada

Tempo de reação (dia)	Controle (RC)	Reatores com Fungo	
		Fungo (RF)	Fungo e glucose (RFG)
1	RC ₁	RF ₁	RFG ₁
3	RC ₂	RF ₂	RFG ₂
6	RC ₃	RF ₃	RFG ₃
10	RC ₄	RF ₄	RFG ₄
13	RC ₅	RF ₅	RFG ₅
15	RC ₆	RF ₆	RFG ₆

4. ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DE DADOS

4.1. Teste de toxicidade

O No teste de toxicidade percebeu-se que o *Aspergillus niger* AN 400 se desenvolveu em todas as concentrações estudadas, porém o crescimento foi maior, cobrindo toda a superfície da placa, até a concentração de LCC de 50%. Embora, o fungo tenha se desenvolvido nas concentrações de 70% e 100%, o crescimento foi menos uniforme, mostrando que a espécie possui grande resistência aos compostos fenólicos que compõem o LCC, presente na água residuária a ser utilizada. Na Figura 2 são mostrados os fungos crescendo nas placas de Petri utilizadas no ensaio de toxicidade.



Figura 2 – Teste de toxicidade

4.2. Caracterização da Água residuária

A água residuária coletada na indústria de beneficiamento de castanha de caju apresentou as características mostradas na Tabela 3.

Tabela 3: Características da água residuária coletada na indústria de beneficiamento de castanha de caju.

Variável	
DQO bruta (mg/L)	12384
DQO filtrada (mg/L)	12259
Fenóis (mg/L)	10
pH	6

A concentração de fenóis na água residuária se encontrava acima do que é determinado pelo CONAMA (2005) como padrão de lançamento de efluentes industriais, ressaltando a importância do seu tratamento antes de disposição final no meio ambiente.

4.3. Ensaio em batelada

Todos os reatores estudados apresentaram comportamento similar quanto à remoção de fenóis, inclusive os que possuíam a função de controle, e chegaram a quase 100% de redução da concentração inicial, no 10º dia de operação, diferente de Li (2007) que observou, utilizando o gênero *Fusarium* que em seus reatores contendo glicose numa concentração de 3g/L houve uma remoção de 100% de fenol em apenas 6 dias de operação. Na figura a seguir está apresentada a variação da remoção de fenol em diferentes tempos de reação.

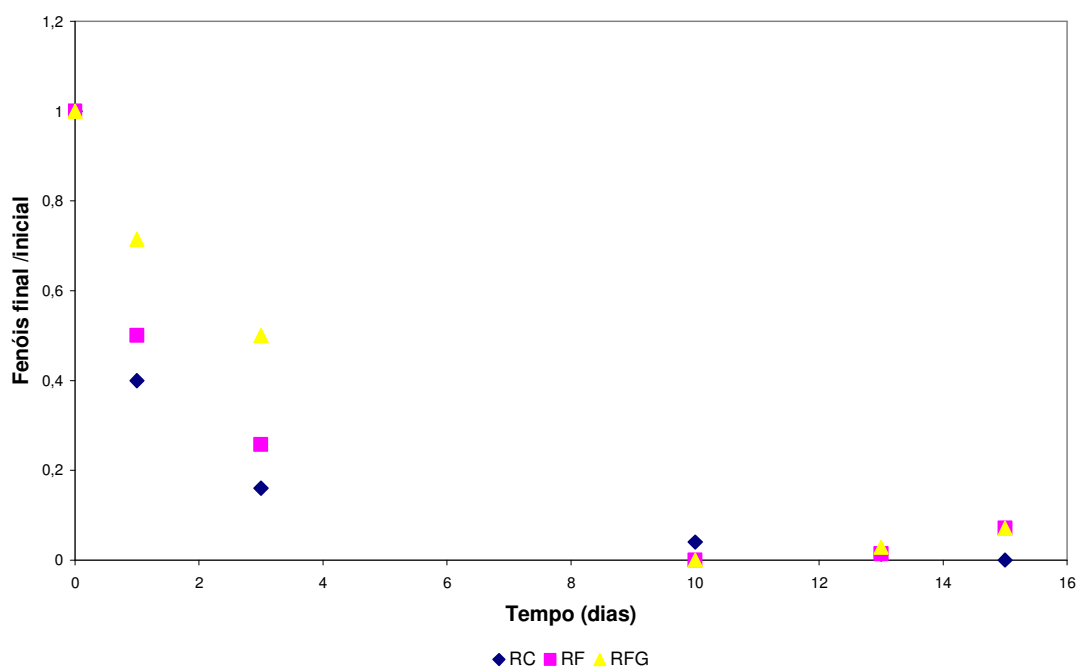


Figura 3: Variação da concentração de fenóis em relação ao tempo nos reatores em batelada

