

## **EFICIÊNCIA DA REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E FÊNÓIS DE ÁGUA RESIDUÁRIA DA INDÚSTRIA DE BENEFICIAMENTO DA CASTANHA DE CAJU PELO USO DE REATORES EM BATELADA COM INÓCULO DE *ASPERGILLUS NIGER* AN 400.**

**Carla Bastos VIDAL (1); Marcus Vinícius ANDRADE (2); Kelly RODRIGUES (3); Glória SAMPAIO (4)**

(1) CEFET-CE, Avenida 13 de maio, 2081 Benfica CEP 60040-531 Fortaleza-CE, Tel: (85) 32883600, fax, e-mail:

[carlab.vidal@gmail.com.br](mailto:carlab.vidal@gmail.com.br)

(2) CEFET-CE, e-mail: [marcus.skyller@gmail.com](mailto:marcus.skyller@gmail.com)

(3) CEFET-CE, e-mail: [kelly@cefetce.br](mailto:kelly@cefetce.br)

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

### **RESUMO**

A água residuária oriunda das indústrias da castanha de caju possui em sua composição o líquido da castanha de caju (LCC), um dos seus principais subprodutos, o qual é amplamente utilizado em vários setores industriais, como indústrias têxteis, de cosméticos, entre outras. Porém o líquido da castanha de caju apresenta em sua composição compostos tóxicos como o ácido anacárdico e o cardol, resultando em efluente com alta carga de poluentes. A utilização de fungos em reatores biológicos se constitui em uma tecnologia inovadora para o tratamento de efluentes antes de serem depositados em corpos hídricos receptores. Neste trabalho foram utilizados como inóculo duas diferentes concentrações de esporos de *Aspergillus niger* AN 400 em ensaio em batelada a fim de determinar a concentração ótima de esporos, para o tratamento da água residuária da indústria de beneficiamento da castanha de caju, visando maior remoção de matéria orgânica, em termos de DQO, e fenóis. Em primeira etapa, foi realizado teste de toxicidade para verificar a capacidade da espécie fúngica crescer fazendo uso dos compostos presentes na água residuária. Em outra etapa, procedeu-se ao ensaio em batelada, tendo-se usado frascos, com volume útil de 500 mL, sendo 6 de controle, com água residuária; 6 com água residuária e esporos fúngicos, na concentração de  $2 \times 10^6$  esporos/mL (I1); e 6 com água residuária e esporos fúngicos, na concentração de  $2 \times 10^4$  esporos/mL (I2). Adicionou-se ao meio, 0,5 g/L de glicose. O tempo total de operação foi de 15 dias, com desmonte de 1 reator de controle e 2 com fungos, concentrações I1 e I2, a cada 2 dias. As análises realizadas foram DQO, fenóis totais, SSV e pH. Os resultados obtidos mostraram que as duas concentrações de esporos tiveram remoção similar de matéria orgânica e fenóis.

**Palavras-chave:** Água residuária do beneficiamento da castanha de caju; *Aspergillus niger*, variação de esporos; reatores em batelada; Líquido da castanha de caju.

## 1. INTRODUÇÃO

O líquido da castanha de caju (LCC) é um dos principais subprodutos da indústria da castanha de caju, sendo exportado e produzido no Brasil para uso como matéria-prima na fabricação de aglutinantes para placas de partículas de madeira e aglomerados de cortiça, de resinas fenólicas, plastificantes, antioxidante, inseticidas, pastilha de freio e disco de fricção. Mais recentemente despertou interesse em outras aplicações no setor da química fina.

O nordeste ocupa um lugar de destaque na cajucultura, com 90% da produção de amêndoa da castanha de caju voltada para exportação, segundo dados da CONAB (2004). Todo esse aumento industrial resulta em um incremento no volume de águas residuárias com alto potencial poluidor, as quais necessitam de tratamento adequado antes da disposição final nos corpos hídricos.

Apesar dos poucos estudos sobre a caracterização e o tratamento das águas residuárias oriundas das indústrias de beneficiamento do caju, sabe-se que as mesmas são ricas em compostos fenólicos, originados principalmente do LCC (AGOSTINO-COSTA *et al.*, 2005).

