

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

**DEGRADAÇÃO DE BIOSSÓLIDO POR FUNGOS
LIGNOCELULOLÍTICOS**

TESE DE DOUTORADO

Fábio Pacheco Menezes

Santa Maria, RS, Brasil

2013

DEGRADAÇÃO DE BIOSSÓLIDO POR FUNGOS LIGNOCELULOLÍTICOS

por

Fábio Pacheco Menezes

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração Biodinâmica e Manejo do Solo, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciência do Solo.**

Orientadora: Prof^a. PhD. Zaida Inês Antonioli

Santa Maria, RS, Brasil

2013

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Pacheco Menezes, Fábio
Degradação de biossólido por fungos lignocelulolíticos
/ Fábio Pacheco Menezes.-2013.
101 p.; 30cm

Orientadora: Zaida Inês Antonioli
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-
Graduação em Ciência do Solo, RS, 2013

1. Biodegradação 2. Podridão branca 3. Lodo de esgoto
4. Celulose 5. Lignina I. Antonioli, Zaida Inês II.
Título.

© 2013

Todos os direitos autorais reservados a Fábio Pacheco Menezes. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho será permitida somente com a citação autoral.

Endereço: Departamento de Solos, UFSM, Prédio 42, sala 3314, telefone: 32208108
CEP. 97105-900, Santa Maria, RS. E-mail: fpmbio@gmail.com

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

DEGRADAÇÃO DE BIOSSÓLIDO POR FUNGOS LIGNOCELULOLÍTICOS

elaborada por
Fábio Pacheco Menezes

como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Ciência do Solo

COMISSÃO EXAMINADORA:

Zaida Inês Antonioli, PhD. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)

Andressa de Oliveira Silveira, Pós Dr^a. (UFSM)

Diego Pascoal Golle, Pós Dr. (UNICRUZ)

Noeli Júlia Schüssler de Vasconcellos, Dr^a. (UNIFRA)

Thomé Lovato, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 28 de agosto de 2013.

Aos meus pais, Josias Pereira Menezes e Maria Neusa Pacheco Menezes,
pelo incentivo, apoio e amor

OFEREÇO

A minha esposa, Nathalia Haydee Riveros Ciancio,
por todo seu companheirismo, dedicação e amor
durante essa caminhada,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pela possibilidade de realização do curso de Doutorado em uma instituição pública.

À Professora PhD. Zaida Inês Antonioli pela orientação, compreensão e oportunidade de realizar este trabalho.

Aos Professores Dr. Rodrigo J. S. Jacques e Dr. Gilberto Coelho pela co-orientação e contribuições para o aprimoramento deste trabalho.

Aos Professores e examinadores Dr^a. Andressa de Oliveira Silveira, Dr^a. Bárbara Estevão Clasen, Dr. Diego Pascoal Golle, Dr^a. Noeli Júlia Schüssler de Vasconcellos, Dr. Ricardo Benfica Steffen e Dr. Thomé Lovato membros da comissão examinadora, que aceitaram colaborar nesta obra.

A Dr. Araildes Urben do Cenargem de Brasília por cederem os isolados de fungos degradadores de resíduos lignocelulósicos.

A todos os colegas de Pós-Graduação: Ricardo Steffen, Gerusa Steffen, Juliana Lorenzi, Enrique Benites, Marcelo Sulzbacher, Stefen B. Pujol, Cledimar Lourenzi e Nathalia Riveros pelo companheirismo em todos os momentos em que necessitei de suas ajudas.

Aos colegas do Laboratório de Biologia do Solo e Ambiente: Andressa de Oliveira Silveira, Antônio Carlos Bassaco, Bárbara Clasen, Cristiane Loureiro, Daiana Baldoni, Daniel Pazzini, Danni da Silva, Deisy Morales, Diogo Vendruscolo, Diego Amaro, Edicarla Trentin, Francisco, Gerusa Stefen, Lílian, Luana Orlandi, Marcos Leandro dos Santos, Matheus Ponteli, Manoeli Lupatini, Natielo Santana, Ricardo Stefen, Sabrina de Fátima Dahmer e Taís Backes pelo auxílio durante a realização deste trabalho.

As estagiárias do Colégio Técnico Industrial de Santa Maria, Alana Machado e Mírian Barbieri pelo auxílio nas atividades de respirometria.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia do Solo, Guilherme Dietrich e Alessandra Bacca pelo auxílio na determinação dos teores das fibras lignocelulósicas.

A Cristiane Loureiro, colega do Laboratório de Biologia do Solo e Ambiente, pela ajuda nos ensaios enzimáticos.

Ao diretor do Jardim Botânico da Universidade Federal de Santa Maria, Prof. Dr. Renato Aquino Záchia pelo apoio e compreensão sempre que necessitei de sua ajuda.

Ao colega do Jardim Botânico da Universidade Federal de Santa Maria Alberto Pedro Antonello pelo seu auxílio.

Aos amigos que sempre me apoiaram nesta jornada: Luiz Francisco Finamor, Juliana Lorenzi, Enrique Benitez, Nathalia Riveros, Fabrício Pedron e Josiane M. Pedron.

Aos Professores e Técnicos Administrativos da Universidade Federal de Santa Maria que por diversas vezes me incentivaram na execução deste trabalho.

A todos os meus amigos e familiares, em especial aos meus sogros Ramón Riveros e Lourdes Maria Ciancio, por sua amizade, respeito e carinho que me acolheram.

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo
Universidade Federal de Santa Maria

DEGRADAÇÃO DE BIOSSÓLIDO POR FUNGOS LIGNOCELULOLÍTICOS

Autor: Fábio Pacheco Menezes

Orientadora: Zaida Inês Antonioli

Data e local da defesa: Santa Maria, 28 de agosto de 2013.

O tratamento das águas residuárias do município de Santa Maria (RS) é do tipo lodo ativado por aeração prolongada. Neste processo são gerados resíduos sólidos (biossólidos) que necessitam disposição final adequada. Na composição química dos biossólidos são encontrados compostos orgânicos oriundos da parede celular dos vegetais. Dentre esses, destacam-se a hemicelulose, a celulose e a lignina, já que a degradação destas frações não é efetiva nos reatores biológicos. Poucos organismos são capazes de atuar simultaneamente sobre estas três frações. Entretanto, alguns fungos causadores da podridão branca da madeira possuem conjuntos enzimáticos capazes de degradar os componentes vegetais, em especial, as fibras lignocelulósicas. Por isso, supõe-se que os fungos basidiomicetos, causadores da podridão branca, podem ser utilizados para promover a biodegradação de lodos ativados por aeração prolongada. O presente trabalho visou prospectar, selecionar e avaliar a eficiência de isolados fúngicos lignocelulolíticos em biodegradar lodo ativado gerado na Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) buscando conhecer as taxas de degradação proporcionadas pelos isolados. O lodo ativado foi avaliado quimicamente em sua fração inorgânica para conhecimento dos teores de metais pesados e caracterização físico-química. As fibras lignocelulósicas (lignina, celulose e hemicelulose) foram estimadas usando o método de Von Soest. Os fungos basidiomicetos foram coletados na região de Santa Maria (RS) e isolados em laboratório para obtenção de culturas puras. Também foram avaliados isolados fúngicos cedidos pelo Cenargem (Brasília) reconhecidamente lignocelulolíticos. Estes organismos foram testados quanto a sua capacidade em biodegradar lodo ativado natural e autoclavado através de experimentos respirométricos sob diferentes condições de temperatura, umidade e pH. Os teores de metais pesados mostraram que o biossólido da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) enquadra-se nos limites estabelecidos pela legislação nacional e internacional. Os parâmetros físico-químicos se apresentaram dentro da faixa esperada para lodos ativados com aeração prolongada. O fósforo, no entanto, apresentou teores elevados devido o emprego de cloreto férrico no tratamento do efluente líquido. A autoclavagem do biossólido promoveu alterações químicas significativas nas frações orgânicas e inorgânicas. Os testes respirométricos mostraram respostas diferenciadas para os isolados avaliados, sendo a temperatura o fator ambiental mais eficiente para elevação das taxas de biodegradação do lodo ativado. Os isolados fúngicos de *Schizophyllum commune* e *Trametes versicolor* apresentaram as maiores taxas de biodegradação do lodo ativado alcançando os valores de 65,71% e 64,74%, respectivamente. Estes isolados atuaram sobre as frações hemicelulose, celulose e lignina do lodo ativado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) indicando a possibilidade de uso como degradadores de biossólido.

Palavra chave: Podridão branca, lodo de esgoto, celulose, lignina.

ABSTRACT

Doctor Science Thesis
Graduate Program in Soil Science
Federal University of Santa Maria

DEGRADATION OF THE ACTIVATED SLUDGE BY THE LIGNOCELLULOLYTIC FUNGI

Author: Fábio Pacheco Menezes
Advisor: Zaida Inês Antonioli

Date and Place of Defense: Santa Maria, August 28th, 2013.

The treatment of wastewater in the Santa Maria city (RS) is the type of extended aeration activated sludge. In this process are generated solid waste (biosolids) requiring final disposal. In the chemical composition of biosolids are found organic compounds derived from cell wall of plants. Among these, stand out the hemicellulose, cellulose and lignin, since the degradation of these fractions is not effective in biological reactors. Few organisms are able to act simultaneously on these three fractions, due to its recalcitrance. However, certain white rot fungi timber assemblies have enzymatic components capable of degrading plant, in particular the lignocellulosic fibers. Therefore, it is assumed that the basidiomycetous fungi that cause white rot can be used to promote biodegradation of extended aeration activated sludge. This study aims to select and evaluate the efficiency of isolates to biodegrade lignocellulolytic activated sludge generated in the Sewage Treatment Station of Santa Maria (RS) aiming to know the degradation rates offered by fungal isolates. The activated sludge was evaluated chemically inorganic fraction to its knowledge of the levels of heavy metals and physicochemical characterization. The lignocellulosic fibers (lignin, hemicellulose and cellulose) were estimated using the method of Von Soest. The basidiomycete fungi were collected in the region of Santa Maria (RS) and isolated in the laboratory to obtain pure cultures. We also evaluated the fungal isolates assigned Cenargem (Brasilia) recognized lignocellulolytic. These organisms were tested for their ability to biodegrade naturally and autoclaved activated sludge by respirometric experiments under different conditions of temperature, humidity and pH. The levels of heavy metals showed that biosolids Station Wastewater Treatment Santa Maria (RS) inset within the limits set by national and international legislation. The physico-chemical parameters were within the expected range for activated sludge with extended aeration. Phosphorus, however, showed high levels due to the use of ferric chloride in the wastewater treatment liquid. Autoclaving of biosolids promoted significant chemical changes in organic and inorganic fractions. The respirometric tests showed different responses to the isolates, the temperature being the most effective environmental factor to increase the rates of biodegradation of activated sludge. The fungal isolates of *Schizophyllum commune* and *Trametes versicolor* showed the highest rates of biodegradation of activated sludge reaching values of 65.71% and 64.74%, respectively. These isolates acted on fractions hemicellulose, cellulose and lignin activated sludge Station Wastewater Treatment Santa Maria (RS) indicating the possibility of using biosolids as degrading.

Keyword: white rot, sewage sludge, cellulose, lignin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Sequência da realização do trabalho sobre degradação de biossólido por fungos lignocelulolíticos. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.....	16
FIGURA 2 - Composição físico-química das águas residuárias domésticas. Adaptado da SANEPAR (1999).....	21
FIGURA 3 - Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) e fluxograma operacional simplificado. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.....	35
FIGURA 4 - Crescimento micelial de isolados fúngicos sobre resíduo de lodo ativado autoclavado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) após período de 60 dias de incubação. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.....	54
FIGURA 5 - Taxa respirométrica acumulada de 24 isolados fúngicos após 66 dias de incubação em biossólido proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS), com umidade ajustada para 80% e temperatura de 22°C. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.....	60

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Produção de lodo em sistemas aeróbios e anaeróbios de tratamento de águas residuárias.....	19
TABELA 2 - Isolados utilizados no experimento respirométrico I – screening de fungos lignocelulolíticos. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.....	39
TABELA 3 - Composição físico-química do lodo ativado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS). Santa Maria, RS, UFSM, 2013.....	44
TABELA 4 - Concentração de substâncias inorgânicas no lodo de esgoto doméstico da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria/RS (faixa de variação em mg do poluente por kg de lodo, em peso seco) e limites máximos estabelecidos segundo CONAMA e EPA dos EUA. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.....	49
TABELA 5 - Adensamento micelial de isolados fúngicos em biossólido autoclavado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS). Santa Maria, RS, UFSM, 2013.....	53
TABELA 6 - Características químicas do lodo ativado natural (não autoclavado) e do lodo ativado autoclavado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS). Santa Maria, RS, UFSM, 2013.....	55
TABELA 7 - Características químicas da fração orgânica do lodo ativado natural (não autoclavado) e do lodo ativado autoclavado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS). Santa Maria, RS, UFSM, 2013.....	57
TABELA 8 - Taxa de degradação e taxa cumulativa de C-CO ₂ mg kg ⁻¹ liberado do biossólido da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) pelos isolados fúngicos UFSMFPM6, UFSMFPM8, <i>Fomes fasciatus</i> , <i>Agaricus bisporus</i> , <i>Schizophyllum commune</i> e <i>Trametes versicolor</i> no período de 100 dias quando submetidos às temperaturas de 24°C, 28°C e 32°C sob umidade ajustada para 80%. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.....	64

TABELA 9 - Taxa de degradação e taxa cumulativa de C-CO ₂ mg kg ⁻¹ liberado do biossólido da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) pelos isolados fúngicos UFSMFPM6, UFSMFPM8, <i>Fomes fasciatus</i> , <i>Agaricus bisporus</i> , <i>Schizophyllum commune</i> e <i>Trametes versicolor</i> no período de 100 dias quando submetidos às umidades de 65%, 80% e 90% sob temperatura constante de 28°C. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.....	68
TABELA 10 - Taxa de degradação e taxa cumulativa de C-CO ₂ mg kg ⁻¹ liberado do biossólido da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) pelos isolados fúngicos UFSMFPM6, UFSMFPM8, <i>Fomes fasciatus</i> , <i>Agaricus bisporus</i> , <i>Schizophyllum commune</i> e <i>Trametes versicolor</i> no período de 100 dias quando submetidos aos pH 5,5 e 7,0 sob temperatura constante de 28°C e umidade ajustada a 80%. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.....	70
TABELA 11 - Fracionamento químico do carbono e nitrogênio em substrato de lodo ativado biodegradado pelos isolados fúngicos UFSMFPM6, UFSMFPM8, <i>Schizophyllum commune</i> , <i>Trametes versicolor</i> , <i>Agaricus bisporus</i> e <i>Fomes fasciatus</i> antes (controle) e após o experimento respirométricos na temperatura de 32°C. Os valores representam a média de três repetições (± desvio padrão)..	73
TABELA 12 - Composição bioquímica do substrato de lodo ativado utilizado pelos isolados fúngicos UFSMFPM6, UFSMFPM8, <i>Schizophyllum commune</i> , <i>Trametes versicolor</i> , <i>Agaricus bisporus</i> e <i>Fomes fasciatus</i> antes (controle) e após o experimento respirométricos na temperatura de 32°C. Os valores representam a média de três repetições (± desvio padrão).....	74
TABELA 13 - Valores de coeficiente de correlação (r) e nível de significância (Prob. > t) das correlações entre os parâmetros de caracterização da fração orgânica, expressos como porcentagem do total de matéria orgânica, e as taxas de biodegradação obtidas com os isolados UFSMFPM6, UFSMFPM8, <i>Schizophyllum commune</i> , <i>Trametes versicolor</i> , <i>Agaricus bisporus</i> e <i>Fomes fasciatus</i> ao final de 100 dias de incubação.....	76

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Produção e caracterização de biossólidos	17
2.1.1 Lodos ativados.....	18
2.2 Composição química do lodo ativado	21
2.3 Fungos lignocelulolíticos	23
2.3.1 Fungos utilizados na biodegradação de compostos lignocelulósicos – polioses e lignina.....	24
2.4 Biodegradação do lodo ativado	26
2.4.1 Enzimas envolvidas na degradação da lignina, celulose e hemicelulose....	28
2.4.2 Fatores que afetam a biodegradação do lodo ativado.....	31
3 OBJETIVO	33
3.1 Objetivo geral	33
3.2 Objetivos específicos	34
4 MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 Biossólido	34
4.2 Coleta e preparo de amostras de lodo ativado	35
4.3 Análises químicas do lodo ativado	36
4.3.1 Análises da fração inorgânica.....	36
4.3.2 Análises da fração orgânica	36
4.4 Teste de isolados fúngicos em biossólido autoclavado	38
4.5 Avaliação da biodegradação do lodo ativado	38
4.5.1 Experimento respirométrico I – <i>Screening</i> de fungos lignocelulolíticos.....	39

4.5.2 Experimento respirométrico II – diferentes condições ambientais.....	40
4.6 Análise dos resultados.....	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1 Caracterização química do lodo ativado.....	44
5.1.1 Metais pesados.....	49
5.2 Crescimento e adensamento micelial de isolados fúngicos em biossólido autoclavado.....	52
5.2.1 Caracterização química do biossólido autoclavado.....	54
5.3 Biodegradação da matéria orgânica de lodo ativado por fungos lignocelulolíticos.....	59
5.3.1 Respirometria I: screening de fungos lignocelulolíticos.....	59
5.3.2 Respirometria II: diferentes condições ambientais.....	63
5.3.2.1 Respirometria sob diferentes condições de temperatura.....	63
5.3.2.2 Respirometria sob diferentes condições de umidade.....	67
5.3.2.3 Respirometria sob diferentes condições de pH.....	70
5.4 Fracionamento químico do carbono e nitrogênio em substrato biodegradado pelos isolados fúngicos.....	72
5.5 Alterações dos compostos orgânicos em substrato biodegradado pelos isolados fúngicos.....	74
5.6 Relação entre biodegradação e composição química da fração orgânica do lodo ativado.....	75
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	77
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

1 INTRODUÇÃO

A crescente população urbana gera quantidades significativas de resíduos sólidos e líquidos, dentre os quais o lodo de esgoto tem merecido especial atenção, pois sua disposição final representa uma etapa dispendiosa do tratamento das águas residuárias. A expansão da rede coletora associada ao aumento do tratamento de esgoto produz quantidades cada vez maiores de lodos, que devem ser tratados e destinados de forma adequada. Isto se constitui num dos principais problemas ambientais enfrentados na atualidade, o qual se agrava pela reduzida oferta de áreas aptas para a disposição final desses resíduos.

A busca por alternativas que possam minimizar esse problema requer estudos sobre a composição química do lodo, a mensuração de sua taxa de degradação e a seleção de agentes biológicos capazes de acelerar seu processo de biodegradação. Esses conhecimentos podem fornecer subsídios para a busca de novas ferramentas biotecnológicas que visem a redução da massa de lodo dentro da própria estação de tratamento de esgoto, reduzindo os custos operacionais e de destinação final do lodo de esgoto.

No processo de tratamento do esgoto são geradas duas fases. Na fase líquida, obtém-se o efluente líquido tratado e, na fase sólida, são gerados os sólidos restantes do tratamento, denominados de lodo de esgoto ou biossólido. A quantidade e a qualidade da fase sólida variam em função do local, da época do ano, do processo de tratamento empregado e dos efluentes que são lançados na rede coletora de esgoto. No caso de esgotos domésticos, um dos tratamentos mais empregados é o lodo ativado por aeração prolongada. Esse processo caracteriza-se pela eficiente remoção de nutrientes e organismos patogênicos, entretanto, possui o inconveniente de gerar grande massa de resíduos sólidos, em especial, o lodo ativado (VON SPERLING, 2008).