Ainda em relação à redução da concentração de fenóis no meio, observou-se, no início da operação em batelada, ligeira vantagem dos reatores de controle sobre os reatores que continham inóculo fúngico. Esses resultados se contrapõem aos de Rodrigues (1999) que observou em seu trabalho uma aceleração inicial do consumo do substrato pelo uso de *A. niger*, quando do emprego da espécie em reatores em batelada para o tratamento de água residuária sintética de laticínios.

É importante frisar que neste trabalho, o inóculo utilizado foi na forma de esporos, enquanto que Rodrigues (1999) utilizou biomassa fúngica cultivada como inóculo, podendo indicar uma fase de adaptação

maior no caso do material de inóculo se encontrar na forma de suspensão de esporos. Além disso, cabe ressaltar que a água residuária em questão se trata de meio “*in natura*”, possuindo microbiota própria, a qual também teria participado do processo de degradação da água residuária nos reatores em estudo, particularmente, nos reatores RC.

Ao estudar os dados referentes à remoção de matéria orgânica solúvel (DQO filtrada), verificou-se eficiência superior dos reatores RF e RFG em relação aos de controle, de modo que no 10º dia de operação os reatores com fungos apresentaram 79% (RF) e 71% (RFG), de redução de DQO solúvel, enquanto em RC a redução foi de apenas 43%, como mostrado na Figura 4.

Neste trabalho, observou-se também que embora a diminuição da concentração de fenóis tenha sido similar, tanto nos reatores com fungos como nos de controle, com percentuais elevados de remoção, a mesma eficiência não ocorreu em relação à remoção de matéria orgânica solúvel para os reatores RC.

Conforme relatado por Fadil *et al* (2003) e van Schie e Young (2000), na rota de degradação do fenol por fungos ocorre formação de subprodutos, como ácidos orgânicos. Assim, a maior eficiência de remoção de matéria orgânica solúvel, medida em DQO, nos reatores fúngicos em comparação com os de controle indicaria a grande versatilidade dos fungos não apenas na utilização dos fenóis, mas também dos compostos derivados de sua degradação.

Em relação ao tempo de reação, observou-se que em 10 dias houve a maior redução das variáveis estudadas (DQO e fenóis), indicando que o melhor tempo de reação estaria entre 4 a 10, uma vez que após o décimo dia não ocorreram grandes alterações.