O LCC tem na sua composição 70% de ácidos anacárdicos, compostos fenólicos biosintetizados a partir de ácidos graxos, e 10% de cardóis, os quais possuem estrutura química parecida à dos ácidos anacárdicos e apresentam uma segunda hidroxila no anel aromático (AGOSTINO-COSTA *et al.*, 2005).

A presença de compostos fenólicos em águas residuárias é uma grande ameaça para o meio ambiente devido às características ácidas, tóxicas, mutagênicas e carcinogênicas desses compostos, sendo necessário à remoção adequada desses compostos antes da disposição das águas residuárias em corpos hídricos receptores.

Assim o desenvolvimento de novas tecnologias é de grande valor a fim de que possam vir a serem mais atraentes economicamente. O uso de reatores biológicos com fungos é uma alternativa de tratamento para águas residuárias e apresenta resultados positivos graças ao importante papel que esses microrganismos desempenham como decompositores primários. Além disso, outro aspecto favorável é o seu potencial na degradação dos mais diferentes tipos de poluentes, sob condições limitantes, tornando-os mais acessíveis à biodegradação devido à produção de diferentes enzimas, como lacases, proteases, celulasas, entre outras (SANTAELLA *et al.*, 1999; GARCIA-PEÑA *et al.*, 2001).

A concentração de esporos usados como inóculo (“tamanho do inóculo”) pode influenciar na eficiência do processo, sendo importante estabelecer a concentração ideal a fim de evitar a produção exagerada de biomassa, causando problemas de limitação difusional, otimizando, desta forma, o processo de tratamento.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Inóculo

Foi usada a espécie *Aspergillus niger* AN 400 com o inóculo, na forma de uma solução de esporos, nas concentrações de  $2 \times 10^6$  esporos/mL (I1) e  $2 \times 10^4$  (I2) esporos/mL. Para a preparação do inóculo foi realizada a produção de esporos, inoculando a linhagem em placas de Petri estéreis, contendo 15 mL de meio de cultura Sabouraud, meio específico para crescimento dos fungos, sendo mistura de peptona, agar-ágar, 2% de dextrose e glicose. O meio foi previamente esterilizado a 122°C, durante, aproximadamente, 15 minutos. Adicionou-se ainda à placa, solução de Vishniac, na concentração de 1 mL/L de meio de cultura, como fonte de nutrientes para os fungos.

As placas inoculadas com fungos permaneceram por 5 dias em temperatura de 28°C, tendo-se ao final deste período observado o crescimento dos esporos por toda a placa; logo depois foi feita a remoção dos esporos e, em seguida, o procedimento de contagem, utilizando microscópio óptico, com aumento de 45 vezes, no qual se obteve a concentração de  $8 \times 10^8$  esporos/mL da solução mãe.

A partir da Equação 1, determinou-se o volume da solução mãe a ser adicionado nos reatores para a obtenção das concentrações de esporos I1 e I2.

$$C1 \times V1 = C2 \times V2 \quad [\text{Eq. 1}]$$

Onde:

C1: Concentração de esporos na solução mãe;

C2: Concentração de esporos desejada para inóculo;

V1: Volume da solução mãe;

V2: Volume reacional ou volume útil do reator em batelada

## 2.2. Ensaio de toxicidade

O ensaio de toxicidade foi realizado em duplicata, utilizando-se 10 placas de Petri (30 mL) que receberam substrato composto de meio de cultura Saboraud e LCC. O substrato foi preparado com diferentes concentrações de LCC, sendo o volume completado com adição do meio de cultura Saboraud. As concentrações de LCC foram de 30%, 50%, 70% e 100%. Cada placa recebeu 30 mL do substrato e inóculo de *Aspergillus niger* AN 400, na forma de solução de esporos, na concentração de  $8 \times 10^8$  esporos/mL. A fim de evitar contaminação bacteriana foi adicionado cloranfenicol (0,05g/L) ao meio. As placas foram mantidas a uma temperatura de 28°C, durante um período de uma semana. O crescimento dos fungos foi medido apenas visualmente.