A constante geração de lodo ativado requer medidas que compatibilizem sua crescente escala de produção com a demanda por disposição final desse resíduo. Buscando mitigar os possíveis problemas associados à geração desses lodos, tem se buscado alternativas de uso na agricultura, na construção civil e na geração de energia. No entanto, apesar dos diferentes trabalhos indicarem viabilidade de uso, ainda são poucas as pesquisas que visam promover a redução da massa sólida de lodo dentro da própria estação de tratamento de esgoto (ETE). Para se alcançar

esta redução é importante conhecer a composição química do lodo de esgoto e avaliar a sua taxa de degradação em diferentes condições ambientais.

Os lodos se caracterizam por apresentar uma vasta gama de componentes orgânicos, entre os quais se destacam: açúcares, proteínas, taninos, compostos fenólicos e as frações celulose, hemicelulose e lignina. Estas últimas frações são consideradas recalcitrantes e poucos organismos são capazes de atuar simultaneamente sobre esse amplo espectro de compostos orgânicos (SOUZA; ROSADO, 2009). No entanto, alguns fungos que promovem a reciclagem da madeira nos ecossistemas naturais e agrofloreais produzem complexos enzimáticos capazes de desdobrar os componentes orgânicos do lodo em moléculas mais simples. Por isso, tem se avaliado a aplicação biotecnológica desses fungos na degradação de compostos recalcitrantes como corantes têxteis, derivados do petróleo, compostos fenólicos e resíduos lignocelulósicos. A inoculação de fungos lignocelulolíticos no lodo ativado pode promover o aumento da taxa de biodegradação da fração orgânica deste resíduo, em especial, das frações celulose, hemicelulose e lignina, em virtude da habilidade desses organismos em utilizar compostos orgânicos do lodo de esgoto como fonte de carbono e nutrientes.

Diante do exposto, as hipóteses do trabalho foram:

- a) fungos basidiomicetos, causadores da podridão branca, promovem degradação do biossólido gerado na Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS), alterando a proporção das frações celulose, hemicelulose e lignina;
- b) as diferentes condições ambientais de umidade, temperatura e pH afetam a degradação do biossólido por fungos basidiomicetos causadores da podridão branca.

Com base nas hipóteses supracitadas, o presente trabalho tem por objetivo prospectar, selecionar e avaliar isolados fúngicos com potencial biotecnológico para a degradação de lodo ativado por aeração prolongada proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS). A sequência de realização deste trabalho encontra-se exposta na Figura 1.

DEGRADAÇÃO DE BIOSÓLIDO POR FUNGOS LIGNOCELULOLÍTICOS

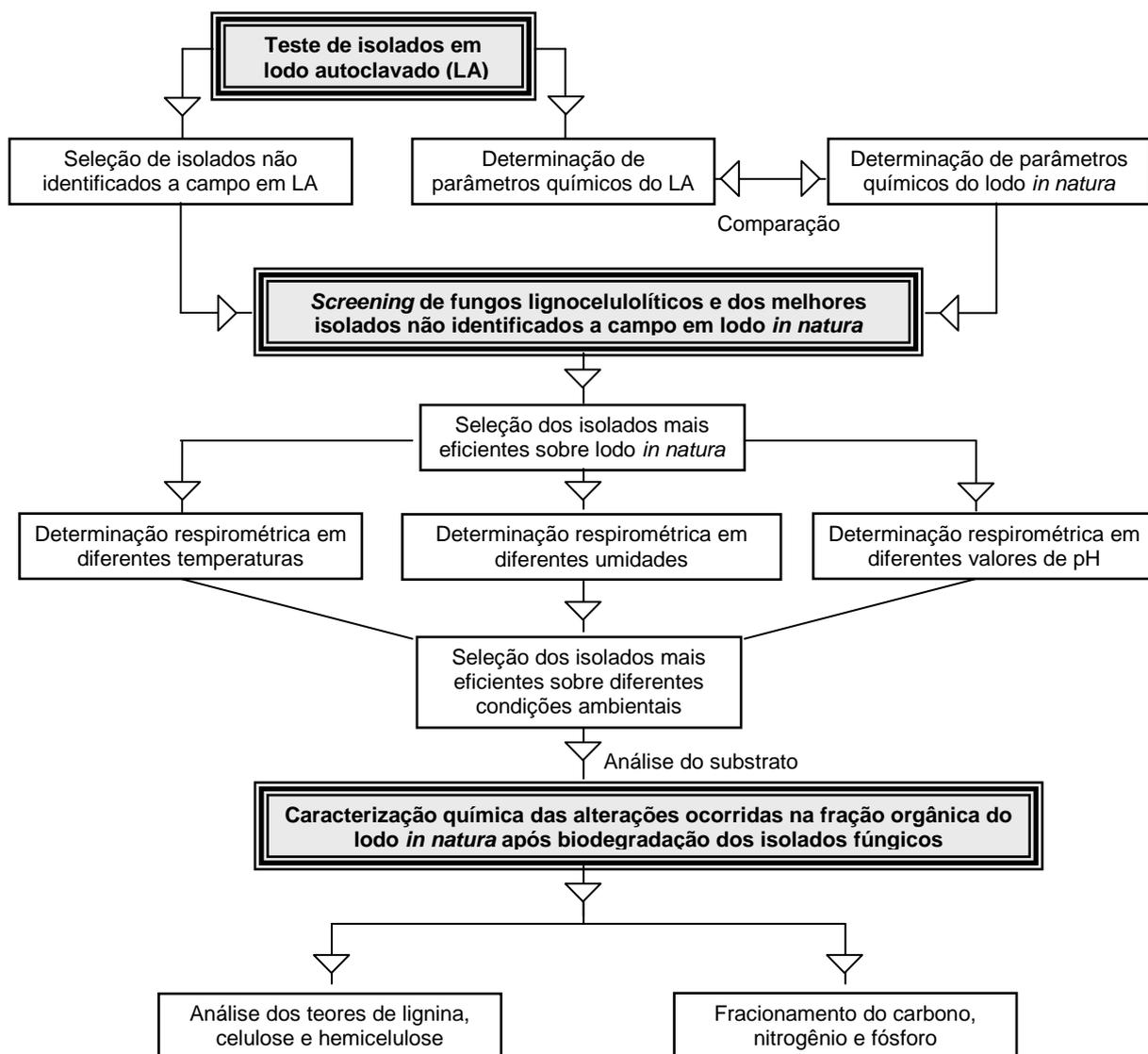


Figura 1. Sequência da realização do trabalho sobre degradação de biosólido por fungos lignocelulolíticos. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Produção e caracterização de biossólidos

O lodo de esgoto (biossólido) é o resultado do tratamento das águas residuárias (domésticas, industriais e comerciais) encaminhadas às Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) por meio das redes coletoras (MALTA, 2001). O tratamento dos esgotos gera diferentes subprodutos na forma sólida, semissólida ou líquida, dentre os quais pode ser destacado o biossólido (JORDÃO; PESSÔA, 1995) por apresentar maior volume e massa gerada que os demais subprodutos (VON SPERLING, 2001). Apesar de o biossólido apresentar potencial fertilizante para a agricultura, os grandes volumes gerados exigem estudos que compatibilizem sua crescente escala de produção com a demanda por disposição final adequada deste resíduo (BRASIL, 2006). Estima-se que a produção de lodo de esgoto no Brasil seja da ordem de 150 a 220 mil toneladas por ano (ANDREOLI et al., 2001). Entre os diferentes sistemas de tratamento de esgoto, os lodos ativados são os sistemas que geram maior massa sólida de lodo a ser tratado. A principal finalidade do tratamento do lodo é a obtenção de um produto higienizado, estável e com menor volume para facilitar o seu manuseio e, conseqüentemente, reduzir os custos operacionais subsequentes (PEDROZA et al., 2010).

O lodo de esgoto pode ser proveniente de diferentes etapas do tratamento das águas residuárias. No tratamento primário, os sólidos são separados da fase líquida por meio da ação da gravidade. O lodo primário bruto pode apresentar características variáveis, conforme o grau de adensamento proporcionado pelo adensador. Lodos de esgoto primários de boa qualidade apresentam, em média, valores na faixa de 4 a 10% de sólidos secos. No tratamento secundário, os sólidos são separados após a ação de diversos grupos de microrganismos, os quais quebram as moléculas orgânicas nas reações catabólicas. Durante o anabolismo, esses microrganismos utilizam os nutrientes para crescerem e se reproduzirem e, quando morrem, vão constituir a massa orgânica de lodo (MALTA, 2001). O teor de sólidos no lodo secundário é função das características do processo, estando entre 0,80 a 2,50% para lodos ativados com aeração prolongada (JORDÃO; PESSÔA, 1995). Dessas etapas resultará uma lama líquida com um teor de sólidos da ordem de 2 a 5% de conteúdo predominantemente orgânico (CHAGAS, 2000). É importante

destacar que tanto o lodo removido na fase de tratamento primário como o gerado na fase de tratamento biológico (secundário) requer uma série de processos para mitigar os possíveis danos à saúde humana e ao ambiente (JORDÃO; PESSÔA, 1995) antes de serem dispostos no ambiente.

Os níveis de tratamentos mais empregados para a fase líquida são o preliminar, primário e secundário, apesar de existirem processos mais avançados (terciário e quaternário), porém, de alto custo operacional (VON SPERLING, 1999). O nível secundário corresponde ao tratamento empregado pela Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS), que utiliza o sistema de lodo ativado por aeração prolongada para alcançar os padrões legais de lançamento de efluentes líquidos em corpos receptores de água.

2.1.1 Lodos ativados

O sistema de lodo ativado caracteriza-se por ser um processo de tratamento de esgotos em nível secundário, destinado à remoção de poluentes orgânicos biodegradáveis (VON SPERLING; CHERNICHARO, 2002). Neste procedimento, a concentração de biomassa no reator biológico é elevada devido à recirculação dos sólidos sedimentados no fundo do decantador secundário. A biomassa permanece por mais tempo no sistema do que os constituintes líquidos, garantindo, desta forma, elevada eficiência na remoção da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO). Assim, há menos DBO disponível para as bactérias, o que faz com que estas se utilizem do próprio material celular para sua manutenção. O fornecimento de oxigênio é realizado por aeradores mecânicos e a montante do reator há um decantador para remover os sólidos sedimentáveis do esgoto bruto (ANDREOLI et al., 2001).

No decantador secundário, a biomassa é separada da fase líquida devido a capacidade em flocular e sedimentar. Esses processos levam à formação de uma matriz gelatinosa contendo flocos macroscópicos formados pela aglutinação de bactérias, protozoários e outros microrganismos, atuantes na degradação da matéria orgânica (RAMALHO, 2003). Os flocos possuem dimensões superiores às dos microrganismos individualmente, facilitando, desta forma, sua sedimentação (VON SPERLING, 2002). Nos lodos ativados com aeração prolongada, o tempo de detenção hidráulica da fase líquida é baixo, variando entre 16 a 24h. No entanto, a recirculação dos sólidos possibilita-os permanecer no sistema por tempo superior ao

líquido garantindo à biomassa microbiana maiores possibilidades de atuar na degradação do material orgânico presente no esgoto (VON SPERLING; GONÇALVES, 2002). Nesses sistemas, a biomassa permanece no reator biológico por um período entre 18 a 30 dias, o que implica na necessidade de um reator de maiores dimensões do que o utilizado para lodos ativados convencionais (PEDROZA et al., 2010).

O volume de lodo de esgoto produzido varia de 0,01 a 1,5 m³hab⁻¹.ano⁻¹ para os diferentes tipos de tratamentos das águas residuárias (Tabela 1). Observa-se que o tratamento por meio de lodo ativado com aeração prolongada é o segundo que mais gera biossólidos, apresentando, em média, o valor de 0,95 m³hab⁻¹.ano⁻¹ de lodo produzido. Considerando que o município de Santa Maria, segundo dados do último Censo de 2010 (IBGE, 2011), conta com aproximadamente 261.017 habitantes, pode-se calcular a produção total de biossólidos da cidade. Assim, o valor total esperado para esse município é de 247.966,1 m³ano⁻¹ de lodo ativado por aeração prolongada.

Tabela 1. Produção de lodo em sistemas aeróbios e anaeróbios de tratamento de águas residuárias. *

Tipo de Tratamento	Quantidade de lodo produzida (m ³ hab.ano ⁻¹)
Lagoa facultativa	0,03 – 0,08
Lagoa anaeróbia – lagoa facultativa	0,01 – 0,04
Lagoa aerada facultativa	0,03 – 0,08
Lodo ativado convencional	1,1 – 1,5
Lodo ativado com aeração prolongada	0,7 – 1,2
Reator anaeróbio de manta de lodo	0,07 – 0,1
Fossa séptica	0,07 – 0,1

* Adaptado da SANEPAR (1999).

Entretanto, é necessário destacar que nem todo o esgoto doméstico é encaminhado para as estações de tratamento de esgoto. Segundo dados da Pesquisa Nacional de Saneamento Básico (IBGE, 2012), na região Sul, apenas 25% dos esgotos são tratados. O município de Santa Maria (RS) é considerado uma exceção dentro da realidade brasileira, pois já trata aproximadamente 50% do seu esgoto doméstico e possui perspectivas de alcançar 70% de tratamento à medida

que aumenta sua rede coletora (ADESM, 2012). Portanto, é possível estimar que Santa Maria (RS) deva produzir aproximadamente 123.983,1 m³ano⁻¹ de biossólido. Apesar desse valor ser menor em relação ao total estimado, ainda são necessários cuidados na disposição final desses resíduos a fim de evitar danos ambientais e à saúde humana (BRASIL, 2006). Segundo Trannin et al. (2008), sua utilização na agricultura como fertilizante deve ser avaliada quanto ao seu potencial agrícola e limites de uso, determinando os possíveis impactos decorrentes de sua aplicação sobre atributos do solo, para que atenda critérios agrônômicos e de segurança à saúde humana e ambiental, estabelecidos na legislação brasileira.

Em termos de lodo de esgoto produzido, Sobrinho (2001) destaca que a produção de esgoto doméstico no Brasil situa-se entre 80 a 200 L hab⁻¹ dia⁻¹ sendo que, de modo geral, cada habitante produz cerca de 150 g dia⁻¹ de lodo de esgoto. Considerando-se os dados sugeridos pelo autor, estima-se que Santa Maria (RS) possa produzir diariamente em torno de 39 toneladas de lodo de esgoto. Porém, como o município trata 50% do seu esgoto, este valor passa a ser de aproximadamente 19,5 toneladas diárias. Estas estimativas se aproximam dos resultados obtidos por Klusener Filho (2009) que encontrou uma produção de lodo ativado por aeração prolongada de 20 tonelada.dia⁻¹ em base úmida para a ETE Santa Maria (RS). Segundo o autor as dificuldades de disposição final no município fazem com que o excesso de lodo ativado fique recirculando no sistema, não podendo ser descartado nos leitos de secagem. Esse manejo inadequado reduz a eficiência do tratamento gerando um lodo de menor qualidade (VON SPERLING, 2001).

Buscando mitigar os possíveis problemas da destinação final dos biossólidos, países precursores na reutilização destes resíduos (Japão, Estados Unidos e Singapura) têm buscado alternativas baseadas no aproveitamento do biossólido na Agricultura (A), na Construção (C) e na geração de Energia (E), o chamado plano ACE de reaproveitamento deste resíduo (JAPAN SEWAGE WORKS AGENCY, 1990). No Brasil, os trabalhos têm avaliado seu uso na composição de substratos alternativos para produção de mudas de espécies exóticas (TRIGUEIRO; GUERRINI, 2003; SCHIRMER, 2010) e nativas (PADOVANI, 2006), na produção de composto (CORRÊA et al., 2007) e vermicomposto (SCHUMACHER et al., 2001), na recuperação de áreas degradadas (BEZERRA et al., 2006; CAMPOS; ALVES, 2008) e na melhoria das propriedades químicas e físicas do solo (MELO et al., 2004;

TRANNIN et al., 2008). Na área da construção civil, encontram-se pesquisas com utilização de biossólido para produção de blocos cerâmicos (GEYER, 2001) e diferentes tipos de concretos (FONTES, 2003). Em termos de aproveitamento energético as pesquisas ainda são incipientes, porém, tem-se constatado o potencial calorífico dos biossólidos (PEDROZA et al., 2006).

Nota-se que há grande amplitude nas pesquisas relacionadas aos usos alternativos de biossólidos. No entanto, há carência de estudos que visem conhecer a composição química do lodo ativado, em especial da fração orgânica. Esses conhecimentos podem subsidiar a seleção de organismos capazes de biodegradar os componentes orgânicos presentes nos lodos ativados, reduzindo a massa sólida a ser destinada.

2.2 Composição química do lodo ativado

A composição média dos esgotos domésticos compreende uma mistura de aproximadamente 99,9% de água e 0,1% de sólidos (Figura 2), sendo que do total de sólidos, 70% são representados por compostos orgânicos (glicídios, lipídeos, proteínas, taninos, compostos fenólicos, celulose, hemicelulose e lignina) (ANDRADE et al., 2006) e 30% por componentes inorgânicos (areia, sais minerais e metais pesados) (MELO; MARQUES, 2000) (Figura 2).

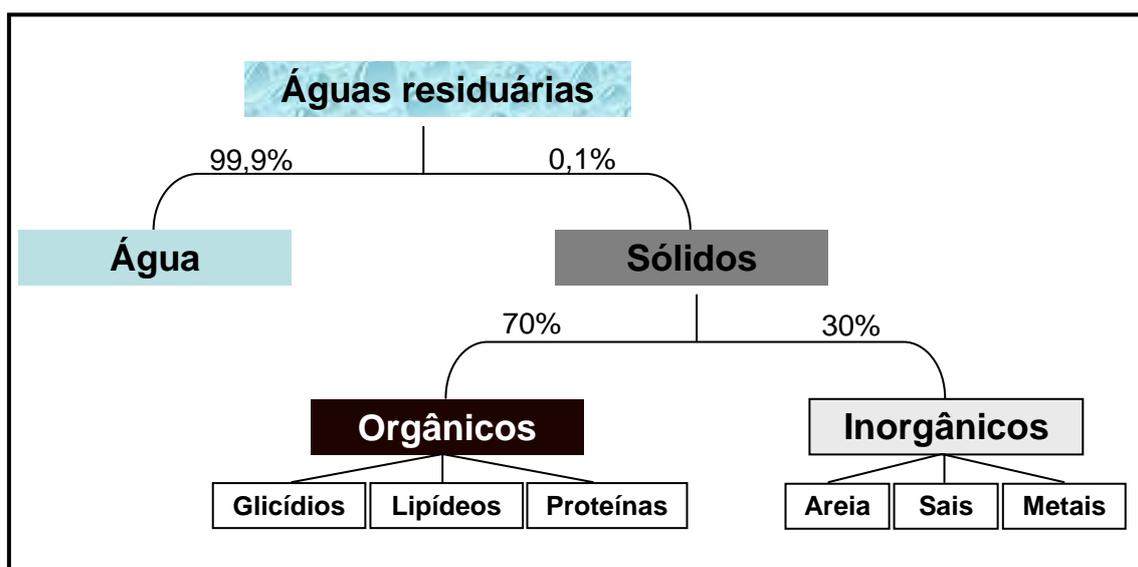


Figura 2. Composição físico-química das águas residuárias domésticas. Adaptado da SANEPAR (1999).