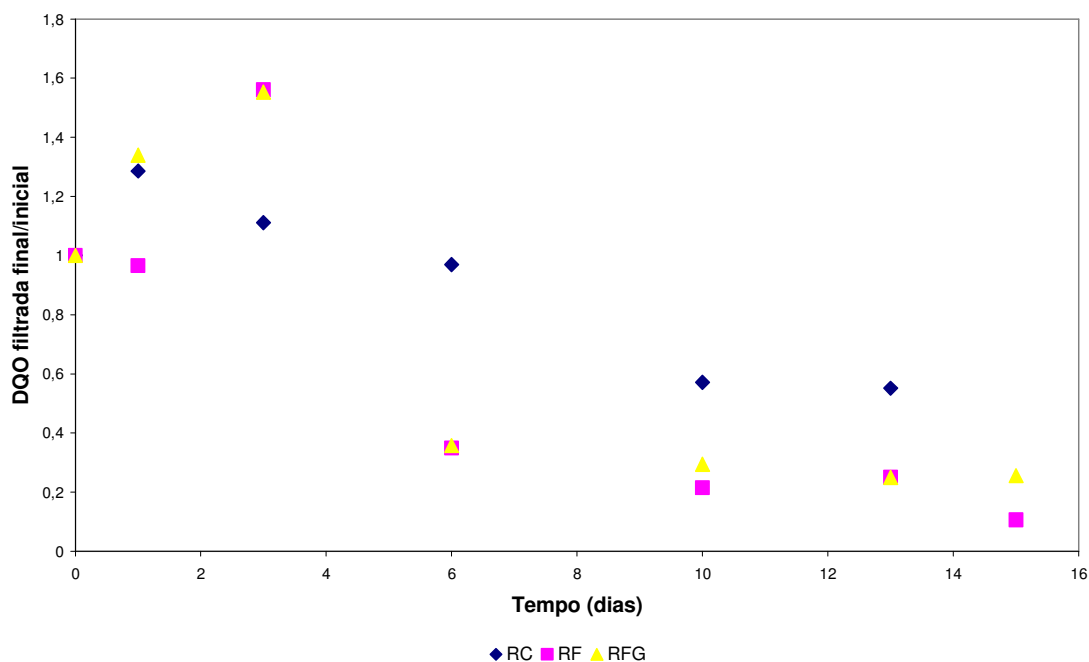


Figura 4: Concentração de DQO em relação ao tempo

Em relação à variação de pH nos reatores (Figura 5), a manutenção de valores característicos de meio ácido, mais propício ao desenvolvimento dos fungos, só ocorreu nos reatores que receberam adição de glicose como substrato primário, assim como observado no trabalho realizado por Rodrigues (2006).

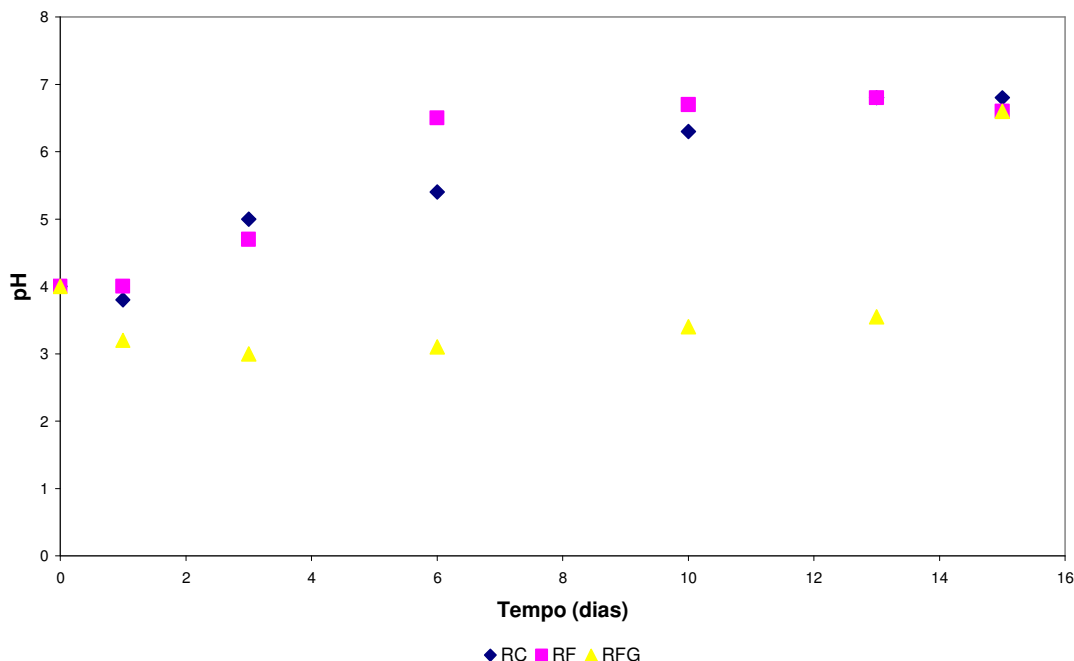


Figura 5: Variação do pH em relação ao tempo

Rodrigues (2006) em experimento em batelada, com *Aspergillus niger*, visando a remoção de fenol do meio, verificou que a presença de glicose ajudou na manutenção de meio com baixos valores de pH, atribuindo o fato a uma maior produção de ácidos orgânicos, pois a presença do composto estimularia o crescimento na fase inicial dos fungos. Segundo a autora, a glicose teria proporcionado aos fungos melhores condições para o crescimento, promovendo a adaptação dos microrganismos ao fenol, resultando em maior crescimento de biomassa e, conseqüentemente, melhor eficiência de remoção de fenol e DQO da água residuária sintética empregada.