## 2.3. Água Residuária

A água residuária utilizada no ensaio em batelada foi oriunda de uma indústria de beneficiamento de castanha de caju, Indústria Iracema, localizada na cidade de Fortaleza-Ce. A água residuária foi coletada no dia 24 de outubro de 2006 no tanque de equalização da indústria, de modo que as amostras contidas nesses tanques vão direto para a rede municipal de esgotos.

## 2.4. Batelada

O experimento em batelada foi realizado com 6 reatores de controle, contendo apenas água residuária; 6 reatores com água residuária e esporos fúngicos, na concentração de  $2 \times 10^6$  esporos/mL (I1); e 6 com água residuária e esporos fúngicos, na concentração de  $2 \times 10^4$  esporos/mL (I2). Os reatores eram frascos que tinham volume útil de 500 mL. A aeração do meio foi mantida com uso de mini-compressores de ar.

Os reatores foram montados, de modo que, nos que receberam inóculo, a manipulação ocorreu na proximidade do bico de Bunsen para minimizar contaminação. Os reatores que continham inóculo fúngico receberam Vishniac (1mL/L) como fonte de nutrientes para os fungos. Em todos os reatores foi adicionado cloranfenicol (0,05 g/L), a fim de evitar contaminação por bactérias, e glicose (0,5 g/L) como co-substrato, representando uma fonte mais fácil de ser assimilada e garantindo, assim, a reserva energética inicialmente necessária para o crescimento dos fungos, conforme relatado por Rodrigues (2006). Os reatores foram operados ao longo de 15 dias, segundo o cronograma de operação, mostrado na Tabela 1.

**Tabela 1: Cronograma de operação dos reatores em batelada**

Tempo de reação (dia)	Controle (RC)	Fungos (RF) (esporos/mL)	
		(I) $2 \times 10^4$	(II) $2 \times 10^6$
1	RC <sub>1</sub>	RF <sub>I1</sub>	RF <sub>II1</sub>
3	RC <sub>2</sub>	RF <sub>I2</sub>	RF <sub>II2</sub>
6	RC <sub>3</sub>	RF <sub>I3</sub>	RF <sub>II3</sub>
10	RC <sub>4</sub>	RF <sub>I4</sub>	RF <sub>II4</sub>
13	RC <sub>5</sub>	RF <sub>I5</sub>	RF <sub>II5</sub>
15	RC <sub>6</sub>	RF <sub>I6</sub>	RF <sub>II6</sub>

As variáveis analisadas foram: DQO, fenóis, pH e SSV, executadas de acordo com APHA (1998), exceto fenóis, o qual foi realizado de acordo com a metodologia descrita em Merk (1975).

### 3. RESULTADOS OBTIDOS

De acordo com o teste de toxicidade, a concentração de 50% de LCC bruto foi, aparentemente, a maior concentração tolerável pelo fungo, pois houve preenchimento de toda a superfície das placas pela espécie em questão. Naquelas placas onde as concentrações de LCC foram superiores a 50%, não se observou o preenchimento completo de sua superfície, mas sim de alguns pontos isolados, o que indica que, embora não sejam concentrações ideais para o crescimento do fungo, o mesmo foi tolerante ao efeito tóxico do LCC. Na Figura 1, pode ser observado o crescimento do *Aspergillus niger* AN 400 nas concentrações de 50% e 30% de LCC, com o preenchimento total da superfície das placas.

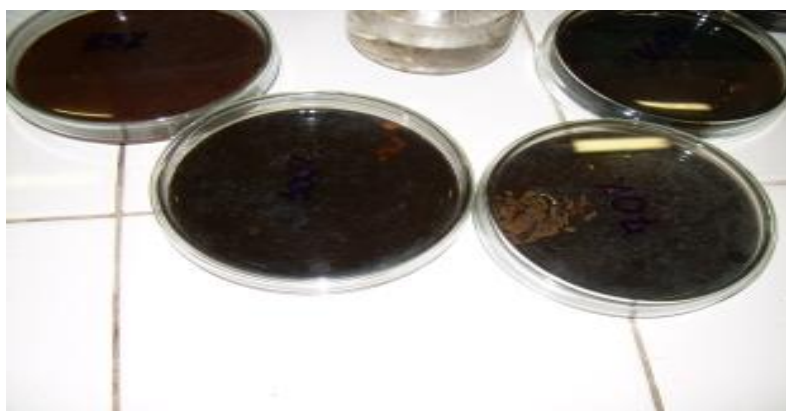


Figura 1: Teste de toxicidade em placas nas concentrações de 50% e 30% de LCC.