A matéria inorgânica contida nos esgotos é formada, principalmente, pela presença de areia e de substâncias minerais dissolvidas. A areia é proveniente de águas de lavagem das ruas e de águas de subsolo, que chegam às galerias de modo indevido ou que se infiltram através das juntas das canalizações (JORDÃO; PESSÔA, 1995). Adicionalmente, o lodo das estações de tratamento de efluente doméstico pode conter pequena quantidade de metais pesados provenientes da própria natureza dos resíduos e das canalizações (FERREIRA et al., 1999). Os metais pesados em grandes concentrações tornam-se componentes perigosos, pois inibem o tratamento biológico e são tóxicos às plantas, aos animais e ao homem (JORDÃO; PESSÔA, 1995).

Associado à matéria orgânica encontram-se substâncias inorgânicas e orgânicas, biodegradáveis e inertes, combustíveis ou não, separadas durante o processo de tratamento dos esgotos (SILVA et al., 2010). Os grupos de substâncias orgânicas nos esgotos são constituídos, principalmente, por compostos de proteínas (40 a 60%), carboidratos (25 a 50%), gordura e óleos (10%), uréia, surfactantes, fenóis e pesticidas (JORDÃO, PESSÔA, 1995). Entre as frações orgânicas, majoritariamente, se destacam as biomoléculas, já que o lodo de esgoto contém quantidade expressiva de microrganismos e restos celulares diversos. Além destes compostos, atualmente tem se verificado aumentos significativos na concentração de moléculas e compostos complexos oriundos de fármacos, surfactantes e diversos compostos fenólicos (RODRIGUEZ et al., 2012).

Os lodos ativados também apresentam uma complexa e dinâmica associação de microrganismos (bactérias, protozoários, fungos e micrometazoários) capazes de utilizar o lodo como fonte de carbono e energia para o seu metabolismo (BENTO et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2009). A estrutura da comunidade microbiana está intimamente associada às condições operacionais e à qualidade do afluente, influenciando os processos de biodegradação do lodo ativado (FORNEY et al., 2001; DALZELL et al., 2002). Entretanto, vale destacar que a maior parte destes microrganismos, bem como o trato digestório dos seres humanos, não é capaz de quebrar compostos complexos como a lignina, a celulose e a hemicelulose. Portanto, essas fibras não são biodegradadas nos sistemas de lodos ativados, necessitando do conjunto enzimático presente em fungos lignocelulolíticos para serem quebrados em moléculas mais simples.

2.3 Fungos lignocelulolíticos

A classificação dos fungos basidiomicetos lignocelulolíticos é realizada de acordo com as diferenças nos padrões de degradação da madeira, levando-se em consideração características macroscópicas (SOUZA; ROSADO, 2009). De acordo com o tipo de degradação ocorrem mudanças físicas, químicas e morfológicas na madeira. Em função dessas alterações, são propostos três tipos de degradação ou podridão: branca, marrom e branda (SCHWARZE et al., 2007). A podridão branca é observada, principalmente, entre os fungos do filo Basidiomycota, particularmente entre os Aphylophorales, porém alguns ascomicetos também são classificados como fungos de degradação branca. A podridão marrom está restrita a certos táxons de basidiomicetos, enquanto que a degradação branda é típica de ascomicetos e de fungos anamórfos (COELHO, 2008).

Os fungos causadores da podridão branca possuem dois mecanismos diferenciados de degradação dos resíduos lignocelulósicos. O primeiro, e mais comum, é denominado de decomposição branca simultânea, onde os carboidratos e a lignina são atacados simultaneamente (CARVALHO et al., 2009). Neste caso, ocorre uma erosão progressiva da parede celular no sentido lúmen-lamela média, levando à diminuição progressiva e irregular da espessura da parede celular da madeira. No outro mecanismo, menos frequente, comumente denominado de decomposição branca seletiva, polioses e lignina são preferencialmente atacadas, notoriamente nos estágios iniciais de degradação sem a simultânea erosão da parede celular vegetal (SCHWARZE et al., 2007).

Na podridão marrom, os fungos degradam principalmente os polissacarídeos (ARANTES; MILAGRES, 2009) produzindo na madeira uma aparência escurecida e fissuras no sentido transversal (COELHO, 2008), que ao secar, facilmente se quebram em cubos (ARANTES; MILAGRES, 2009). Os fungos da decomposição branda atuam sobre a lignina e os polissacarídeos celulose e hemicelulose, entretanto, com velocidade de degradação inferior à verificada na outras podridões (KIRK; CULLEN, 1998).

Em termos ecológicos, os fungos lignocelulolíticos desempenham papel importante no ecossistema reciclando a matéria orgânica florestal contribuindo com o equilíbrio do ciclo do carbono no planeta (STEVENSON, 1994). Quanto às possibilidades de aplicações desses organismos, pesquisas têm avaliado a

capacidade destes grupos em degradar substâncias recalcitrantes como corantes têxteis (KAMIDA et al., 2005), derivados do petróleo (ISIKHUEMHEN et al., 2003), compostos fenólicos (JACQUES et al., 2007), resíduos lignocelulósicos (PERES et al., 2002; ALONSO et al., 2007), além de serem utilizados para a produção de enzimas (FARIA, 2010).

Essas características fazem dos fungos lignocelulolíticos importantes ferramentas biotecnológicas para promover a biodegradação de compostos recalcitrantes (SOUZA; ROSADO, 2009), semelhantes às frações lignina, celulose e hemicelulose encontradas em diferentes lodos de esgoto proveniente do tratamento de águas residuárias (ANDRADE et al., 2006). Além disto, é interessante destacar a possibilidade de utilização de consórcios microbianos, já que os microrganismos podem apresentar complementaridade metabólica e aumentar as taxas de mineralização dos compostos se comparados a culturas puras (JACQUES et al., 2007).

Em geral, os fungos da podridão branca tem se destacado por sua extrema agressividade para a colonização da madeira e grande capacidade de estabelecimento em sistemas não estéreis (SCOTT et al., 1998), como é o caso dos bio-sólidos armazenados nos leitos de secagem das estações de tratamento de esgoto. Apesar do grande potencial metabólico desses fungos ainda são incipientes os estudos que utilizam fungos lignocelulolíticos para biodegradação de lodo ativado.

2.3.1 Fungos utilizados na biodegradação de compostos lignocelulósicos - polioses e lignina

Por várias décadas, a hidrólise de compostos lignocelulósicos tem sido um grande desafio técnico. As rotas mais conhecidas são a hidrólise catalisada por um ácido (hidrólise ácida) e a hidrólise enzimática. Como padrão teórico da hidrólise ácida adota-se um valor de 50 - 60% de conversão da celulose e hemicelulose. No entanto, o procedimento de recuperação do ácido torna o procedimento muito caro e, por isso, pouco viável economicamente. Processos catalisados por enzimas são os objetivos da maior parte dos estudos efetuados atualmente em nível mundial. Em princípio, por oferecerem maior conversão e um grande potencial de redução de custos a médio e a longo prazo. Há mais opções de processos em estudo hoje, e

muitas pesquisas têm apresentado resultados promissores (SOARES; ROSSELL, 2006; OGEDA et al., 2010).

Os fungos causadores de decomposição branca possuem habilidade de degradar lignina, assim como celulose e hemicelulose. Entretanto, as velocidades relativas de degradação da lignina e dos polissacarídeos variam grandemente de acordo com a espécie fúngica (ERIKSSON et al., 1990; ARANTES; MILAGRES, 2009). Essa variabilidade no potencial de degradação está associada ao patrimônio genético do fungo, bem como a fatores extrínsecos, a saber: a relação carbono/nitrogênio da madeira (ALONSO et al., 2007) e/ou do bio sólido (ANDRADE et al., 2006), os níveis de oxigênio e as condições nutricionais e culturais.

Platt et al. (1981) afirmam que 40 a 50% do conteúdo de lignina pode ser diminuído num período de 35 a 45 dias cultivando-se *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P.Kumm., 1871 sobre palha de arroz, sendo que a degradação da lignina é maior durante a fase inicial de colonização do substrato. Estudando a capacidade do fungo *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer em descolorir efluente da indústria papelreira com alta concentração de lignina, celulose e hemicelulose, Munari et al. (2003) obtiveram índices de descoloração de aproximadamente 58,9% do efluente no 13º dia de cultivo. Isto é possível devido à capacidade de *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer produzir lacases e peroxidases que atuam sobre polioses e lignina, promovendo a descoloração e detoxificação destes compostos no efluente. Já Davis; Burns (1990), avaliando a capacidade do fungo *Coriolus versicolor* em atuar sobre efluentes fenólicos, obtiveram descoloração da ordem de 70 a 80% em oito dias de cultivo.

Jacques et al. (2007), estudando a degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos por microrganismos cita o trabalho de STEFFEN et al. (2002), os quais quantificaram em 85 e 95% a degradação em meio de cultura mineral do pireno e do antraceno respectivamente, pelo fungo *Stropharia rugosoannulata*. Porém, dados de outros pesquisadores citados na mesma obra mostram variações quanto à capacidade de degradação de fenatreno e pireno, denotando que as variações ambientais e genéticas afetam o potencial de biodegradação destes compostos. Haider; Trojanowski (1980) comparando bactérias e fungos quanto à capacidade de biodegradação da lignina obtiveram conversão da ordem de 20 a 30% da lignina sintética estudada em 50 dias de avaliação ao utilizar o fungo *Chaetomium piluliferum*. Já Norris (1980) utilizando isolados de *Fusarium solani*

observou que a degradação até CO₂ ficou na faixa de 4 a 5% em um prazo de 30 dias. Semelhantes resultados foram alcançados por Sutherland et al. (1983) que encontraram conversão da lignina marcada com ¹⁴C da ordem de 5% em 60 dias.

A utilização de *Trametes versicolor* como um agente para a degradação de fármacos em concentrações relevantes em lodos de esgoto foi demonstrada pela primeira vez por Rodriguez et al. (2012). Os autores testaram a capacidade deste fungo em degradar oito (8) fármacos diferentes e obtiveram resultados de completa degradação para metade dos medicamentos avaliados. Os demais fármacos apresentaram valores de degradação superiores a 40%. O lodo menos tóxico produzido após a biodegradação fúngica, sugere que este processo fúngico pode ser uma estratégia ecológica para reduzir a liberação de contaminantes tóxicos para o ambiente. Avaliando a influência de compostos nitrogenados na biodegradação de dímeros fenólicos para simular a degradação da lignina, Faria (2010) obteve alto índice de degradação (80%) quando os teores de nitrogênio foram mais baixos no meio. O organismo selecionado por este autor para a biodegradação foi o fungo basidiomiceto *Ceriporiopsis subvermispora*.

Na literatura são escassas informações sobre o emprego de fungos lignocelulolíticos para degradação de lodo ativado por aeração prolongada. Isto mostra que são necessários estudos para compreender a dinâmica de biodegradação dos lodos ativados no ambiente e em condições controladas de temperatura, umidade e pH.

2.4 Biodegradação do lodo ativado

Uma alternativa para determinar a taxa de degradação de lodos ativados é a incubação de amostras de lodo de esgoto sob condições controladas de temperatura e umidade, por períodos variáveis de tempo, onde é avaliada, periodicamente, a quantidade de gás carbônico liberada pelos microrganismos decompositores do resíduo (MENDONÇA; MATOS, 2005). O método baseia-se na captura de gás carbônico (CO₂) emitido de uma amostra de resíduo, na presença de uma solução de hidróxido de sódio, determinando sua concentração por titulação com ácido clorídrico. Esses experimentos são denominados respirométricos e permitem estimar os valores de degradação do lodo de esgoto. Mendonça; Matos (2005) em seu manual técnico de análise da matéria orgânica do solo destacam que as avaliações

podem ser feitas até que ocorra a estabilização do CO₂ emitido de uma amostra de lodo de esgoto e/ou resíduo.

Visando uma melhor adequação ao uso agrícola, Andrade et al. (2006) avaliaram a cinética de degradação de vários tipos de biossólido provenientes de diferentes sistemas de: tratamento de esgotos, estabilização do lodo, condicionamento químico para desidratação e etapa complementar. Estes pesquisadores quantificaram o CO₂ liberado por um período de 70 dias de incubação. Os autores obtiveram taxas de degradação para os diferentes biossólidos variando entre 5 a 22%. De maneira geral, esses autores observaram que a degradação da fração orgânica foi descrita por equação de cinética química com duas fases. A primeira caracterizou-se pela elevada velocidade de degradação de compostos orgânicos presentes em quantidades limitadas, cuja exaustão do substrato ocorreu em poucos dias (2 a 20 dias). A segunda fase caracterizou-se pela redução da velocidade da reação de degradação pela presença de compostos com relação carbono/nitrogênio (C/N) mais elevada.

Os lodos de esgoto podem apresentar componentes orgânicos com diferentes graus de assimilabilidade e persistência. Deste modo, são encontradas as frações prontamente assimiláveis, prontamente a moderadamente assimiláveis ou de assimilação lenta. A fração prontamente assimilável se transforma rapidamente em CO₂ e biomassa. Em seguida, são transformadas a nova fração da biomassa e as frações mais resistentes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), alterando a dinâmica populacional, a qual acaba por afetar a eficiência no uso do carbono e a sua mineralização (AITA et al., 2006).

Segundo Silva et. (2010a), o potencial de biodegradação e/ou a capacidade colonizadora de isolados fúngicos pode ser avaliada por meio da análise enzimática (RABINOVICH et al., 2004), da densidade micelial (ABREU et al., 2007), da perda de massa (FERNANDES et al., 2005) e através de crescimento micelial em diferentes tipos de substratos (YADAV et al., 2002). Nesta ótica, este último parâmetro pode ser considerado uma maneira prática e econômica de bioprospectar isolados fúngicos sem a necessidade prévia de sua caracterização morfológica e taxonômica.

Outra possibilidade para avaliação da degradação dos biossólidos é o emprego de índices que relacionam as frações presentes na matéria orgânica dos lodos de esgoto com sua biodegradabilidade. Os índices Lignina/N, índice

lignocelulósico (ILC) e quociente holocelulose:lignocelulose (QHL) são normalmente empregados para estudo da qualidade dos resíduos lignocelulósicos, entretanto, podem fornecer informações importantes referente a degradabilidade dos lodos de esgoto (CORTEZ et al., 1996). A razão lignina/N relaciona a lignina com o nitrogênio presente, predominantemente, nas proteínas, portanto, de fácil degradação. O índice lignocelulósico (ILC) considera a lignina e relaciona esta com o conteúdo de celulose, a qual é mais facilmente degradada que a lignina. O quociente holocelulose:lignocelulose (QHL), adiciona em relação ao ILC, a hemicelulose. De maneira geral, quanto menor os valores da razão Lig/N e do ILC, maior será a degradação do lodo de esgoto. Entretanto, para o QHL, quanto maior o valor, maior será a degradação do bio sólido (CORTEZ et al., 1996).

A diversidade bioquímica dos componentes orgânicos do lodo indica que os organismos devem possuir um amplo espectro de enzimas extracelulares para convertê-los em metabólitos assimiláveis (TAUK, 1990). Nesse sentido, os fungos basidiomicetos causadores da podridão branca são vistos como importantes ferramentas biotecnológicas, visto que este grupo fúngico apresenta enzimas capazes de atuar na degradação de compostos recalcitrantes (lignina, celulose, hemicelulose), xenobióticos, efluentes de águas residuárias e, possivelmente, na fração orgânica do lodo ativado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS).

2.4.1 Enzimas envolvidas na degradação da lignina, celulose e hemicelulose

Como biodegradadores naturais, os fungos encontram as substâncias necessárias para o seu desenvolvimento na natureza, principalmente como macromoléculas insolúveis (lignina, celulose e hemicelulose), as quais necessitam ser despolimerizadas em unidades monoméricas solúveis antes de serem incorporadas à célula fúngica pela membrana plasmática e pela parede celular (PUTZKE; PUTZKE, 2002). A biodegradação inicia-se com a penetração da hifa fúngica através do lúmen da célula vegetal. Para se estabelecer, o fungo promove uma intensa secreção de metabólitos extracelulares, especialmente enzimas (exoenzimas), que atuam sobre os vários componentes da madeira (CARVALHO et al., 2009). Arantes; Milagres (2009) destacam que além das enzimas

lignocelulolíticas, compostos de baixa massa molar também estão envolvidos no metabolismo das fibras vegetais.

Os fungos lignocelulolíticos possuem complexos enzimáticos capazes de degradar substâncias químicas e estruturas poliméricas como a celulose, a hemicelulose e a lignina (ALEXOPOULUS et al., 1996), as quais compõem fração expressiva da madeira (CARVALHO et al., 2009) e dos biossólidos gerados a partir dos diferentes tipos de tratamentos de esgoto doméstico (ANDRADE, 2004). Esta grande capacidade metabólica tem impulsionado pesquisas para esclarecimento dos mecanismos de degradação utilizados por fungos degradadores de madeira (MACEDO, 2006), bem como, para emprego biotecnológico deste potencial na indústria de papel e, possivelmente, na biodegradação de lodo ativado por aeração prolongada.

Os basidiomicetos causadores da podridão branca degradam a lignina através de um processo denominado cometabolismo da lignina, visto que necessitam de uma fonte primária de energia para que isso ocorra (PUTZKE; PUTZKE, 2002). A partir da despolimerização da hemicelulose e da celulose ocorre a liberação de moléculas solúveis susceptíveis ao metabolismo intracelular que culmina na geração de energia para a célula e liberação de CO₂ e água (mineralização). As enzimas ligninocelulolíticas são produzidas pelos fungos de degradação branca, geralmente, durante o metabolismo secundário (KIRK; CULLEN, 1998). Neste caso, não ocorre um processo hidrolítico e, portanto, não há liberação de unidades monoméricas no meio. Por isso, esta via metabólica não representa uma fonte primária de energia e de carbono para o crescimento fúngico, apesar de ela ser potencialmente capaz de prover energia para o crescimento celular (BUSWELL, 1991).

Para biodegradação da lignina é necessário o envolvimento de enzimas peroxidases e oxidases. As peroxidases produzidas por basidiomicetes lignocelulolíticos são a lignina peroxidase (LiPs), manganês peroxidase (MnP) e outras peroxidases com ampla atuação, principalmente na degradação de compostos recalcitrantes (MOREIRA NETO, 2006). A enzima LiP e a MnP são heme-proteínas que apresentam potencial de oxidação suficientemente elevado para abstrair elétrons de estruturas aromáticas não-fenólicas, dando origem a radicais catiônicos. Já a enzima lacase (Lac) é cupro-proteína que catalisa a

redução de O_2 a H_2O , com simultânea oxidação de subunidades fenólicas da lignina (SOUZA; ROSADO, 2009).

As enzimas responsáveis pela degradação da celulose e das polioses (hemicelulose) são hidrolases que apresentam certa especificidade pelo respectivo substrato. Já as enzimas envolvidas na degradação da lignina são oxidases e, em geral, são pouco específicas. A celulose é uma macromolécula microfibrilar, composta de regiões amorfas e cristalinas, formada unicamente por unidades de β -D-glucopiranosose associadas entre si por ligações β -1,4 glicosídicas, sendo a celobiose a unidade repetitiva do polímero (CARVALHO, 2005).