Embora a intensa produção de ácidos orgânicos seja relatada na literatura como reflexo da melhor atividade metabólica do *A. niger* (FADIL *et al*, 2003; RODRIGUES, 2006), nos reatores fúngicos que não receberam glicose (RF), nos quais os valores de pH foram característicos de meio neutro, na maior parte da operação, a eficiência de tratamento foi similar à alcançada pelos reatores RFG. Nestes reatores o consumo de ácidos orgânicos foi superior à produção dos mesmos, como reflexo provável da interação entre as comunidades microbianas ali estabelecidas.

5. CONCLUSÃO

Independente da presença ou não de glicose no meio os reatores inoculados com fungos (RF e RFG) alcançaram excelentes percentuais de remoção de fenóis e de matéria orgânica solúvel que endossam a viabilidade do tratamento. Contudo, aparentemente, a glicose mostrou ser importante no estágio inicial do crescimento fúngico, permitindo maior produção de ácidos orgânicos, resultando em meio com valores de pH mais propícios ao desenvolvimento dos fungos.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AGOSTINI-COSTA; T., JALES, K. A.; OLIVEIRA, M. E. B.; GARRUTI, D. S. **Determinação espectrofotométrica de ácido anacárdico em amêndoas de castanha de caju.** Comunicado Técnico, 122, 2005.

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 20a. ed. Washington: American Public Health Association, 1998.

FADIL, K., CHAHLAOU, A., OUAHBI, A., ZAID, A., BORJA, R. **Aerobic biodegradation and detoxification of wastewaters from the olive oil industry.** International Biodeterioration & Biodegradation. 51:1: 37 – 41, 2003.

GARCIA-PENÃ, E. I., HERNANDEZ, H., FAVELA-TORRES, E., AURIA, R., REVAH, S. **Toluene biofiltration by the fungus Scodosporium apiospermum TB1.** Biotechnology and Bioengineering. 76: 1: 61 – 69, 2001.

MERK. **The testing of water.** 9th Edition, 1975.

PAMBOUKIAN, C. R. **Influência das condições de preparo de inóculo na morfologia do microrganismo e na síntese de glicoamilase por Aspergillus owamori.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo), São Paulo, Brasil, 1997.

PRENAFETA BOLDÚ, F. X. **Growth of on aromatic hydrocarbons: Environmental technology perspectives.** Thesis Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 2002.

RAO, J.R.; Viraraghavan ,T. (2002) **Biosorption of phenol from an aqueous solution by Aspergillus niger biomass.** Bioresourse technology (2002).

RODRIGUES, K. A. **Tratamento biológico de água residuária sintética de laticínios por composição fúngica.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, concentração em Saneamento, DEHA/UFC), 113p, Fortaleza, Ceará, Brasil, 1999.

RODRIGUES, K. A., Sampaio, G. M. M. S. Zaiat, M., Santaella, S. T. **Remoção de fenol de água residuária sintética por uso de reator com fungos.** In: XV SINAFERM, Recife. Resumos do SINAFERM, 2005.

RODRIGUES, K. A. **Uso de reator biológico com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética com fenol.** 2006, 144p. Tese. (Doutorado em Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo), São Carlos, São Paulo, 2006.

SANTAELLA, S. T. **Estudos de tecnologías apropriadas para tratamento de efluentes da castanha de caju.** UFC, Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental. Fortaleza: Fortaleza, Relatório Institucional de Pesquisa, 31p., 1999.

NTAELLA, S. T.; LEITÃO, R. C.; MENEZES, E. A.; SILVA, F. J. A. DA; ARAGÃO, K. DA S.; GIFFONI, D. A.; **Emprego de fungos para tratamento biológico dos efluentes da indústria de beneficiamento da castanha de caju.** In: VI simpósio ítalo-brasileiro de engenharia sanitária e ambiental, Vitória– ES, 2002.

SANTOS, E. M. A., Sampaio, G. M. M. S., Leitão, R. C., Facó, A. M., Menezes, E. A., Santaella, S.T. **Influência do tempo de detenção hidráulica em um sistema UASB seguido de um reator biológico com fungos para tratar efluentes de indústria de castanha de caju.** Eng.Sanit. Ambiental, v.2 no. 1-jan/mar, 39-45.

Soares, J. B. **O caju: aspectos tecnológicos.** Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 1986. 256p.

van SCHIE, P. M., YOUNG, L. Y. (2000). **Biodegradation of phenol: mechanisms and applications.** Bioremediation Journal. 4: 1: 1 – 18.