A água residuária coletada na indústria de beneficiamento de castanha de caju apresentou as características mostradas na Tabela 2.

**Tabela 2: 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	4,0

Verificou-se que a concentração de fenóis inicial estava acima do que é determinado pelo CONAMA (2005) como padrão de lançamento de efluentes industriais, ou seja, 0,5 mg/L, exigindo, portanto, o tratamento da água residuária.

Todos os reatores apresentaram comportamento similar quanto à remoção de fenóis, inclusive o RC que chegou a 100% de remoção de fenóis, no 10º dia de operação, conforme apresentado na Figura 2. Isto mostrou que tanto nos reatores inoculados com *A. niger* como no de controle, houve atividade microbiana, resultando no consumo de fenóis presentes na água residuária.

Não foi possível a obtenção de dados da concentração de fenóis no sexto dia, devido à problemas laboratoriais. Contudo, verificou-se redução mais acentuada de fenóis após o 4º dia, semelhante ao observado no trabalho realizado por Rodrigues (2006) que utilizou *Aspergillus niger* em reatores em batelada visando a remoção de fenol de um meio sintético. A autora relatou ter obtido maior remoção de fenol após a exaustão da glicose no meio, o que ocorreu no 3º dia de operação.

Em relação à remoção de matéria orgânica dissolvida, DQO solúvel, os reatores RFI e RFII também foram mais eficientes, alcançando ao final da batelada remoção de 91% e 75%, respectivamente. Em contrapartida, o melhor desempenho do reator de controle, quanto à remoção de DQO solúvel foi de apenas 45%, no 13º dia de operação. Na Figura 3 é mostrada a variação de matéria orgânica, em termos de DQO solúvel, nos reatores em batelada.

A maior eficiência na diminuição da concentração de fenol em relação à de matéria orgânica solúvel ocorreu provavelmente devido a formação de subprodutos da degradação dos compostos fenólicos, conforme relatado por Rodrigues (2006). Segundo van Schie e Young (2000), a degradação aeróbia do fenol envolve etapas nas quais os compostos intermediários são formados para posterior assimilação como ácido mucônico e 2-hidroximucônico, o que endossa a formação de subprodutos oriundos da degradação dos fenóis, os quais contribuem com a DQO solúvel.

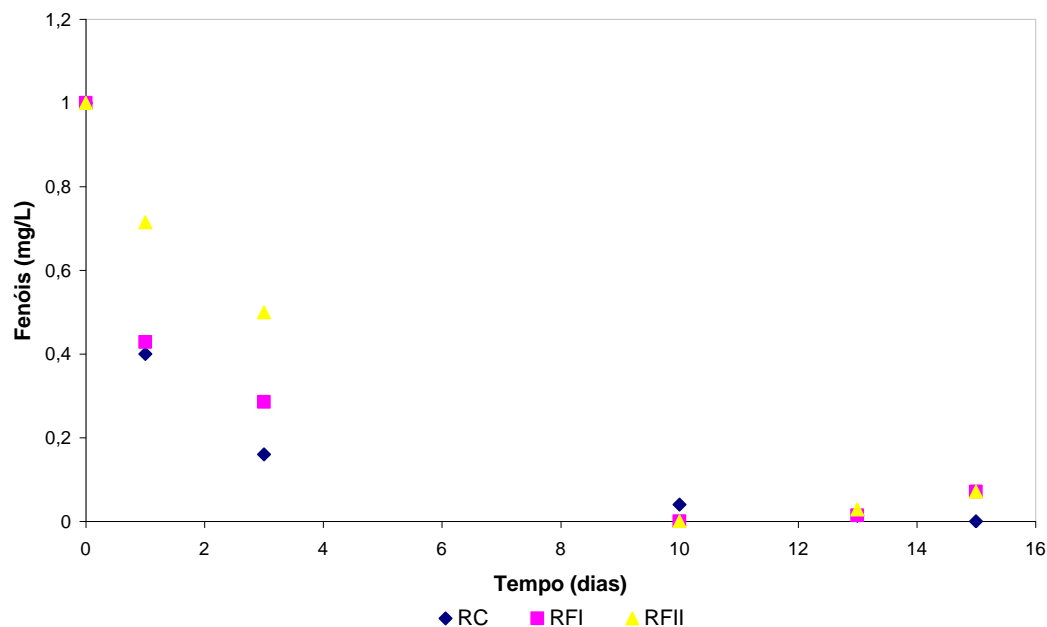


Figura 2: Variação da concentração de fenóis nos reatores.