O complexo enzimático da celulase constitui-se em um dos mais importantes grupos de exoenzimas fúngicas. Este complexo é composto por celobiohidrases que agem sobre a região cristalina e sobre a região amorfa (PUTZKE; PUTZKE, 2002). A hidrólise completa da celulose requer a ação combinada de pelo menos três grupos de enzimas que atuam em sinergia: 1) endoglucanases, que hidrolisam ligações glicosídicas no interior da cadeia, principalmente nas regiões amorfas, liberando fragmentos menores; 2) celobio-hidrolases, que hidrolisam ligações glicosídicas nas extremidades da cadeia, liberando dímeros de glucose (celobioses) e 3) β -glucosidases, que hidrolisam as celobioses, liberando unidades de glucose (KIRK; CHAN, 1981).

A hidrólise da hemicelulose ocorre pela ação combinada de diversas endoenzimas, exoenzimas e enzimas auxiliares. Por exemplo, a hidrólise da xilana envolve a ação de pelo menos dois grupos de enzimas, endo 1,4- β -D-xilanases e β -D-xilosidases, atuando na cadeia principal (KIRK; CHAN, 1981). Dependendo do tipo de xilana, podem ser também necessárias enzimas auxiliares para a clivagem das cadeias laterais, como α -D-glucuronidases e acetil-xilana-esterases, entre outras.

As vias metabólicas utilizadas por basidiomicetos causadores da podridão branca, em geral, são aeróbias, visto que as enzimas que degradam a lignina são oxidativas. Entretanto, as velocidades relativas de degradação da lignina e dos polissacarídeos variam grandemente de acordo com a espécie fúngica (ERIKSSON et al., 1990; ARANTES; MILAGRES, 2009). Essa variabilidade no potencial de degradação está associada ao patrimônio genético do fungo, bem como, a fatores extrínsecos, tais como: a relação carbono/nitrogênio da madeira e/ou do bio sólido (ALONSO et al., 2007), os níveis de oxigênio e as condições nutricionais do meio. Isto demonstra a amplitude de fatores endógenos e exógenos associados à

biodegradação da lignina, celulose e hemicelulose e, possivelmente, dos lodos ativados por aeração prolongada.

2.4.2 Fatores que afetam a biodegradação do lodo ativado

De maneira geral, a degradação de resíduos orgânicos é influenciada por fatores relacionados ao resíduo e ao clima (AJWA; TABATABAI, 1994). No caso específico de biossólidos, têm-se observado que as características do lodo e as condições de temperatura e umidade são as mais determinantes da taxa de degradação (SOMMERS et al., 1979). Algumas características dos biossólidos reconhecidamente importantes no estabelecimento da taxa de degradação são: pH, conteúdo de nutrientes, teor de carbono e nitrogênio, concentração de sais solúveis, teores de metais pesados e composição química da fração orgânica (HATTORI; MUKAI, 1986).

Além dos fatores destacados acima Jacques et al. (2007) consideram a disponibilidade de água o fator ambiental mais crítico, pois segundo o autor, uma alta atividade de biodegradação somente ocorrerá se houver adequada disponibilidade de água aos microrganismos. Andrade et al. (2006) em sua avaliação de diferentes biossólidos utilizaram 60% da umidade de campo para determinar a taxa de degradação destes resíduos. Os autores obtiveram resultados variando entre 5 a 22%. Da Cas (2009) ao avaliar a incorporação do lodo da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) associado à palha de aveia obteve resultados da ordem de 30% de mineralização do carbono. Seu estudo foi conduzido com umidade de campo de 80%. Nesse sentido, ampliar esse espectro de umidade permitirá conhecer um pouco mais sobre a interferência deste fator na degradação do lodo.

Devido à maioria dos fungos lignocelulolíticos possuírem metabolismo aeróbio, acredita-se que a inoculação em superfície favoreça sua colonização. Além disto, a inoculação em superfície favorece a fermentação no estado sólido. Esta pode ser definida como o processo que se refere à cultura de microrganismos sobre ou dentro de partículas em matriz sólida (substrato ou material inerte), onde o conteúdo de líquido (substrato ou meio umidificante) ligado a ela encontra-se em um nível de atividade de água que, por um lado, assegure o crescimento e metabolismo das células e, por outro, não exceda à máxima capacidade de ligação da água com

a matriz sólida (DEL BIANCHI et al., 2001). Entre as vantagens de inoculação em superfície podem-se citar: a facilidade de acesso ao substrato para quem está manejando o sistema; a melhor visibilidade dos efeitos de colonização dos fungos; a facilidade de distribuição uniforme do inóculo, visto que é possível observar toda a superfície e a maior possibilidade de trocas gasosas na fase inicial de colonização do substrato.

O pH do meio afeta a atividade dos fungos basidiomicetos através dos efeitos dos íons H^+ na permeabilidade celular e na atividade enzimática. De modo geral, os lodos ativados condicionados com cal hidratada apresentam pH entre 6,5 a 7,3 (VON SPERLING, 1999). O pH ótimo para a atividade das lacases depende do tipo de substrato utilizado. No caso dos fenóis, considera-se pH ótimo quando contido no intervalo entre 3 e 7 para lacases fúngicas (SOARES, 2000). A maioria dos fungos tolera a variação de pH num intervalo compreendido de 4 a 9. No entanto, as enzimas são mais sensíveis à variação do pH (PAPAGIANNE, 2004).

A relação carbono nitrogênio (C/N) tem papel crucial nas taxas de degradação dos resíduos. Lodos de esgoto que apresentam alta relação C/N (> 30) induzem a um esgotamento do N, em virtude da grande demanda pelos microrganismos, o que causa a imobilização temporária deste nutriente. No entanto, se a relação C/N do lodo de esgoto for baixa (< 20) ocorre a liberação do elemento mineralizado. Quando a relação C/N do lodo de esgoto estiver entre 20 e 30, têm-se um equilíbrio entre imobilização e mineralização (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). De modo geral, a degradação é favorecida pelos baixos teores de lignina e de compostos fenólicos, altos teores de materiais solúveis nitrogenados, baixa relação C/N e pelas condições físico-químicas que favoreçam a atividade biológica.

A temperatura afeta a atividade metabólica e, por consequência, a biodegradação do lodo ativado. Apesar da biodegradação ocorrer numa ampla faixa de temperatura, as maiores taxas ocorrem entre 25 e 35°C, sendo que, em temperaturas acima ou abaixo destas, há prejuízos para este processo (HAIDER, 1999). Além deste fator, também é importante avaliar a composição relativa dos compostos orgânicos (carboidratos, proteínas, lignina), pois estes dados se inter relacionam com taxa de degradação dos resíduos lignocelulósicos (ANDRADE et al., 2006) e com o tempo necessário para degradar esses compostos.

Os organismos, em geral, requerem condições abióticas específicas para serem capazes de degradar os resíduos. Apesar disto, os fungos da podridão

branca são bons degradadores de poluentes recalcitrantes devido à inespecificidade do complexo enzimático que secretam (POINTING, 2001). Isto confere aos basidiomicetos vantagens em processos de biodegradação, tais como: vantagens competitivas, com relação aos outros microrganismos, quando materiais lignocelulósicos são utilizados como fontes de carbono (SILVA, 2009); o sistema enzimático, sendo extracelular, pode atuar em substratos insolúveis ou complexados aos solos (BUSWELL, 1991); o sistema enzimático, sendo inespecífico, pode ser usado para uma ampla variedade de poluentes orgânicos (lodo de esgoto e/ou xenobióticos) ou mesmo para misturas deles (ARANTES; MILAGRES, 2009); o sistema enzimático, sendo produzido em resposta às condições de limitação de nutrientes, não necessita ser induzido pela exposição prévia ou pela presença da lignina ou do composto poluente (MOREIRA NETO, 2006).

Além destas características, os fungos apresentam capacidade de crescer sob as condições de estresse ambiental, as quais limitam o crescimento bacteriano. E ainda, o modo de crescimento dos fungos – induzido quimiostaticamente em direção à fonte de carbono orgânico, através do alongamento e ramificação das hifas – permite a colonização de grandes áreas (PUTZKE; PUTZKE, 2002). Desta forma, o contato superficial com o resíduo é amplo, aumentando sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, podendo ter sua biodegradação aumentada (DUPONT et al. 1998). Dentro desta ótica, é possível pensar no emprego de fungos lignocelulolíticos para biodegradação de lodo ativado, uma vez que estes organismos possuem características que os habilitam atuarem sobre este tipo de resíduo.

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Prospectar isolados fúngicos com potencial biotecnológico para a degradação de lodo ativado por aeração prolongada proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS).

3.2 Objetivos específicos

- isolar, selecionador e avaliar a capacidade de fungos lignocelulolíticos em biodegradar lodo ativado proveniente do tratamento de esgoto do Município de Santa Maria (RS);
- avaliar e comparar a taxa de biodegradação de lodo ativado por aeração prolongada a partir de estudos respirométricos na presença e ausência de fungos lignocelulolíticos sob condições controladas de temperatura, umidade e pH;
- caracterizar a composição química do lodo ativado e determinar as alterações ocorridas nas frações orgânicas após a biodegradação fúngica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Biossólido

O biossólido gerado no tratamento das águas residuárias do município de Santa Maria (RS) é do tipo lodo ativado por aeração prolongada. A Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) é administrada pela Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN) e trata efluente doméstico bruto sob fluxo contínuo. O sistema opera com os seguintes níveis de tratamento: preliminar (gradeamento, desarenador e calha Parshall), primário (decantador) e secundário (reator biológico) para atender as exigências de lançamento de efluentes líquidos em corpos receptores de água (BRASIL, 2005).

A Figura 1 mostra a localização e o fluxograma operacional empregado na ETE da Vila Lorenzi do Município de Santa Maria/RS. O esgoto bruto chega por meio da rede coletora até o ponto 1 onde se inicia o tratamento preliminar através de grades grossa, média e fina. Nesta etapa, são separados os sólidos grosseiros não biodegradáveis. Após, o esgoto bruto recebe condicionamento químico com cal hidratada. Por meio de rosca sem fim é conduzido até o desarenador onde é retirada a fração areia. Logo em seguida é medida a vazão de entrada (calha Parsahl) e encaminhado para o reator biológico (2). A próxima etapa corresponde ao decantador (3) onde a velocidade de escoamento é diminuída favorecendo a formação flóculos e a decantação. O lodo gerado no decantador (lodo ativado) é

recirculado para o reator biológico (2). Neste procedimento, a concentração de biomassa no reator biológico é elevada devido à recirculação dos sólidos sedimentados no fundo do decantador. A biomassa permanece por mais tempo no sistema do que o líquido, garantindo, desta forma, elevada eficiência na remoção da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO). Assim, há menos DBO disponível para as bactérias, o que faz com que elas se utilizem do próprio material celular para sua manutenção (ANDREOLI et al., 1999).

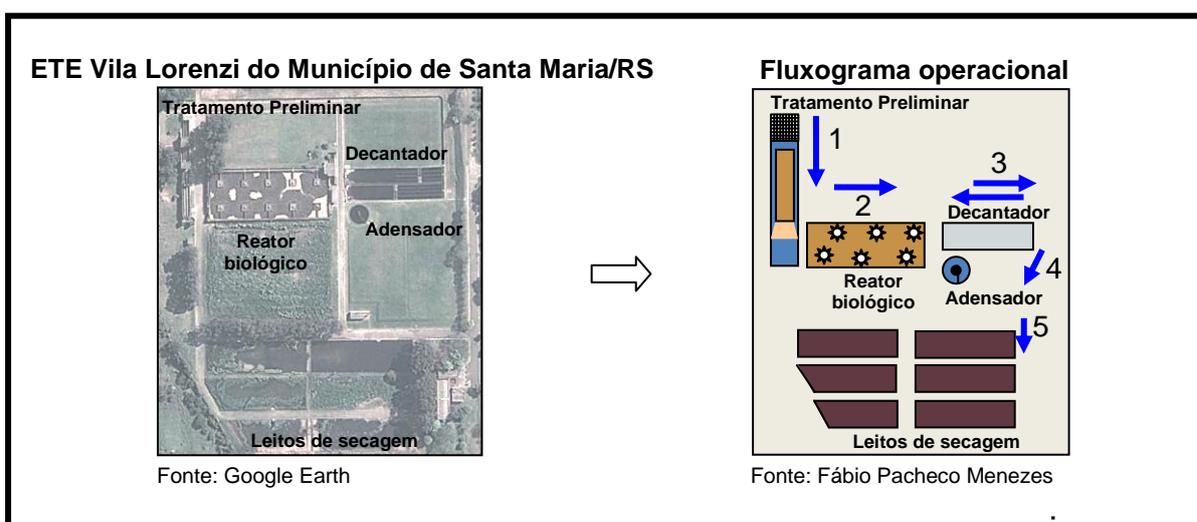


Figura 3. Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) e fluxograma operacional simplificado. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.

Após esta etapa, gera-se um efluente líquido clarificado que pode ser liberado nos corpos d'água. A fase sólida do esgoto continua o tratamento direcionando parte do lodo decantado (3) para o adensador gravitacional (4). Deste ponto o lodo de esgoto é bombeado subterraneamente para os leitos de secagem (5) onde permanecem até sua estabilização e posterior destino final.

4.2 Coleta e preparo de amostras de lodo ativado

A coleta do lodo ativado ocorreu no mês de novembro de 2012 e foi realizada com o auxílio de uma pá de concha e de recipientes plásticos (20 L) para seu prévio armazenamento. Foi selecionado o leito de secagem com maior tempo de deságue (aproximadamente 90 dias) visando coletar o lodo mais estabilizado. Foram

amostrados seis pontos deste leito de secagem. Após o lodo de esgoto foi levado ao Laboratório de Biologia do Colégio Técnico Industrial da Universidade Federal de Santa Maria onde foi seco em estufa de circulação forçada de ar (marca Nova Ética modelo 420 – 5D) a 40°C por sete dias. O material já seco foi homogeneizado em moinho de solo (marca Marconi) e peneirado em malha 2 mm.

4.3 Análise química do lodo ativado

4.3.1 Análises da fração inorgânica

Para a determinação do potencial químico do lodo ativado foram realizadas as seguintes determinações em triplicatas: pH em água (1:1), umidade, carbono orgânico, nitrogênio (N) total, N Kjeldahl, N amoniacal, N nitrato/nitrito, fósforo total, potássio total, cálcio total, magnésio total, enxofre total, sódio total e sólidos voláteis e totais. As análises seguiram os procedimentos recomendados pela Resolução Nº 380 de 2006 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (BRASIL, 2006). Os resultados foram expressos em mg kg^{-1} de lodo ativado em base seca. O Nitrogênio Amoniacal seguiu metodologia POP PA 113; o Nitrogênio Total Kjeldahl: POP PA 113 / Embrapa (1997); os Sólidos Totais: POP PA 058; o Poder Calorífico: POP PA 143 / ASTM D240; o Carbono Orgânico: POP PA 182; o pH: POP PA 056 / USEPA 9045 D; os Metais (ICP-OES): POP PA 035 / SMWW 3120 B, USEPA 6010 C; os Ânions: POP PA 032; o Enxofre: POP PA 179 / USEPA 5050 e 300.1

As substâncias inorgânicas astato (As), bário (Ba), cádmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), prata (Hg), molibdênio (Mo), níquel (Ni), chumbo (Pb), selênio (Se) e zinco (Zn) foram determinadas em amostras brutas de lodo ativado seguindo metodologia proposta pela United State Environment Protection Agency (USEPA) na POP PA 035 / SMWW 3120, USEPA 6010C conforme recomendações do CONAMA (2006).

4.3.2 Análises da fração orgânica

As frações orgânicas do lodo ativado foram determinadas segundo Van Soest (1991). Esta metodologia possibilita fracionar as fibras lignocelulósicas segundo a solubilidade em detergente neutro e ácido. Neste caso, são geradas as frações fibra

em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose (HEM), celulose (CEL), lignina em detergente ácido (LIG) e fração solúvel (FS) (VAN SOEST, 1991).

O fracionamento foi realizado em dois momentos: 1) após o teste de isolados em lodo ativado autoclavado, onde se buscou verificar as possíveis alterações ocorridas no substrato decorrentes da autoclavagem e 2) após as avaliações respirométricas. Neste último caso, avaliou-se o resíduo de lodo ativado *in natura* degradado pelos isolados fúngicos que apresentaram maiores taxas cumulativas de liberação de gás carbônico.

Amostras de lodo ativado foram secas (40°C) e submetidas à análise laboratorial em triplicatas. Em 0,3 g de lodo ativado foram adicionados 30 mL de solução detergente neutra com posterior digestão a 150°C por 1 hora. Após, as amostras foram submetidas à sucção a vácuo, filtradas e lavadas com água destilada (90°C) e acetona (30-40 mL). Para isso, utilizaram-se cadinhos filtrantes de 50 ml com porosidade nº 2 previamente pesados. Após, os mesmos foram secos em estufa a 105°C por oito horas, com posterior acondicionamento em dessecador até alcançar temperatura ambiente. O teor de FDN, expresso como livre de cinzas, foi calculado pela diferença de peso antes e após a fervura. Subtraindo-se de 100 a porcentagem obtida para a FDN, estimou-se a fração solúvel (FS) (VAN SOEST, 1991).

Para determinar a FDA partiu-se de 0,6 g de lodo ativado e 60 mL de solução detergente ácida. Os cadinhos filtrantes com a FDA foram submetidos ao ácido sulfúrico 12 molar por três horas. Posteriormente foram succionados a vácuo, filtrados, lavados (com água destilada e acetona) e pesados, conforme descrito para a FDN. O teor de HE foi estimado pela diferença entre o conteúdo de FDN e FDA. O conteúdo de CE foi estimado por diferença de perda de massa da FDA antes e após o tratamento com o ácido sulfúrico 12 molar por 3 horas. O material não extraído, resultante da sucessiva extração seletiva foi calcinado a 500°C por 3 horas, esfriado em dessecador, pesado e calculado o conteúdo de LIG e cinzas do lodo ativado. Os resultados obtidos foram calculados em porcentagem de matéria seca (MS) a 105°C e posteriormente expressos em porcentagem da MS (VAN SOEST, 1991).

4.4 Teste de isolados fúngicos em biossólido autoclavado

Para os fungos coletados em Santa Maria (RS) e que não foi possível a identificação a campo (UFSMFPM1, UFSMFPM2, UFSMFPM3, UFSMFPM4, UFSMFPM5, UFSMFPM6, UFSMFPM7, UFSMFPM8, UFSMFPM9, UFSMFPM10, UFSMFPM11, UFSMFPM12) procedeu-se o isolamento em laboratório utilizando o meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). Para esses isolados fúngicos adotou-se um teste preliminar da capacidade de colonizar lodo autoclavado, visto que seu potencial lignocelulolítico era desconhecido. O lodo ativado proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) foi autoclavado (121 °C e 1 atm) por 30 minutos. Para isso, foram utilizados frascos de Erlenmeyer contendo 100 g do resíduo. Após resfriamento cada frasco recebeu cinco discos de BDA (5 mm) contendo o micélio dos isolados. Os Erlenmeyeres foram incubados a 24°C por 60 dias. A análise dos resultados após esse período foi realizada através de identificação visual da presença ou ausência de micélio sobre o resíduo de lodo ativado por aeração prolongada (SILVA et al., 2010a). O adensamento micelial foi determinado por meio de escala subjetiva onde: (-) significa ausência de micélio; (+) significa micélio pouco adensado, presença de hifas espaçadas e finas; (++) significa micélio medianamente adensado; (+++) significa micélio fortemente adensado (SILVA et al., 2010a).