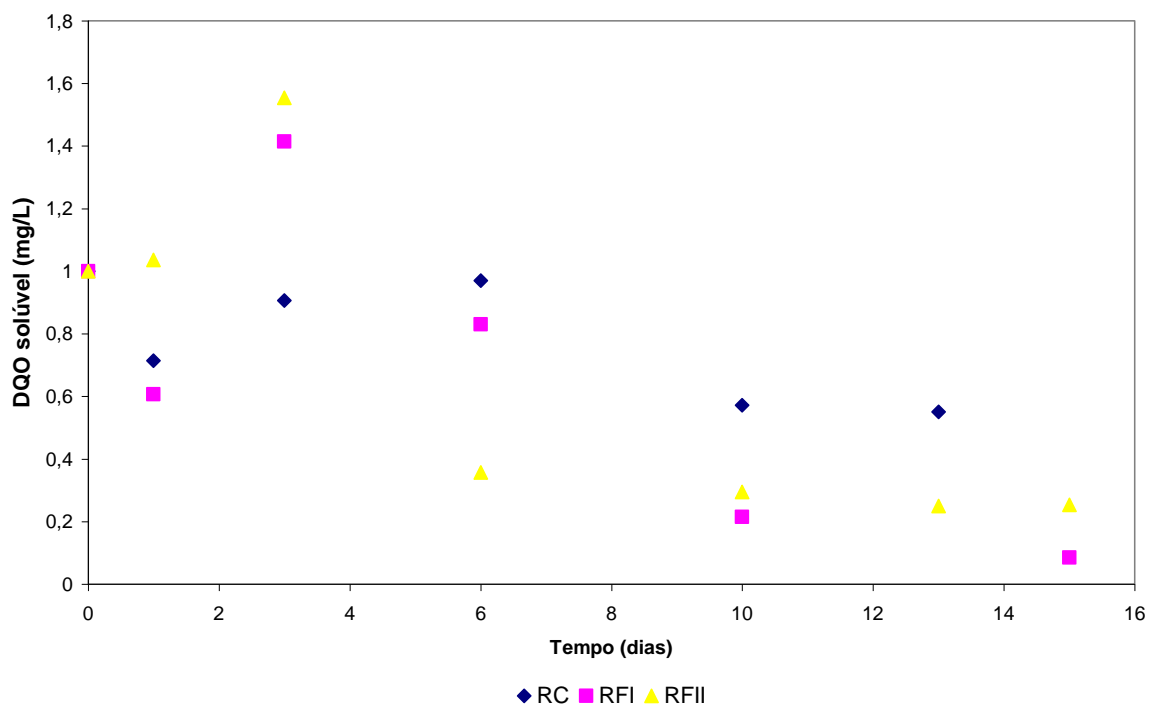
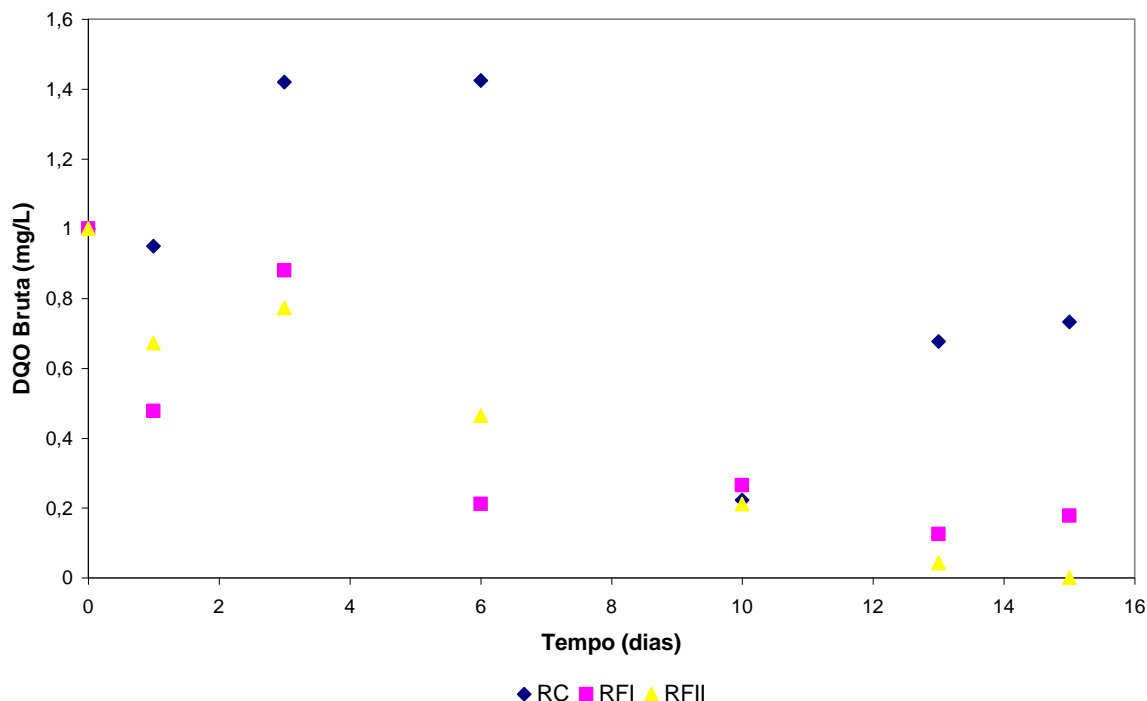


Figura 3: Variação da concentração de matéria orgânica, em termos de DQO solúvel, nos reatores.

Observou-se ainda que nos reatores com fungos ocorreu melhor desempenho quanto à remoção de matéria orgânica, em termos de DQO bruta, sendo de 86% e 97%, respectivamente, para RFI e RFII, no 13º dia de operação, enquanto RC obteve apenas 32% de eficiência, como mostrado na Figura 4. A maior eficiência do reator RFII em relação ao RFI pode ser atribuída a falha na homogeneização do meio, durante a execução da análise, uma vez que RFI apresentou melhor percentual de remoção de matéria orgânica dissolvida.



**Figura 4: Variação da concentração de matéria orgânica, em termos de DQO bruta, nos reatores.**

A variação de pH (Figura 5) mostrou que nos reatores inoculados com *A. niger* ocorreram os menores valores, característicos de meio ácido, na maior parte do experimento, como possível consequência de uma maior produção de ácidos orgânicos, oriundos da degradação de compostos presentes na água residuária, conforme relatado por Rodrigues (2006) e Fadil *et al* (2003). Segundo esses autores a produção de ácidos orgânicos é reflexo da melhor atividade metabólica do *A. niger*. No reator de controle, o pH variou de 4 a 7, com o aumento gradual até atingir o valor máximo da faixa de variação.

Com relação à produção de biomassa, em termos de SSV, no último dia da batelada, nos reatores RI e RII, foram obtidos valores muito próximos, respectivamente, de 3,8 g SSV/L e 4,4 g SSV/L, sendo que o meio em ambos os reatores apresentavam valores baixos de pH, característicos de meio ácido.

É importante ressaltar que o pH tem relação com a produção de biomassa fúngica no interior dos reatores (Rodrigues, 2006), sendo que O'Donnell *et al.* (2001), ao investigar o efeito do controle do pH sobre a atividade de enzimas proteases produzidas por *A. niger* observou maior produção de biomassa em pH 3 (5,1 g de biomassa/L), registrando-se valores menores em pH 7 (1,9 g de biomassa/L).

Além disso, os resultados de SSV indicaram que para as concentrações de esporos utilizadas como inóculo,  $2 \times 10^4$  esporos/mL e  $2 \times 10^6$  esporos/mL, aparentemente, não houve diferença significativa na eficiência de tratamento da água residuária em questão, em relação aos resultados de fenóis terem alcançado similar patamar de redução da concentração.