4.5 Avaliação da biodegradação do lodo ativado

A decomposição dos materiais orgânicos presente no lodo ativado foi determinada através da quantificação da liberação de carbono na forma de C-CO₂ segundo metodologia proposta por STOTZKY (1965). Foram realizados dois experimentos respirométricos com lodo ativado *in natura*. No experimento respirométrico I foi realizado um *screening* com 24 cepas fúngicas. Após análises dos resultados desse experimento foram selecionados os dois isolados que apresentaram maiores taxas cumulativas de liberação de C-CO₂ para compor o segundo experimento. No experimento respirométrico II, esses isolados foram avaliados sob diferentes condições de umidade, temperatura e pH.

4.5.1 Experimento respirométrico I - *Screening* de fungos lignocelulolíticos

Foram testados em triplicatas 24 isolados de fungos a fim de selecionar os mais eficientes na biodegração de lodo ativado *in natura* (Tabela 2).

Tabela 2. Isolados utilizados no experimento respirométrico I – screening de fungos lignocelulolíticos. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.

Gênero /Espécie	Origem	Característica
<i>Ganoderma applanatum</i> (Pers.) Pat.	Cenargen/Brasília	Podridão branca
<i>Ganoderma lucidum</i> (Fr.) Karst.	Cenargen/Brasília	Podridão branca
<i>Gloeophyllum trabeum</i> (Pers.) Murrill, (1908)	Cenargen/Brasília	Podridão branca
<i>Hericium erinaceus</i> (Bull.) Persoon, 1825	Cenargen/Brasília	Podridão parda
<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler	Cenargen/Brasília	Podridão branca
<i>Pleurotus flabeliforme</i> (Berk. & Br.) Sacc.	Cenargen/Brasília	Podridão branca
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq. ex Fr.) P.Kumm., 1871	Cenargen/Brasília	Podridão branca
<i>Pleurotus sajor caju</i> (Fr.) Singer	Cenargen/Brasília	Podridão branca
<i>Pycnoporus sanguineus</i> (L.) Murrill, Bull	Cenargen/Brasília	Podridão branca
<i>Trametes versicolor</i> (L.:Fr.) Quél.	Cenargen/Brasília	Podridão branca
<i>Schizophyllum commune</i> Fries	Cenargen/Brasília	Podridão branca
<i>Agaricus bisporus</i> (J.E.Lange) Imbach	Bruno Menezes/SP	Podridão branca
<i>Agaricus blazei</i> Murill	Bruno Menezes/SP	Podridão branca
<i>Pleurotus citrinopileatus</i> Singer, 1943	Bruno Menezes/SP	Podridão branca
<i>Pleurotus salmoneostramineus</i>	Bruno Menezes/SP	Podridão branca
<i>Fomes fasciatus</i> (Sw.) Cooke 1885	LBA/UFSM*	Podridão branca
<i>Ceriporiopsis lowei</i>	LBA/UFSM*	Podridão branca
<i>Laetiporus</i> sp.	LBA/UFSM*	Podridão branca
<i>Irpecc</i> sp.	LBA/UFSM*	Podridão parda
<i>Skeletocutis</i> sp.	LBA/UFSM*	Podridão branca
<i>Nigroporus vinosus</i> (Berk.) Murrill	LBA/UFSM*	Podridão branca
UFSMFPM3	LBA/UFSM*	NI**
UFSMFPM6	LBA/UFSM*	NI**
UFSMFPM8	LBA/UFSM*	NI**

*LBA/UFSM – Laboratório de Biologia do Solo e Ambiente da Universidade Federal de Santa Maria
 NI** Não identificado

A liberação de C-CO₂ foi mensurada aos 2, 9, 12, 15, 21, 26, 30, 32, 41, 49 e 66 dias após o início da incubação, sempre nos mesmos frascos hermeticamente fechados. Cada unidade experimental consistia de um frasco de vidro com volume de 0,001 m³ e 100 g de lodo ativado previamente destorroado, peneirado (malha 2 mm) e com umidade ajustada para 80%. A umidade foi estabelecida após testes

preliminares que avaliaram a capacidade do bio-sólido em reter diferentes umidades. Os isolados fúngicos foram inoculados em superfície através de discos contendo micélio fúngico e meio de cultura batata-dextrose-ágar. Foram inoculados três discos de aproximadamente 5 mm de diâmetro por frasco. A temperatura foi mantida constante em 22°C através de uma incubadora.

O C-CO₂ liberado em cada tratamento foi captado em 20 mL de uma solução de NaOH 1 mol colocada em copos descartáveis de café com capacidade de 50 ml. O NaOH residual foi titulado com solução de HCl 2 mol L⁻¹ em cada intervalo de coleta, após precipitação do carbonato com uma solução de cloreto de bário (BaCl₂) 1 mol L⁻¹, tendo como indicador fenolftaleína 1%. A aeração das unidades experimentais foi realizada por ocasião de cada uma das avaliações realizadas, ficando aberta por um período de 15 minutos, antes da adição da nova solução de NaOH 1 mol nos copos descartáveis. Semanalmente foram ajustados os teores de umidade através da adição de água destilada com base na perda de peso de cada unidade (STOTZKY, 1965).

4.5.2 Experimento respirométrico II – diferentes condições ambientais

A partir dos resultados obtidos no *screening* foram selecionados os dois isolados com maiores taxas cumulativas de C-CO₂ liberado. Esses foram testados quanto a sua capacidade degradativa isoladamente e na forma de consórcio fúngico. A metodologia seguiu os mesmos passos anteriores, variando as condições de umidade do lodo ativado (65%, 80% e 95%), a temperatura de incubação (24°C, 28°C e 32°C) e o pH do meio (5,5 e 7,0), num período de 100 dias. Os resultados alcançados foram submetidos à análise da variância e quando o valor de Fc foi significativo, as médias dos tratamentos foram comparadas através do teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Sobre o resíduo de lodo ativado biodegradado pelos isolados fúngicos que apresentaram diferença significativa realizaram-se as seguintes determinações analíticas em triplicatas:

A - Carbono (C) e nitrogênio (N) total: foram determinadas por combustão a seco em analisador LECO CN- 2000, usando amostras dos bio-sólidos moídas e peneiradas a 60 meshes.

B - O carbono solúvel (C-solúvel) foi determinado em extrato obtido após mistura do biossólido e água deionizada, na razão 5:25, respectivamente. Posteriormente as amostras foram filtradas em membrana 0,45 µm. A determinação analítica do carbono solúvel foi feita por meio de oxidação com dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) utilizando-se 2mL do extrato obtido e 1 mL de $K_2Cr_2O_7$. Após, as amostras foram colocadas em estufas durante 4 horas a 60°C. A leitura do carbono solúvel foi realizada no comprimento de onda 580 nm.

C - Fósforo orgânico total: foi determinado pelo método de ignição (OLSEN; SOMMER, 1982). Amostras de 1 g de lodo ativado foram pesados em duplicata: conjunto A para cadinho de porcelana e o conjunto B para “snap-cap” de 100 ml. O conjunto A foi levado a mufla e ignificado a 550°C por 2 horas; posteriormente o lodo ignificado foi transferido para snap-cap de 100 ml e adicionado 50 ml de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} no conjunto A e B. Após serem agitados por 2 horas foram centrifugados a 6000 rpm por 10 minutos. O fósforo foi determinado no sobrenadante seguindo a metodologia de Murphy; Riley (1962).

D - N inorgânico: para a extração de N na forma de amônio [$N-NH_4^+$] e nas formas de nitrato e de nitrito [$N-(NO_3^- + NO_2^-)$] utilizou-se solução de cloreto de potássio (KCl) 1 mol L^{-1} em amostras de 1,0 g de lodo ativado. Após obter os extratos das amostras, procedeu-se à destilação da amônia com adição de 0,2 g de óxido de magnésio (MgO). Para a redução de nitrato e de nitrito a amônio utilizou-se a liga Devarda. Posteriormente os extratos obtidos foram titulados com solução ácida padronizada (TEDESCO et al., 1995).

E - N orgânico: foi determinado pela diferença entre o N inorgânico e o N total.

F - Matéria orgânica (MO) total: a determinação do teor de matéria orgânica foi realizada pela técnica gravimétrica. Alíquotas de aproximadamente 0,5000 g de lodo ativado, pesadas em balança analítica com quatro casas decimais, foram colocadas em cadinhos de porcelana previamente pesados para serem calcinadas em mufla a 550°C durante 4 horas. Após queima, os cadinhos foram resfriados em dessecador e novamente pesados. O teor de MO foi estimado pela relação entre a perda de massa, decorrente da queima, e a massa inicial da amostra (ALLEN, 1989).

G – Razão Lignina/nitrogênio (Lig/N): foi calculada através do teor de lignina e do teor de nitrogênio presente na fração orgânica do N orgânico (CORTEZ et al., 1996).

H – Índice lignocelulósico (ILC): foi calculado através da fórmula lignina/(lignina+celulose) (CORTEZ et al., 1996).

I – Quociente holocelulose:lignocelulose (QHL): foi calculado através da fórmula (hemicelulose+celulose)/(hemicelulose+celulose+lignina) (CORTEZ et al., 1996).

4.6 Análise dos resultados

Os resultados da caracterização químico-física do lodo ativado e dos metais pesados foram comparados por meio dos valores médios de cada variável.

Os dados da caracterização química da fração inorgânica e orgânica do biossólido submetido à autoclavagem e natural foram submetidos à análise da variância e quando o valor de Fc foi significativo, as médias dos tratamentos foram comparadas através do teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A triagem dos fungos lignocelulolíticos e os experimentos respirométricos sob diferentes condições ambientais foram interpretados em termos de C-CO₂ mg kg⁻¹ emanado acumulado, descontado o controle, sendo o resultado desta subtração atribuído a degradação do carbono orgânico do biossólido. Esses dados foram submetidos à análise da variância e quando o valor de Fc foi significativo, as médias dos tratamentos foram comparadas através do teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Os resultados do fracionamento químico do carbono e nitrogênio, bem como as alterações ocorridas nas frações lignina, celulose e hemicelulose após os experimentos respirométricos sob diferentes condições ambientais foram comparados por meio dos valores médios de cada variável, sendo determinado o desvio padrão dos dados.

Os resultados significativos das taxas de biodegradação obtidos com os isolados fúngicos foram correlacionados com os parâmetros de caracterização da

fração orgânica do lodo ativado para determinar os coeficientes de correlação (r) e nível de significância ($\text{Prob.} > t$) após teste de normalidade dos dados.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização físico-química do lodo ativado

Após o estudo físico-químico do lodo ativado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) obtiveram-se os teores dos parâmetros inorgânicos, do carbono orgânico total e o poder calorífico (Tabela 3).

Tabela 3. Composição físico-química do lodo ativado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS). Santa Maria, RS, UFSM, 2013.

Parâmetro	Unidade	Concentração	Variação *
Cálcio	mg kg ⁻¹	23581	0,0 – 42700
Carbono Orgânico Total	%	26	20 - 35
Enxofre	%	4,63	0,05 – 0,55
Fósforo	mg kg ⁻¹	58332	15000 - 40000
Magnésio	mg kg ⁻¹	4479	200 – 4200
Nitrato	mg kg ⁻¹	<1,1	-
Nitrito	mg kg ⁻¹	<0,2	-
Nitrogênio amoniacal	mg kg ⁻¹	289	0,0 - 44100
Nitrogênio Total Kjeldahl	mg kg ⁻¹	6925	2740 – 88000
pH (suspensão 1:1)	---	7,1	5,5 – 7,9
Potássio	mg kg ⁻¹	2237	0,0 - 3000
Poder Calorífico Inferior (Base Seca)	kcal kg ⁻¹	3044	-
Poder Calorífico Superior (Base Seca)	kcal kg ⁻¹	3288	-
Sódio	mg kg ⁻¹	614	-
Sólidos Totais	%	81,6	40 - 75
Sólidos Voláteis	%	42,6	30 - 60

* MACHADO (2001)

O valor obtido para os sólidos totais (ST) (81,6 %) está acima do intervalo indicado pela SANEPAR (1999), a qual recomenda teores entre 40 a 75 % para lodos ativados com aeração prolongada. Esse resultado possivelmente está associado ao clima da região e/ou período de estocagem do biossólido nos leitos de

secagem (VON SPERLING, 2008), local onde o lodo tratado é desaguado com a ação combinada da percolação do excesso de água e da evaporação natural (PEDROZA et al., 2010). Em condições normais de deságue, o lodo de esgoto pode ser removido do leito de secagem após 20 a 60 dias, quando a umidade atinge valores entre 60 a 70% (JORDÃO, PESSÔA, 1995).

O biossólido avaliado, nesse estudo, tinha 90 dias de deságue, o que possivelmente colaborou com o maior teor de sólidos totais encontrados. A obtenção de biossólidos mais concentrados, ou seja, com maiores teores de sólidos totais, é vantajosa, pois propicia menor volume de resíduo a ser processado dentro da estação de tratamento de esgoto. Segundo Fernandes et al. (1996), a etapa de destinação final pode alcançar 60% dos custos operacionais do tratamento, por isso, a redução de volume é de extrema importância no tratamento dos biossólidos. Entretanto, vale destacar que não apenas este parâmetro deve ser analisado para a disposição final dos biossólidos, mas sim, o fato deste resíduo estar estabilizado, higienizado e sem odores, o que diminui os riscos à saúde pública e ao ambiente (COSTA et al., 2005).

O conhecimento do teor dos sólidos voláteis (SV) pode ser entendido como uma estimativa da quantidade de matéria orgânica presente nos esgotos sanitários. Nesse estudo, obteve-se o teor de 42,6 % para os SV. Esse resultado se aproxima dos valores reportados por Rangel et al. (2006) que avaliaram lodos da estação de tratamento de esgoto de Franca (SP) e Barueri (SP) e obtiveram variação entre 43 a 60,5 %, dependendo da presença ou ausência de descarga industrial no efluente. As concentrações usuais de SV nos esgotos sanitários são as seguintes: esgoto forte (70 %), esgoto médio (35 %) e esgoto fraco (12 %) (JORDÃO; PESSÔA, 1995). O biossólido da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) está mais próximo do enquadramento em esgotos médios, o que é mais característico de cidades que recebem pouca carga industrial no esgoto (SANEPAR, 1999), como é o caso desse município, onde o tratamento é majoritariamente doméstico.

Segundo Von Sperling; Gonçalves (2001), para lodos digeridos aerobicamente, a relação SV/ST situa-se entre 0,60 a 0,65. Neste estudo, a relação SV/ST no lodo digerido da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) situou-se em torno de 0,52 indicando a presença quase proporcional de substâncias orgânicas e inorgânicas em sua massa sólida total.

O carbono orgânico total (COT) é uma medida direta da matéria orgânica carbonácea existente numa amostra. Essa análise inclui compostos de carbono orgânico estável que não são oxidados biologicamente (DAVIES, 2005) e compostos de fácil biodegradação. O valor do COT, neste estudo, foi de 26 % (Tabela 3) e está próximo dos valores esperados para lodo ativado de origem doméstica, que ficam entre 20 a 35% (VON SPERLING, 2008).

O teor de fósforo total alcançou o valor de 58.332 mg kg⁻¹. Esse resultado é superior ao relatado por Araújo et al. (2009) que obtiveram o valor de 16.000 mg kg⁻¹ para lodo ativado oriundo da estação de tratamento de esgoto de Franca (SP). Dados da estação de tratamento de esgoto de Gramado (RS) revelaram valores da ordem de 4.715,5 mg kg⁻¹ para lodo doméstico digerido aerobicamente (CORSAN, 2011). Galdos et al. (2004) avaliando lodos aeróbios obtiveram resultados variando entre 6.600 a 7.200 mg kg⁻¹ para o teor de fósforo total.

A possível destinação deste lodo para uso agrícola requer cuidados, pois o teor de nitrogênio no lodo de esgoto tem sido um dos parâmetros no cálculo da quantidade a ser aplicada, de acordo com a necessidade de cada cultura (CETESB, 1999). Como esse lodo apresenta elevados teores de fósforo, pode haver uma aplicação excessiva deste elemento (SUI; THOMPSON, 2000) conduzindo a possíveis impactos negativos nos cursos de água próximos aos locais onde são aplicados esses resíduos (ROCHA; SHIROTA, 1999).

Uma possível explicação para os elevados teores de fósforo obtidos neste estudo está relacionada ao emprego de cloreto férrico no tratamento do esgoto, visando redução do fósforo no efluente líquido tratado (BRASIL, 2005). O cloreto férrico é um polieletrólito que funciona como um eficiente coagulante para a remoção do fósforo. Entretanto, o uso deste coagulante possui o inconveniente de gerar maior massa de biossólidos. Isto ocorre porque as quantidades adicionadas, em geral, são grandes sendo que esses compostos acabam por fazer parte da massa sólida de lodo de esgoto (CAVALCANTI, 2009) aumentando ainda mais seu volume e a massa final, além de concentrar o fósforo na fase sólida (biossólido) do tratamento.

O teor de nitrogênio total no lodo da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) foi 6.925 mg kg⁻¹ (Tabela 3). Este valor está próximo dos valores relatados para sistemas de lodo ativado por aeração prolongada. Von Sperling; Fróes (2000) obtiveram teor de 6.500 mg kg⁻¹ de nitrogênio para o lodo da estação de tratamento de esgoto de Morro Alto (MG). Dados do lodo ativado da estação de

tratamento de esgoto de Gramado (RS) alcançaram o valor de $10.552 \text{ mg kg}^{-1}$ de N (CORSAN, 2011). No entanto, estes valores são distintos do relatado por Araújo et al. (2009) que obtiveram o teor de $47.000 \text{ mg kg}^{-1}$ de nitrogênio total no lodo da estação de tratamento de esgoto de Franca (SP). Esta grande diferença no teor de N relaciona-se ao recebimento de despejo industrial na cidade de Franca (SP), o que não aconteceu nos outros locais citados, inclusive, neste estudo.

O pH do lodo ativado se mostrou próximo da neutralidade (7,1). Este parâmetro tem grande relevância em todas as fases do tratamento das águas residuárias, sendo considerado ideal entre 6 a 8 para não tornar o ambiente extremamente seletivo a determinados grupos de microrganismos (SANEPAR, 1999). No tratamento biológico aeróbio, geralmente, o pH se desloca para a faixa de pH alcalino, funcionando como indicador de bom funcionamento do sistema (CETESB, 2000). Segundo Von Sperling (2008), lodos ativados por aeração prolongada tendem a variar seu pH entre 5,5 a 7,9 estabilizando-se em torno de 7,0 se for bem manejado. Dentro desta ótica, em relação ao parâmetro pH, pode-se dizer que a operação da ETE Santa Maria (RS) está atendendo aos princípios do tratamento por meio de lodos ativados com aeração prolongada.

Os teores de potássio (K), sódio (Na), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) no lodo de esgoto avaliado mostraram-se acima da média dos valores relatados para lodos ativados (SANEPAR, 1999) alcançando os valores de 2.237, 614, 23.981 e 4.479 mg kg^{-1} , respectivamente. Nos sistemas operados através de lodos ativados por aeração prolongada, a qualidade e a quantidade de cátions presentes no efluente podem afetar o desempenho do processo. Isso se deve às interações físico-químicas entre as comunidades bacterianas e os cátions, às ligações formadas pelos íons e ao mecanismo de troca de íons (COUSIN; GANCZARCZYK, 1999). Os cátions sódio, potássio, magnésio e cálcio participam dos processos de formação estrutural dos agregados de lodo ativado. Alterações na estabilidade ou na agregação dos flocos microbianos podem acarretar modificações nas características de sedimentação, resultando em arraste da biomassa e perda da eficiência do processo (MATINEZ, 2004).

Os elevados teores de K, Na, Ca e Mg obtidos neste estudo podem afetar a floculação, a qual é crítica para a separação sólido/líquido. Uma floculação deficiente acarreta má sedimentabilidade e desaguamento inadequado do lodo de esgoto. Deorsola (2006) relata que em sistemas de lodos ativados com aeração prolongada

que recebem cargas com alta concentração de K, Mg e Ca tendem a aumentar o teor de sólidos totais no efluente e prejudicar a sedimentação do lodo, fazendo com que o processo perca a eficiência do tratamento. Em outras palavras significa dizer que o volume de lodo produzido tenderia a aumentar, pois haveria perda de biomassa a qual acaba por elevar o índice volumétrico do lodo (KARGI; UYGUR, 2005) gerando mais resíduo a ser destinado.

Neste estudo, foi observado alto teor de cálcio no biossólido, fato este que pode estar relacionado à aplicação de cal hidratada nas etapas iniciais do tratamento do esgoto. Os elevados teores deste nutriente e dos demais cátions possibilitam o uso deste biossólido como fertilizantes agrícola em diferentes culturas, tais como: milho (MELO et al., 2007), sorgo (REVOREDO; MELO, 2006), pupunha (BOVI et al., 2007), mamona (BACKES et al., 2009) e cana de açúcar (CAMILOTTI et al., 2007). Os teores de K estiveram acima do esperado, no entanto, em geral, os lodos de esgoto são pobres em potássio e, por isso, não são capazes de suprir as necessidades das plantas em relação a esse nutriente (CEOLATO, 2007).

O poder calorífico inferior (PCI) do lodo avaliado alcançou $3044 \text{ kcal kg}^{-1}$ enquanto o poder calorífico superior (PCS) foi de $3288 \text{ kcal kg}^{-1}$. Esses valores são superiores aos relatados por Mocelin (2007) que encontrou PCS de $27588 \text{ kcal kg}^{-1}$ para lodo ativado. Silva (2011) obteve PCI de $2054,07 \text{ kcal kg}^{-1}$ e PCS de $2101,84 \text{ kcal kg}^{-1}$. O maior poder calorífico encontrado neste estudo pode estar relacionado ao maior teor de carbono orgânico total encontrado no lodo da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS). De acordo com RULKENS (2008), para um bom rendimento térmico na combustão, o combustível deve possuir uma elevada quantidade de carbono fixo e materiais voláteis, além de alto poder calorífico. Quanto maior o teor de carbono e hidrogênio, melhor será a eficiência da combustão na liberação de energia. Os dados obtidos neste estudo sugerem que o lodo ativado avaliado possui poder calorífico próximo à madeira, tornando viável o seu uso como combustível para recuperação de energia (RULKENS, 2008), podendo ser aplicado para a secagem do biossólido dentro da própria estação de tratamento de esgoto.

5.1.1 Metais pesados

Os resultados obtidos nas análises dos metais pesados presentes no lodo ativado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) mostraram que esse resíduo se enquadra nos limites estabelecidos pela legislação nacional e internacional (Tabela 4).

Tabela 4. Concentração de substâncias inorgânicas no lodo de esgoto doméstico da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria/RS (faixa de variação em mg do poluente por kg de lodo, em peso seco) e limites máximos estabelecidos segundo CONAMA e EPA dos EUA. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.

Metal pesado	Concentração no lodo da ETE Santa Maria (RS)	Limites máximos do CONAMA*	Limites da U.S.EPA **
Arsênio	<1	41	75
Bário	677	1.300	1300
Cádmio	<0,1	39	85
Chumbo	47	300	840
Cobre	162	1.500	4.300
Cromo	69	1000	300
Mercúrio	1,75	17	57
Molibdênio	<1	50	75
Níquel	25	420	420
Selênio	<1	100	100
Zinco	597	2.800	7.500

*Limites segundo Resolução do CONAMA 375 **Limites da U.S.EPA (Environmental Protection Agency) – 40 CFR Part 503

De acordo com (BRASIL, 2006) o lodo ativado avaliado neste estudo pode ser empregado na agricultura como fertilizante agrícola, desde que respeitado seus limites de uso e as normas técnicas de aplicação às culturas (TRANNNIN et al., 2008). Os baixos teores de metais pesados possivelmente estão associados ao fato do tratamento neste município ser majoritariamente doméstico e receber pouca descarga industrial, principal fonte de metais pesados nos lodos de esgoto (SILVA et al., 2007). Segundo Rocha; Shirota (1999), o setor industrial influencia direta ou indiretamente os teores de metais pesados nos lodos de esgoto, pois esses elementos participam em diferentes fases do processo de produção de inúmeras indústrias nas diversas áreas econômicas. Entretanto, é importante considerar que,

mesmo o lodo avaliado atendendo a legislação vigente, tal condição não o isenta da possibilidade de causar danos ao ambiente quando seu uso é cumulativo.

A aplicação sucessiva de lodo de esgoto no solo é o aspecto que causa maior preocupação com relação à segurança ambiental. Os metais pesados podem expressar seu potencial poluente diretamente nos organismos do solo, pela disponibilidade às plantas em níveis fitotóxicos, além da possibilidade de transferência para a cadeia alimentar através das próprias plantas ou pela contaminação das águas de superfície e subsuperfície (GONÇALVES Jr. et al., 2000). É importante observar, no entanto, que geralmente o termo metal pesado, está relacionado com toxidez e/ou poluição. Desta maneira, é recomendável que se diferenciem os elementos essenciais, como cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), boro (B) e molibdênio (Mo), daqueles não essenciais como chumbo (Pb), cádmio (Cd), prata (Hg) e arsênio (As), ainda que todos sejam classificados como metais pesados e potencialmente tóxicos (OLIVEIRA et al., 2009).

O teor de arsênio (As) presente no lodo ativado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) atendeu a legislação nacional e internacional, estando abaixo do intervalo relatado para lodos de esgotos (3 a 30 mg kg⁻¹) (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 1992). O As é empregado principalmente na produção de conservantes de couros e de madeiras (PACHECO, 2005), sendo que, mesmo em doses muito baixas, pode afetar a saúde de plantas e animais, inclusive do homem, por atuar sobre a inativação de diversas enzimas biológicas. Como a cidade de Santa Maria (RS) não se destaca como pólo de curtumes e celulósico, esse baixo teor de As está de acordo com a expectativa para a localidade avaliada.

O bário (Ba) é um metal alcalino terroso que ocorre principalmente nas formas de sulfato (BaSO₄) e carbonato de bário (BaCO₃). Este elemento também está presente em pequenas quantidades em rochas ígneas (USEPA, 2005) e no solo tem variação na faixa de 19 a 2368 mg kg⁻¹, podendo ser mobilizado em diferentes condições (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 1992). O teor de Ba no biossólido avaliado atendeu as exigências do CONAMA e da U.S.EPA. No entanto, vale destacar que o Ba, assim como o cádmio e chumbo não são essenciais aos seres vivos do ponto de vista biológico. Esses elementos são considerados muito tóxicos quando estão presentes no ambiente, mesmo em baixas concentrações, porque são acumulativos nos organismos dos homens e dos animais (CUNHA; MACHADO, 2004).

A faixa de variação no teor de cádmio (Cd) para lodos de esgoto digeridos aerobicamente fica entre 3 a 3410 mg kg⁻¹ (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 1992). O bio sólido analisado apresentou concentração abaixo deste intervalo, portanto, os riscos deste lodo de esgoto causar toxidez por Cd são reduzidos. O Cd é considerado um dos metais mais ecotóxicos, apresentando importantes efeitos adversos sobre a atividade biológica do solo, metabolismo de plantas e a saúde dos seres humanos e dos animais (DIAS et al., 2001).

O chumbo (Pb) apresentou teor dentro da faixa esperada para lodos de esgotos (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 1992) a qual fica entre 29 a 3600 mg kg⁻¹. O tempo de permanência deste metal no lodo de esgoto ou no solo é longo, entretanto, suas características de solubilidade, mobilidade e, mesmo biodisponibilidade, são baixas. Apesar disto, aplicações sucessivas de lodo de esgoto podem causar risco à saúde humana, principalmente em áreas próximas a parques industriais e nas grandes cidades, onde há grande número de carros movidos a combustíveis ricos em Pb (MOREIRA; MOREIRA, 2004).

O teor de cromo (Cr) neste estudo esteve abaixo do relatado por outros trabalhos que avaliaram lodos ativados (VON SPERLING; FRÓES, 2000; ARAÚJO et al., 2009) e, possivelmente, estão associados ao pequeno despejo de efluente industrial na cidade de Santa Maria (RS). O Cr pode ser encontrado em diferentes graus de oxidação, sendo que na forma de Cr⁺³ tem importante papel no metabolismo de glicose, lipídeos e proteínas (MATOS et al., 2008). No entanto, quando oxidado na forma de Cr⁺⁶ e, em altas concentrações, torna-se carcinogênico e mutagênico para animais e humanos (MELO et al., 2007).

O cobre (Cu) apresentou teor de 162 mgkg⁻¹, estando abaixo dos limites máximos estabelecidos pela legislação, além de situar-se na faixa de 50 a 8.000 mg kg⁻¹ de Cu, a qual caracteriza lodos de esgoto, em geral. O mesmo ocorreu com o zinco (Zn), níquel (Ni), selênio (Se) e molibdênio (Mo), entretanto, o Se e Mo apresentaram valores ainda menores do que os característicos para lodos de esgoto (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 1992). Apesar do Cu, Zn e Ni serem considerados micronutrientes, esses elementos também podem causar toxidez quando disponíveis em quantidades excessivas. Os problemas com esses metais tendem a ser mais crítico em centros industriais que promovem atividades de galvanoplastia, ou seja, recobrimento de proteção de metais com outros metais mais nobres (galvanização, cobreamento e niquelação) (MALTA, 2001).

O zinco (Zn) tem papel relevante como componente catalítico e estrutural em enzimas de humanos, animais, plantas e de microrganismos do lodo ativado (PAMUKOGLU; KARGI, 2007). A fonte abundante deste elemento são os minerais constituintes das rochas. Nos solos, o teor de Zn está diretamente associado ao material de origem, apresentando valores na faixa de 10 a 300 mg kg⁻¹, sendo o valor médio de 50 mg kg⁻¹. Apesar disto, o teor de Zn na solução do solo é baixo devido às inúmeras reações com complexantes e quelantes, em especial, a matéria orgânica. Dentro desta ótica, o biossólido avaliado, mesmo que apresentando pequena concentração deste nutriente pode ser entendido como uma fonte e/ou dreno deste elemento (OLIVEIRA et al., 2003), dependendo das condições ambientais a que está exposto. Os teores de Zn, Cu e Ni encontrados neste estudo estão acima da média relatada por MACHADO (2001) que analisou a composição média do lodo gerado nas ETEs do Brasil que empregam tratamento aeróbio.

5.2 Crescimento e adensamento micelial de isolados fúngicos em biossólido autoclavado

Dentre os 12 isolados fúngicos avaliados neste experimento apenas os isolados UFSMFPM3, UFSMFPM6 e o UFSMFPM8 apresentaram capacidade de colonizar o biossólido autoclavado (Tabela 5). Com relação aos demais isolados fúngicos não foi possível observar, através de identificação visual, hifas fúngicas e presença de micélio sobre o resíduo de lodo ativado previamente autoclavado.

Quanto ao adensamento micelial nenhum dos isolados fúngicos apresentou micélio fortemente adensado e presença de hifas rizóides. Os isolados que apresentaram melhor resposta de crescimento e adensamento micelial foram o UFSMFPM6 e UFSMFPM8, situando-se como micélio medianamente adensado. O isolado UFSMFPM3 apresentou micélio pouco adensado. Segundo Marino et al. (2006), os diferentes graus de adensamento das hifas fúngicas estão relacionados às características químicas do meio de cultivo, constituição gênica do isolado e espécie fúngica. Além disto, esta capacidade de crescimento e adensamento micelial pode estar relacionada à capacidade do isolado em produzir enzimas (ABREU et al., 2007) capazes de atuar sobre compostos recalcitrantes (ANDRADE et al., 2006) presentes no biossólido da ETE Santa Maria (RS).

Tabela 5. Adensamento micelial de isolados fúngicos em biossólido autoclavado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS). Santa Maria, RS, UFSM, 2013.

Isolado não identificado	Origem	Adensamento micelial
UFSMFPM1	SM/RS*	-
UFSMFPM2	SM/RS*	-
UFSMFPM3	SM/RS*	+
UFSMFPM4	SM/RS*	-
UFSMFPM5	SM/RS*	-
UFSMFPM6	SM/RS*	++
UFSMFPM7	SM/RS*	-
UFSMFPM8	SM/RS*	++
UFSMFPM9	SM/RS*	-
UFSMFPM10	SM/RS*	-
UFSMFPM11	SM/RS*	-
UFSMFPM12	SM/RS*	-

(-) ausência de micélio (+) micélio pouco adensado, presença de hifas espaçadas e finas (++) micélio medianamente adensado (+++) micélio fortemente adensado. Adaptado de Silva et al. (2010); SM/RS* - Santa Maria/Rio Grande do Sul.

Os isolados UFSMFPM6 e UFSMFPM8 apresentaram crescimento micelial cotonoso, o qual é caracterizado pela presença de micélio semelhante ao algodão fracamente adensado (STANIER et al., 1969). A formação deste tipo de micélio pode estar associada à liberação de substâncias que estimulem o crescimento micelial, tais como polissacarídeos. Esses compostos podem facilitar a adesão das hifas ao substrato, resultando em maior resistência do isolado à desidratação, além de servir como fonte de carbono para o metabolismo fúngico (GUTIERREZ et al., 1995).

Neste estudo, foi observado que os fungos avaliados aumentaram a densidade micelial durante o decorrer do período de incubação. Griffin (1994) estudando isolados fúngicos observou comportamento semelhante. A maior resposta de adensamento micelial ocorreu nos isolados fúngicos UFSMFPM6 e UFSMFPM8, seguido do isolado fúngico UFSMFPM3. Este último, mesmo ao final de 60 dias de incubação não foi capaz de colonizar todo o substrato de lodo ativado autoclavado apresentando micélio pouco adensado e presença de hifas espaçadas e finas (Figura 4). O isolado fúngico UFSMFPM5 não foi capaz de crescer sobre

resíduo de lodo ativado autoclavado (Figura 4a). Já o isolado fúngico UFSMFPM6 apresentou habilidade em crescer no bioossólido autoclavado gerando um micélio cottonoso sobre este resíduo (Figura 4b).

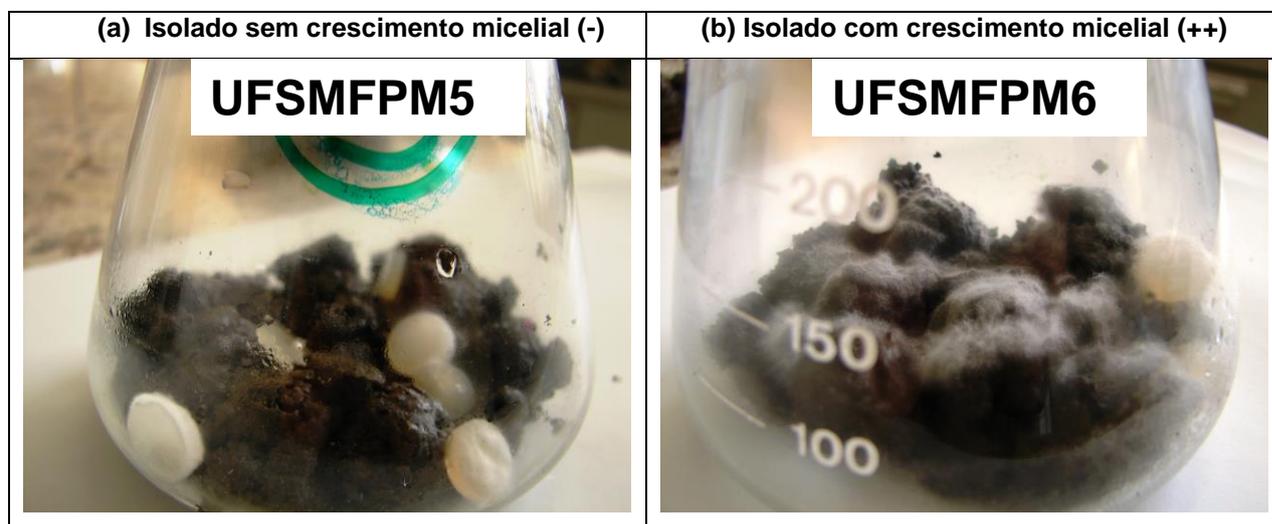


Figura 4. Crescimento micelial de isolados fúngicos sobre resíduo de lodo ativado autoclavado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) após período de 60 dias de incubação. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.

Esses resultados subsidiaram os experimentos respirométricos, visto que a presença de crescimento micelial pode ser entendida como um indicativo da capacidade do isolado fúngico em atuar sobre os componentes orgânicos presentes no lodo ativado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS), mesmo que autoclavado. Dos três isolados fúngicos que apresentaram resposta positiva foram selecionados apenas os isolados UFSMFPM6 e UFSMFPM8, pois colonizaram completamente o substrato e apresentaram micélio medianamente adensado. Esses dois isolados fúngicos foram utilizados para compor o experimento de triagem de fungos lignocelulolíticos e o estudo respirométrico II, onde foram avaliados sob diferentes condições ambientais de umidade, temperatura e pH juntamente com isolados fúngicos já reconhecidamente lignocelulolíticos.

5.2.1 Caracterização química do bioossólido autoclavado

Os parâmetros químicos inorgânicos do bioossólido foram avaliados para conhecer as possíveis alterações decorrentes da autoclavagem do substrato (Tabela 6). Pode-se observar que houve diferença significativa entre os dois tratamentos

avaliados quando foi aplicado o teste de médias de Tukey a 5% de probabilidade de erro. A partir desta análise, constatou-se que o processo de autoclavagem alterou significativamente os parâmetros: potencial hidrogeniônico (pH), os teores de íons cobre (Cu^{+2}), zinco (Zn^{+2}), cálcio (Ca^{+2}) e magnésio (Mg^{+2}), a capacidade de troca de cátions efetiva (CTC_{ef}) e o teor de argila. Os teores de matéria orgânica (MO), íons potássio (K^+), sódio (Na^+), fósforo (P), e boro (B) não foram alterados significativamente.

Tabela 6. Características químicas do lodo ativado natural (não autoclavado) e do lodo ativado autoclavado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS). Santa Maria, RS, UFSM, 2013.

Lodo ativado	pH (H_2O)	%MO	%Argila	Cu^{+2}	Zn^{+2}	B	P	Ca^{+2}	Mg^{+2}	K^+	Na^+	Al^{+3}	H+Al	CTC_{ef}
				mg/dm ³				cmol _c kg ⁻¹						
Natural	6,6b [*]	21,8a	30,3b	1,95b	40,5b	0,6a	76,1a	25,0b	5,43b	1,207a	0,034a	0,1a	4,01b	34,66b
Autoclavado	7,0a	21,4a	33,1a	2,20a	41,5a	0,6a	75,9a	32,1a	6,23a	1,366a	0,143a	0,0a	5,00a	40,00a

*Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro.