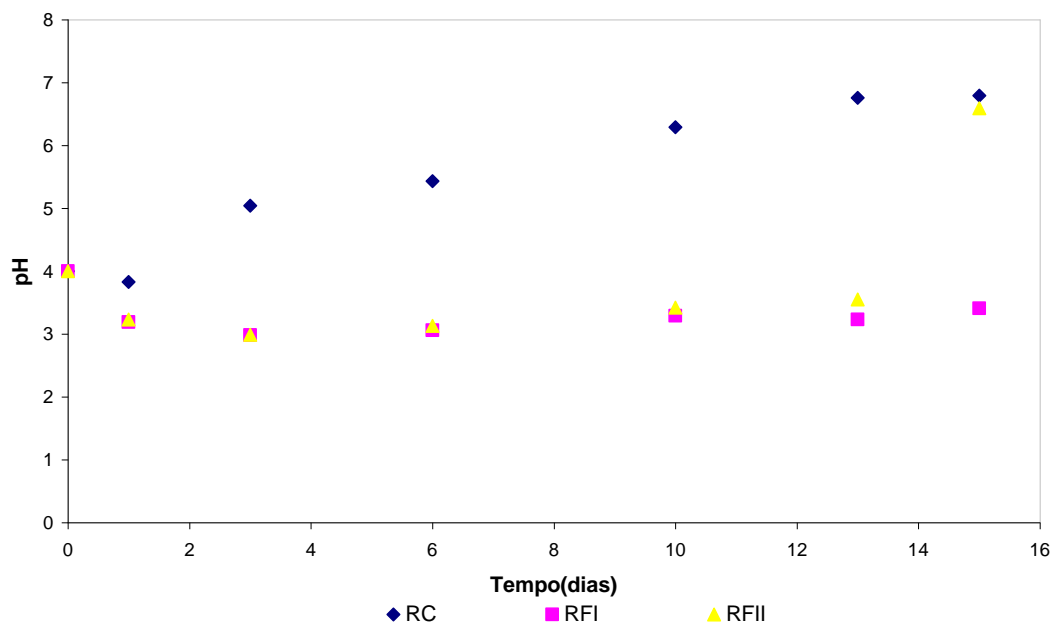


Figura 5 Variação do pH nos reatores.

#### 4. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que, apesar do reator RFII ter sido inoculado com uma maior concentração de esporos, aparentemente, houve eficiência similar quanto ao tratamento da água residuária em questão pelo reator RFI, particularmente, na redução da concentração de fenóis. Isto mostra a viabilidade do emprego da concentração menor de esporos como inóculo, representando uma economia do material utilizado como inóculo, o que em escala real é de grande importância para viabilização de futuros tratamentos biológicos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 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.
2. APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 20a. ed. Washington: American Public Health Association, 1998.
3. CONAB. **Cajucultura na Bahia.** 10p., 2004.
4. FADIL, K., CHAHLAUI, 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.
5. GARCIA-PENÃ, E. I.; HERNANDEZ, H.; FAVELA-TORRES, E.; AURIA, R; REVAH, S. **Toluene biofiltration by the fungus *Scedosporium apiospermum* TB1.** *Biotechnology and Bioengineering*. 76: 1: 61 – 69, 2001.
6. MERK. **The testing of water.** 9th Edition, 1975.
7. O'DONNELL, D., WANG, L., XU, J., RIDGWAY, D., GU, T., MOO-YOUNG, M. **Enhanced heterologous protein in *Aspergillus niger* through pH control of extracellular protease activity.** *Biochemical Engineering Journal*. 8: 187 – 193, 2001.



8. 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 Paulo, Universidade de São Paulo, 2006.
9. SANTAELLA, S. T. **Estudos de tecnologías apropiadas para tratamento de efluentes da castanha de caju**. UFC, Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental. Fortaleza: Fortaleza, Relatório Institucional de Pesquisa, 31p., 1999.
10. van SCHIE, P. M., YOUNG, L. Y. (2000). **Biodegradation of phenol: mechanisms and applications**. Bioremediation Journal. 4: 1: 1 – 18.