O processo de autoclavagem empregado neste estudo pode ter conduzido ao surgimento de novos sítios funcionais da matéria orgânica do lodo de esgoto. Ao elevar a temperatura possivelmente ocorreu o rompimento das pontes formadas pelos cátions, deixando expostos os grupos funcionais com carga residual negativa (STEVENSON, 1994). Estes grupos podem ter reagido com os íons H^+ presentes no meio, neutralizando-os e, por consequência elevando o pH de 6,6 a 7,0 após a autoclavagem (Tabela 6). Outra hipótese que pode ser levantada é decorrente da elevação dos teores de cátions, pois há correlação positiva entre o pH do meio e o grau de saturação por bases (RAIJ et al., 2001).

Os teores de Ca^{+2} e Mg^{+2} se elevaram após o biossólido ser submetido à autoclavagem. Este resultado pode estar associado ao fato destes cátions desempenharem importante papel no mecanismo de floculação (BRUUS et al., 1992). O processo de autoclavagem pode ter solubilizado estes cátions de diferentes pontos da matriz do lodo, incluindo ligações com exopolímeros, ligações com precipitados inorgânicos, partículas orgânicas, proteínas e substâncias húmicas (DEORSOLA, 2006). A perda de estruturação do lodo decorrente da autoclavagem

pode conduzir à efeitos negativos na sedimentação e no desaguamento, o que desfavorece os processos de destinação final do lodo (FERNANDES et al., 1996).

Ao submeter o lodo ativado da ETE Santa Maria (RS) à autoclavagem pode ter ocorrido o favorecimento da ruptura de sua estruturação, tanto em nível microestrutural como macroestrutural. Segundo Hermoso et al. (2006) os lodos ativados são formados por dois níveis estruturais quanto ao tamanho dos flocos, compondo-se de micro e macroestrutura. A microestrutura é representada pelos processos de adesão microbiana e biofloculação, enquanto a macroestrutura é constituída pelos organismos filamentosos, os quais formam uma rede dentro dos flocos sobre a qual as bactérias se aderem (VON SPERLING, 2008).

Entre as diferentes forças de ligação que unem esses dois níveis estruturais, destaca-se o papel dos cátions divalentes (Ca^{+2} e Mg^{+2}) como ligantes de biopolímeros e macroestruturas. Segundo HIGGINS; NOVAK (1997), os cátions podem formar pontes entre as extremidades negativas dos biopolímeros extracelulares, em especial das proteínas. Ao estudarem a estrutura físico-química dos flocos de lodo ativado, Urbain et al. (1993) observaram que a formação destes resulta da agregação de vários elementos, dentre os quais se destacam: bactérias, partículas inorgânicas e exopolímeros. De modo geral, os autores encontraram maior afinidade do Ca^{+2} pelas proteínas, enquanto o Mg^{+2} apresentou afinidade pelo ácido desoxirribonucléico. O aumento nos teores cátions no lodo de esgoto da ETE Santa Maria pode estar associado ao fato destes íons terem sido liberados das macro e microestruturas presentes no biossólido avaliado (Tabela 6).

Os teores de cobre (Cu) e zinco (Zn) também foram alterados pela autoclavagem, possivelmente por desestruturar a agregação. Esses cátions desempenham papel semelhante ao dos íons Ca^{+2} e Mg^{+2} na formação estrutural do lodo ativado, porém sua força de ligação é superior. Deorsola (2006) observou que a substituição do Ca^{+2} por Cu^{+2} elevou a estabilidade estrutural do floco de lodo ativado, no entanto, o autor destacou a seletividade desses íons ao fazerem ligações preferenciais com grupamentos carboxílicos de alginatos. A solubilidade destes cátions metálicos (Cu^{+2} e Zn^{+2}) é reduzida pela formação de complexos com a MO, entretanto, alterações do pH podem alterar a solubilidade e disponibilidade destes cátions. A elevação da temperatura possivelmente desestruturou os flocos expondo os ligantes macroestruturais, o que pode ter elevado as concentrações de Cu e Zn observadas após a autoclavagem.

Foi possível observar ocorrência de gradiente textural entre os lodos avaliados neste estudo. Com a elevação da temperatura de autoclavagem, pode ter ocorrido diminuição no tamanho médio das partículas de lodo, indicando o rompimento de grandes estruturas flocosas e das paredes celulares, o que segundo França (2002), explica a diminuição do tamanho dos flocos. Processo semelhante pode ter ocorrido com o lodo analisado neste estudo e, por isso, a fração argila aumentou de 30 para 33 (Tabela 6).

Após o fracionamento químico das fibras lignocelulósicas em detergente neutro e ácido, observou-se alterações nas frações orgânicas decorrentes do tratamento térmico aplicado ao lodo de esgoto da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS). O teor de hemicelulose apresentou diferença significativa quando foi aplicado tratamento térmico de autoclavagem. Já os teores de matéria orgânica (MO), celulose e lignina não foram significativos quando realizado o teste de médias de Tukey a 5% de probabilidade de erro (Tabela 7).

Tabela 7. Características químicas da fração orgânica do lodo ativado natural (não autoclavado) e do lodo ativado autoclavado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS). Santa Maria, RS, UFSM, 2013.

Lodo ativado	%MO	%Hemicelulose	%Celulose	%Lignina
Natural	26,91a*	16,51b	19,52a	12,84a
Autoclavado	26,64a	19,66a	19,98a	11,80a

*Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro.

O processo de autoclavagem aplicado ao lodo de esgoto da ETE Santa Maria (RS) parece ter atuado de forma semelhante à termorretificação. Esta técnica visa alterar os componentes fundamentais dos resíduos lignocelulósicos. Possivelmente as alterações ocorridas na matriz lignocelulósica do lodo ativado avaliado estejam associadas ao aumento da temperatura e pressão decorrentes da autoclavagem.

Apesar dos resíduos lignocelulósicos e do biossólido apresentarem constituições químicas diferenciadas, ambos possuem em sua constituição química as fibras hemicelulose, celulose e lignina. Brito et al. (2006) ao estudarem a termorretificação ou retificação térmica observaram que a hemicelulose é a fração mais sensível à ação do calor. Neste estudo, também se observou este comportamento à medida que apenas a hemicelulose apresentou diferença significativa (Tabela 7).

A fração hemicelulose do biossólido foi alterada pelo tratamento em autoclave, aumentando o seu teor de 16,5 a 19,66% após este processo. De acordo com Modes (2010), a partir de 55°C de aquecimento já se inicia o amolecimento da fibra de hemicelulose e a estrutura natural da lignina começa a ser alterada. Próximo aos 70°C ocorre retração da matriz lignocelulósica, enquanto aos 110°C a lignina começa lentamente a perder peso (SCHAFFER, 1973). Aos 120°C, mesma temperatura alcançada pelo processo de autoclavagem, o teor de alfa celulose começa a aumentar e a lignina a amolecer (SCHAFFER, 1973; MODES, 2010).

De acordo com Poncsak et al. (2006), a hemicelulose degrada primeiro em virtude de seu baixo peso molecular e estrutura amorfa (menos densa), o que facilita a sua mais rápida degradação quando comparada com outros componentes presentes nos resíduos lignocelulósicos. O efeito térmico sobre esta fração resulta em perda direta da resistência, o que facilita a absorção de água e, conseqüentemente sua degradação (SEVERO; TOMASELLI, 2003).

Os teores de celulose não apresentaram alterações significativas após autoclavagem do biossólido da ETE Santa Maria (RS). Talvez isto esteja relacionado ao fato desta fração somente apresentar alterações significativas após os 220°C (MODES, 2010), temperatura esta que não foi empregada neste estudo. Do mesmo modo pode ter ocorrido com a lignina, a qual pode sofrer pequenas alterações antes mesmo que a celulose. No entanto, esta fração é considerada mais estável por exigir maior tempo de exposição ao calor e temperaturas próximas a torrefação dos constituintes lignocelulósicos (200 a 280°C) para que ocorram modificações significativas em sua estrutura (MODES, 2010).

Ao avaliar a capacidade de diferentes isolados fúngicos em degradar resíduos lignocelulósicos oriundos de *Eucalyptus* sp., Negrão (2011) observou que os controles experimentais sofreram perdas de massa durante as avaliações mensais, apesar de não terem sido submetidos a nenhum tipo de degradação biológica e/ou química. Com base nas análises químicas dos resíduos lignocelulósicos de *Eucalyptus* sp., o autor observou que as perdas foram causadas pelo processo da autoclavagem. Nesse tratamento, os constituintes estruturais (celulose, hemicelulose e lignina), e os não estruturais (extrativos), podem ter sofrido algum efeito da alta temperatura, nas suas respectivas estruturas moleculares. Resultados similares quanto à volatilização de extrativos foram observados por Guilmo et al. (1993), onde

a esterilização de compostos lignocelulósicos promoveu decréscimo dos teores de extrativos de *E. saligna*.

A análise da fração orgânica do biossólido subsidiou a escolha do tipo de substrato para os experimentos de avaliação do potencial de biodegradação dos isolados fúngicos. Desta maneira, optou-se por fazer os testes respirométricos utilizando lodo ativado não autoclavado, visto que alterações podem ocorrer na estrutura física, química e mecânica dos biossólidos submetidos à autoclavagem, o que possivelmente não se aproxima da real condição que eles se encontram nos leitos de secagem da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS).

5.3 Biodegradação da matéria orgânica de lodo ativado por fungos lignocelulolíticos

5.3.1 Respirometria I: screening de fungos lignocelulolíticos

Através do experimento respirométrico de triagem dos fungos lignocelulolíticos em lodo ativado natural, observou-se diferença significativa no desempenho dos isolados fúngicos, destacando-se, na biodegradação, os isolados UFSMFPM8 e UFSMFPM6. Estes isolados alcançaram as maiores taxas cumulativas de C-CO₂ mg kg⁻¹ liberado do biossólido no período de 66 dias de avaliação. Os isolados de *Fomes fasciatus*, *Agaricus bisporus*, *Schizophyllum commune* e *Trametes versicolor* (Figura 5) também apresentaram resposta significativa com médias acima do controle.

Os isolados de *Agaricus blazei*, *Skeletocutis diluta*, *Pleurotus citrinopileatus*, *Pycnoporus sanguineus*, *Ceriporiopsis lowei*, *Pleurotus flabeliforme*, *Pleurotus salmoneostramineus* e *Hericiium erinaceus* não diferiram significativamente do tratamento controle. Já os demais isolados avaliados não foram eficientes na biodegradação do biossólido da ETE Santa Maria (RS), uma vez que apresentaram média inferior a do tratamento controle.

As duas melhores respostas à biodegradação do lodo de esgoto da ETE Santa Maria (RS) alcançaram os valores médios de 2924,33 e 2911,34 de C-CO₂ mg kg⁻¹ liberado do biossólido e foram obtidas pelos isolados UFSMFPM8 e UFSMFPM6, respectivamente. Possivelmente, esses isolados sejam capazes de secretar complexos enzimáticos inespecíficos (POINTING, 2001), conferindo-lhes

vantagens competitivas em relação aos demais fungos avaliados. Esta inespecificidade pelo substrato é observada em fungos causadores da podridão branca, permitindo-os atuar sobre uma ampla variedade de poluentes orgânicos (lodo de esgoto e/ou xenobióticos) ou mesmo a misturas deles (ARANTES; MILAGRES, 2009).

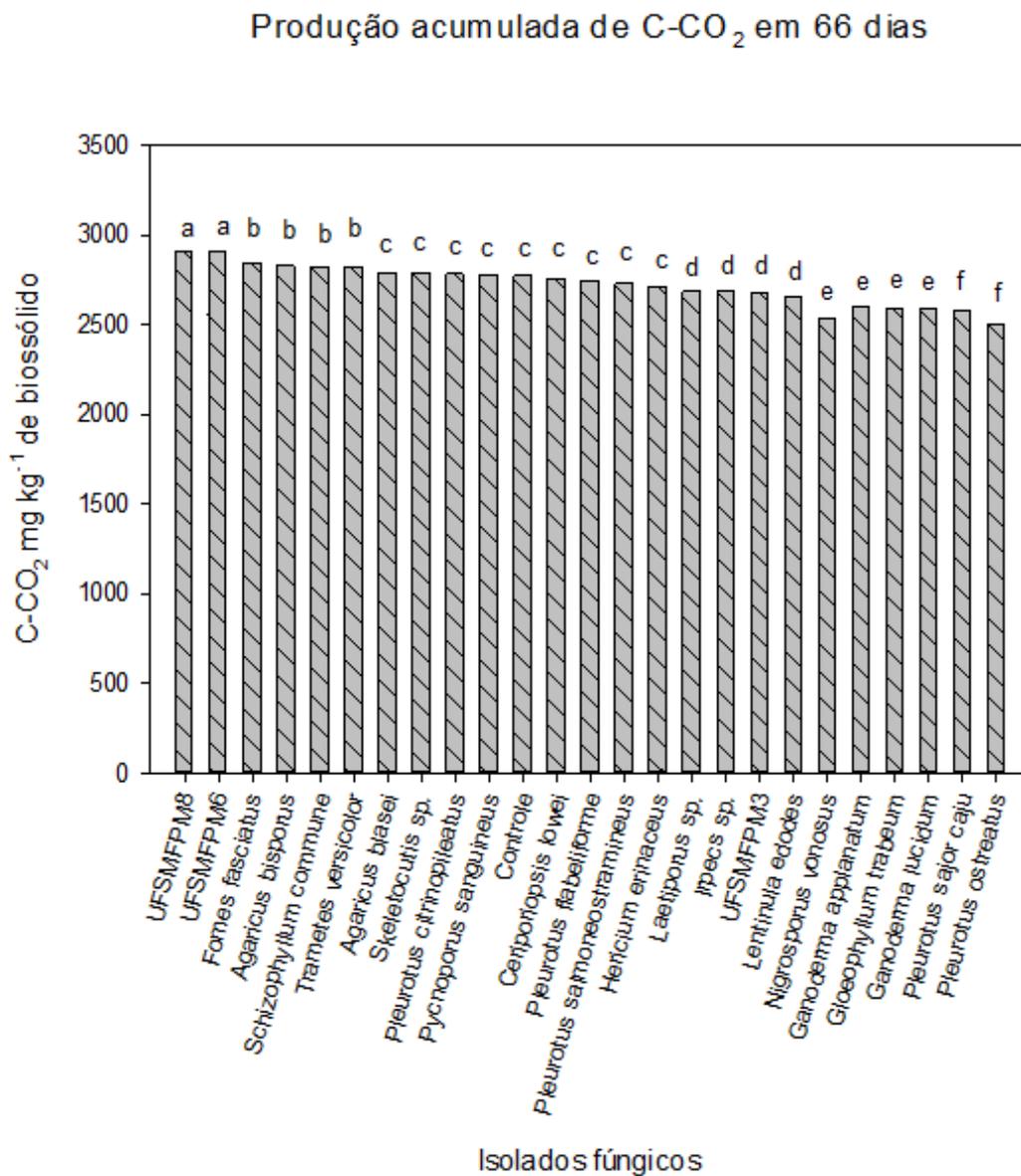


Figura 5. Taxa respirométrica acumulada de 24 isolados fúngicos após 66 dias de incubação em biossólido proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS), com umidade ajustada para 80% e temperatura de 22°C. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.

A segunda melhor resposta à biodegradação do lodo ativado da ETE Santa Maria (RS) incluiu apenas isolados de fungos da podridão branca. Entre esses se encontra o isolado de *Agaricus bisporus*, o qual possui habilidade em promover a fermentação no estado sólido. Esse processo ocorre através da decomposição aeróbia de palhas e/ou capins e suplementos nitrogenados, de origem orgânica e/ou inorgânica. Apesar do *A. bisporus* possuir essa habilidade metabólica, a mesma é dependente do sinergismo de diferentes organismos, incluindo bactérias e fungos termófilos, os quais em conjunto com os fatores ambientais propiciam o desenvolvimento do cogumelo propriamente dito (ADAMS; FROSTICK, 2008).

O fato do lodo ativado usado neste experimento não ter sido autoclavado pode ter favorecido esta interação sinérgica do isolado de *A. bisporus* com a microbiota autóctone do lodo ativado, já que este fungo é considerado um decompositor secundário de compostos lignocelulósicos complexos, e, por isso, necessita que outros microrganismos iniciem a degradação do substrato anteriormente ao seu desenvolvimento (HERRERA, 2001). Segundo Arantes; Milagres (2009) a capacidade degradativa varia grandemente com a espécie fúngica e também entre isolados de uma mesma espécie. Essa variabilidade no potencial de degradação está associada ao patrimônio genético do fungo, bem como, a fatores extrínsecos, tais como: a relação carbono/nitrogênio dos resíduos lignocelulósicos (ALONSO et al., 2007) e/ou do bio sólido (ANDRADE et al., 2006), os níveis de oxigênio e as condições nutricionais do meio de cultivo.

O isolado de *Fomes fasciatus* se mostrou eficiente na degradação do lodo ativado da ETE Santa Maria (RS). Este fungo possui ampla distribuição na América Central e do Sul, além do sudeste do EUA. Nas florestas temperadas dos EUA desempenha importante papel na ciclagem dos nutrientes, em especial, atuando sobre a degradação das fibras lignocelulósicas da madeira de carvalho (*Quercus* sp.) e de noqueiras (*Carya* sp.) (MCCORMICK et al. 2013).

MCCORMICK et al. (2012), avaliando o crescimento micelial deste fungo em ágar extrato de malte, observou que a temperatura mais apropriada para seu crescimento está próxima aos 28°C. Neste experimento respirométrico foi mantida a temperatura constante em 22°C, o que indica que o isolado de *F. fasciatus* ainda pode expressar maior capacidade degradativa com o aumento da temperatura. Miranda et al. (2010) avaliando a capacidade de vinte fungos basidiomicetos observaram que isolados de *F. fasciatus* foram hábeis em descolorir entre 92 a 94%

do corante presente no efluente têxtil a ser tratado. Os autores atribuíram esta capacidade à presença da enzima lacase. Essa enzima apresenta baixa especificidade por substratos, desta maneira, permite seu uso sobre uma vasta gama de compostos orgânicos, fato que a torna uma enzima versátil e com potencial para ser utilizada em várias aplicações biotecnológicas industriais (COUTO; TOCA-HERRERA, 2007).

Outro isolado que apresentou resposta significativa à degradação do lodo ativado foi o de *Schizophyllum commune*. Este cogumelo é amplamente distribuído no mundo ocorrendo em todos os continentes, exceto na Antártida. O fato desta espécie apresentar capacidade degradativa pode estar relacionado a sua grande resistência às condições desfavoráveis do meio, bem como, a sua capacidade em colonizar sistemas não estéreis (PUTZKE; PUTZKE, 2002) como os biossólidos. Abdullah et al. (2000), testando a capacidade de diferentes fungos causadores da podridão branca, observaram que *Schizophyllum commune* possui alta capacidade em degradar compostos recalcitrantes devido seu complexo sistema enzimático composto por enzimas lignolíticas.

Trametes versicolor é um dos fungos da podridão branca que apresenta alta capacidade de atuar sobre compostos recalcitrantes devido à capacidade em produzir lacase, manganês peroxidase e lenhina peroxidase. Esta habilidade tem sido explorada para degradar corantes têxteis (LIBRA, 2003), resíduos celulósicos (SELVAM et al., 2002), fenóis, clorofenóis (PALLERLA; CHAMBERS, 1998) e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (FONT et al., 2003). Além destas enzimas, este organismo pode apresentar enzimas responsáveis pela degradação da celulose e das polioses (hemicelulose), as quais são hidrolases que apresentam certa especificidade pelo respectivo substrato. Já as enzimas envolvidas na degradação da lignina são oxidases e, em geral, são pouco específicas (KIRK; CHAN, 1981).

Dentre os fatores abióticos que interferem na atividade fúngica durante a degradação de biossólidos, destacam-se a temperatura (ALCÂNTARA, 2007) e a presença de água (KIEHL, 1985). No entanto, no experimento respirométrico realizado, possivelmente estes fatores não foram limitantes, uma vez que as condições foram padronizadas e controladas em 22°C e 80% de umidade. Apesar disto, não foi possível estimar e controlar a interação dos isolados fúngicos com a comunidade microbiana do biossólido, visto que os resultados mostraram que a

autoclavagem do lodo podia ocasionar alterações significativas na estrutura física, e nas propriedades químicas do lodo ativado.

Esta interação pode ter papel importante à medida que muitos basidiomicetos causadores da podridão branca degradam a lignina através de um processo denominado cometabolismo da lignina, visto que necessitam de uma fonte primária de energia para que isso ocorra (PUTZKE; PUTZKE, 2002). A partir da despolimerização da hemicelulose e da celulose ocorre a liberação de moléculas solúveis susceptíveis ao metabolismo intracelular que culmina na geração de energia para a célula e liberação de CO₂ e água (mineralização). As enzimas lignolíticas são produzidas pelos fungos de degradação branca geralmente durante o metabolismo secundário (KIRK; CULLEN, 1998). Neste caso, não ocorre um processo hidrolítico e, portanto, não há liberação de unidades monoméricas no meio. Por isso, esta via metabólica não representa uma fonte primária de energia e de carbono para o crescimento fúngico, apesar de ela ser potencialmente capaz de prover energia para o crescimento celular (BUSWELL, 1991).

5.3.2 Respirometria II: diferentes condições ambientais

5.3.2.1 Respirometria sob diferentes condições de temperatura

A análise dos resultados respirométricos nas temperaturas 24°C, 28°C e 32°C mostraram diferença significativa no desempenho dos isolados fúngicos, destacando-se, na biodegradação, os tratamentos submetidos à temperatura de 32°C. A melhor resposta foi obtida com *Schizophyllum commune*, o qual resultou na maior taxa cumulativa de liberação de C-CO₂ mg kg⁻¹ do bio sólido alcançando o valor de 11448,70. Também foram encontradas respostas significativas com o isolado de *Trametes versicolor* seguido do isolado de *Fomes fasciatus*, ambos a 32°C. Já as menores taxas cumulativas de C-CO₂ mg kg⁻¹ liberada do bio sólido foram verificadas na temperatura de 24°C (Tabela 8).

Possivelmente, esses resultados estão associados ao fato da temperatura exercer dois importantes efeitos sobre a comunidade de organismos degradadores do lodo de esgoto, ao afetar a (1) taxa de difusão de substratos e nutrientes na célula e a (2) taxa da atividade enzimática. As taxas de difusão e de atividade enzimática aumentam com a elevação da temperatura. Isto ocorre porque mais

moléculas adquirem energia o suficiente para atingir o estado de transição. Em reações catalisadas por enzimas, a velocidade é acelerada pelo aumento da temperatura até atingir uma temperatura ótima na qual a enzima opera com a máxima eficiência. Como as enzimas são proteínas, temperaturas muito elevadas podem causar a desnaturação protéica e consequente inativação da enzima (BAPTISTA et al., 2012).

Tabela 8. Taxa de degradação e taxa cumulativa de C-CO₂ mg kg⁻¹ liberado do biossólido da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) pelos isolados fúngicos UFSMFPM6, UFSMFPM8, *Fomes fasciatus*, *Agaricus bisporus*, *Schizophyllum commune* e *Trametes versicolor* no período de 100 dias quando submetidos às temperaturas de 24°C, 28°C e 32°C sob umidade ajustada para 80%. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.

Tratamento	Taxa de degradação (%)	Taxa cumulativa (C-CO ₂ mg kg ⁻¹)
24°C		
Controle	54,62	8519,81j
UFSMFPM6	54,76	8539,09j
UFSMFPM8	53,82	8246,72k
<i>Fomes fasciatus</i>	59,78	8075,75l
<i>Agaricus bisporus</i>	57,53	7991,72l
<i>Schizophyllum commune</i>	59,45	7979,62l
<i>Trametes versicolor</i>	58,69	7968,65l
28°C		
Controle	57,05	8907,72i
UFSMFPM6	60,56	9398,59g
UFSMFPM8	54,31	8511,22j
<i>Fomes fasciatus</i>	62,89	8805,88i
<i>Agaricus bisporus</i>	63,25	9345,09g
<i>Schizophyllum commune</i>	63,95	9540,59f
<i>Trametes versicolor</i>	63,85	9032,60h
32°C		
Controle	56,49	8892,60i
UFSMFPM6	62,47	9746,70e
UFSMFPM8	63,11	10088,37d
<i>Fomes fasciatus</i>	61,54	10390,93c
<i>Agaricus bisporus</i>	62,29	10054,11d
<i>Schizophyllum commune</i>	65,71	11448,70a
<i>Trametes versicolor</i>	64,74	10658,47b

Os dados obtidos neste estudo corroboram os resultados relatados por Chen et al. (2000), pois na temperatura de 32°C ocorreram as maiores taxas cumulativas

de C-CO₂ mg kg⁻¹ liberado do biossólido. De acordo com este autor a taxa de liberação de C-CO₂ mg kg⁻¹ pela respiração de fungos degradadores de lignocelulose aumenta com a elevação da temperatura, alcançado o máximo entre 30 a 40° C. Apesar de a biodegradação ocorrer num amplo espectro de temperaturas, as maiores taxas de degradação são observadas na faixa entre 25 a 35°C (HAIDER, 1999). Estudos desenvolvidos por Tremier et al. (2005), em lodos ativados, também encontraram diferenças significativas nos parâmetros de taxa de crescimento dos microrganismos, taxa de hidrólise e taxa de degradação do lodo ativado à medida que a temperatura foi elevada.

O isolado fúngico de *Schizophyllum commune* apresentou maior taxa de degradação do biossólido alcançando 65,71%. Este resultado pode ser considerado interessante, pois supera o padrão teórico da hidrólise ácida, onde se adota um valor entre 50 a 60% de conversão da celulose e hemicelulose (SOARES; ROSSELL, 2006; OGEDA et al., 2010). Os lodos de esgoto apresentam variações na composição química em função de sua origem (doméstico e/ou industrial), época do ano, processo de tratamento empregado, estabilização e condicionamento final adotado (ALBIACH et al., 2001). Desta maneira, as frações orgânicas do biossólido são encontradas com diferentes graus de assimilabilidade e persistência (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), fato este que dificulta sua biodegradação no ambiente.

Rodriguez et al. (2011), utilizando *Trametes versicolor* para a degradação de fármacos em efluentes industriais, obtiveram resultados de completa degradação para metade dos fármacos avaliados. Possivelmente, os resultados obtidos no presente estudo não alcançaram taxas de degradação próximas a de Rodriguez et al. (2011), pois a diversidade bioquímica dos componentes orgânicos do lodo é maior que a do estudo citado e ainda inclui compostos recalcitrantes (SOUZA; ROSADO, 2009), xenobióticos (ARANTES; MILAGRES, 2009), metais pesados (MELO; MARQUES, 2000), surfactantes (COSTA et al., 2007), além das frações celulose, hemicelulose e lignina (ANDRADE et al., 2006).

Taxas de degradação de lodos de esgoto, após aplicação no solo, situam-se entre 20 a 60% do carbono total adicionado (PIRES et al., 2002; SANTOS et al., 2002). Andrade et al. (2006), avaliando cinco tipos de biossólidos aplicados ao solo encontraram taxas de degradação entre 5 e 22%, sendo o menor valor referente a um lodo compostado e os maiores valores para lodos de reator anaeróbio. Da Cas (2009) avaliando a taxa de degradação do carbono do biossólido da ETE Santa

Maria (RS) obteve resultados da ordem de 30% de mineralização do carbono. Seu estudo foi conduzido com umidade de campo de 80%, ou seja, próxima das condições deste experimento. Nesta ótica, os resultados obtidos neste estudo mostram que o uso de fungos para a degradação de biossólidos pode ser uma alternativa para aumentar estas taxas de degradação.

Outro aspecto que merece atenção é a carência de dados sobre a taxa de degradação de lodos ativados, em especial, no estado do Rio Grande do Sul, onde o clima subtropical e as baixas temperaturas afetam a dinâmica populacional dos organismos biodegradadores do lodo de esgoto, a qual acaba por afetar a eficiência de uso do carbono e a sua mineralização (AITA et al., 2006). Em condições de campo, em especial, nos meses de inverno e de outono é de se esperar que as baixas temperaturas afetem a taxa de degradação do lodo ativado por atuar na taxa de difusão de substratos e na atividade enzimática dos organismos biodegradadores (BAPTISTA et al., 2012).

O isolado fúngico de *Fomes fasciatus* apresentou maior taxa de biodegradação em 28°C (62,89%) do que em 32°C (61,54). Isto pode estar associado ao fato de que os isolados possuam ótimos de temperatura diferenciados para expressar todo o seu potencial metabólico. Estudo realizado por MCCORMICK et al. (2012), avaliando o crescimento micelial deste fungo em ágar extrato de malte, observou que a temperatura mais apropriada para seu crescimento está próxima aos 28°C.

Analisando o efeito da temperatura na quantidade de biomassa produzida, Aguiar Filho (2008) cultivou *Pleurotus ostreatus*, *P. sajor-caju*, *P. ostreatotroseeus* e *Phanerochetes chrysosporium* nas temperaturas de 25°C e 30°C. O autor observou variação significativa na quantidade de biomassa fúngica na temperatura de 30°C em relação à 25°C. Já Negrão (2011) avaliou o crescimento micelial de *Pycnoporus sanguineus*, *Lentinus bertieri*, *Xylaria* sp., *Lentinula edodes* e *Stereum ostrea* sob as temperaturas de 23, 27 e 31°C, onde verificou crescimento micelial mais rápido na temperatura de 23°C para a *Xylaria* sp.. A elevação da temperatura em 4°C resultou em taxa de crescimento 48% menor para *Xylaria* sp., enquanto para os demais fungos a elevação da temperatura resultou em maior taxa de crescimento. Isto demonstra que os isolados avaliados tanto no estudo de Negrão (2011), como no presente estudo, podem necessitar temperaturas diferenciadas para expressar toda a sua capacidade catalítica.

Os isolados fúngicos de *Agaricus bisporus*, *Schizophyllum commune* e *Trametes versicolor* avaliados neste estudo são oriundos de clima tropical, fato este que pode estar relacionado à obtenção de melhores respostas nas temperaturas de 28°C e 32°C. Segundo Negrão (2011) a temperatura ótima para o crescimento e metabolismo pode variar entre e dentro das espécies fúngicas e, normalmente, as espécies estão adaptadas à condição do seu hábitat. Espécies de *Trametes* sp. da região tropical crescem melhor na faixa entre 30 a 40°C, enquanto espécies de *Trametes* sp. de clima temperado crescem melhor entre 20 a 30°C (BALDRIAN, 2008). Esta relação também é relatada por Damian; Boddy (1997) ao constatarem que os fungos degradadores de lignocelulose *Stropharia caerulea* e *Phanerochaete velutina*, isolados de florestas de clima frio, também se comportaram de formas distintas quando submetidas a diferentes temperaturas.

De acordo com Magan (2008), a disponibilidade de água, o pH e a temperatura influenciam diretamente o crescimento micelial e a taxa de degradação dos resíduos, sendo a temperatura o principal fator determinante de um nicho ecológico. Em geral, os fungos têm uma faixa ótima de temperatura para seu desenvolvimento e reprodução (DIAS et al., 2005). Compreender quais são as características ecológicas dos fungos em relação à temperatura é de extrema importância para buscar isolados mais eficientes na biodegradação de lodo ativado, principalmente no estado do Rio Grande do Sul, onde as condições climáticas são flutuantes e podem determinar a colonização ou não a colonização no biossólido.

5.3.2.2 Respirimetria sob diferentes condições de umidade

A avaliação dos resultados respirométricos nas umidades 65%, 80% e 90% mostraram diferença significativa no desempenho dos isolados fúngicos, destacando-se na biodegradação os isolados: *Schizophyllum commune* e *Trametes versicolor* a 65% de umidade; UFSMFPM6, *Schizophyllum commune* e *Agaricus bisporus* a 80% de umidade; UFSMFPM6, UFSMFPM8, *Schizophyllum commune* e *Trametes versicolor* a 95% de umidade. A maior taxa cumulativa de C-CO₂ mg kg⁻¹ liberada do biossólido foi obtida pelo isolado de *Trametes versicolor* a 95% de umidade e alcançou o valor de 9707,96. As menores taxas cumulativas de C-CO₂ mg kg⁻¹ liberada do biossólido estão associadas a umidade de 65% (Tabela 9).

Tabela 9. Taxa de degradação e taxa cumulativa de C-CO₂ mg kg⁻¹ liberado do bio sólido da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) pelos isolados fúngicos UFSMFPM6, UFSMFPM8, *Fomes fasciatus*, *Agaricus bisporus*, *Schizophyllum commune* e *Trametes versicolor* no período de 100 dias quando submetidos às umidades de 65%, 80% e 90% sob temperatura constante de 28°C. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.

Tratamento	Taxa de degradação (%)	Taxa cumulativa (C-CO ₂ mg kg ⁻¹)
65%		
Controle	57,42	8625,27c
UFSMFPM6	57,74	9039,19b
UFSMFPM8	56,91	8910,28b
<i>Fomes fasciatus</i>	57,29	8713,87c
<i>Agaricus bisporus</i>	58,96	9013,27b
<i>Schizophyllum commune</i>	60,18	9337,07a
<i>Trametes versicolor</i>	60,32	9320,50a
80%		
Controle	61,05	8907,72b
UFSMFPM6	60,78	9398,59a
UFSMFPM8	54,55	8511,22c
<i>Fomes fasciatus</i>	62,89	8805,88c
<i>Agaricus bisporus</i>	63,25	9345,09a
<i>Schizophyllum commune</i>	63,95	9540,59a
<i>Trametes versicolor</i>	63,85	9032,60b
95%		
Controle	61,15	8983,46b
UFSMFPM6	59,55	9322,80a
UFSMFPM8	60,26	9434,63a
<i>Fomes fasciatus</i>	61,25	8713,87c
<i>Agaricus bisporus</i>	62,78	8745,75c
<i>Schizophyllum commune</i>	62,94	9476,37a
<i>Trametes versicolor</i>	63,47	9707,96a

Os resultados da taxa de degradação do carbono obtidos neste estudo são superiores ao relatado por Da Cas (2009) que avaliou a taxa de degradação do carbono da ETE Santa Maria (RS) quando este foi aplicado ao solo, juntamente com palha de aveia. Até mesmo a menor taxa de degradação (54,55%) encontrada neste estudo foi superior ao resultado relatado pelo autor que obteve taxa de degradação da ordem de 30%. No entanto, esta diferença pode estar associada à temperatura de incubação adotada por Da Cas (2009) que foi de 25°C, enquanto no presente estudo foi 28°C. Andrade et al. (2006) em sua avaliação de diferentes bio sólidos utilizaram 60% da umidade de campo para determinar a taxa de degradação destes resíduos. Os autores obtiveram taxas de degradação variando entre 5 a 22%.

No presente estudo foi observado diferença significativa entre os tratamentos controle. Melhores respostas a biodegradação do lodo ativado foram obtidas em 80 e 95% de umidade, contrariando a expectativa de que os maiores teores de umidade pudessem saturar o biossólido, dificultando a biodegradação do lodo ativado. Uma possível explicação a este resultado pode estar relacionada ao fato da fibra celulósica ter capacidade de absorção de umidade. Neste caso, ela poderia se tornar saturada até um ponto máximo de absorção, denominado de ponto de saturação da fibra celulósica (HOADLEY, 2000). Entretanto, a situação inversa também pode ocorrer, ou seja, na carência de água, a fibra celulósica não constitui força em manter a umidade e, assim, perde água. Essa situação diminui a aeração dentro dos micros sítios, dificultando a colonização microbiana (RAYNER; BODDY, 1988). Tal fenômeno pode estar relacionado com os menores resultados observados para a umidade de 65%.

De modo geral, as maiores taxas de degradação obtidas neste estudo estão relacionadas às maiores umidades avaliadas (80 e 95%). Relacionando estes resultados com os de degradação dos resíduos lignocelulósicos nota-se que as taxas de degradação podem ser maiores quando há umidade suficiente nos resíduos lignocelulósicos (HOADLEY, 2000; RAYNER; BODDY, 1988). O limite de água presente nos resíduos lignocelulósicos não degradados situa-se em torno de 30% e, em valores abaixo deste, a água está presente somente nos microporos, os quais são muito pequenos para permitir a passagem das hifas e/ou de enzimas (MAGAN, 2008). Com a carência de água, muitas reações metabólicas são alteradas e a habilidade de colonização do substrato pelos fungos torna-se mais lenta e dificultada (NEGRÃO, 2011).

Semelhante resposta ao obtido neste estudo foi observada por Negrão (2011). Este autor avaliou a degradação de resíduos lignocelulósicos oriundos de *Eucalyptus urograndis* na presença de fungos degradadores de madeira analisando a influência da umidade na perda de massa de corpos-de-prova submetidos à umidade de 50% e 100%. Na umidade de 50%, o autor obteve perda de massa da ordem de 10% para todos os fungos avaliados (*Pycnoporus sanguineus*, *Lentinula bertieri*, *L. edodes* e *Xylaria* sp.) enquanto na umidade 100%, as perdas de massa causadas por *P. sanguineus* e *Lentinula bertieri* foram de 48,9 e 26%, respectivamente. De modo geral o autor observou grande variação quanto ao crescimento dos fungos sobre os corpos-de-prova de *E. urograndis* nas duas

umidades empregadas. Entretanto, esse autor destaca que a água foi determinante no tratamento com 50%, a qual culminou em menor crescimento micelial e, conseqüentemente, menor taxa de degradação observada.

Relacionando os resultados da temperatura aos da umidade é possível inferir que a elevação da temperatura para 32°C pudesse auxiliar ainda mais a biodegradação do lodo ativado da ETE Santa Maria (RS) na umidade de 95%. Isto porque O'Connell (1990) ao estudar a serrapilheira em florestas de eucaliptos observou que o fator umidade próximo a 100% e temperatura entre 33 a 34° C resultaram em uma taxa de degradação constante da lignocelulose. Por outro lado, valores de umidade inferiores a 80% foram suficientes para diminuir a atividade degradadora dos fungos avaliados.

5.3.2.3 Respirometria sob diferentes condições de pH

A análise dos resultados respirométricos nos pH 5,5 e 7,0 mostrou diferença significativa no desempenho dos isolados fúngicos, destacando-se, na biodegradação os tratamentos fúngicos submetidos ao pH 7,0 (Tabela 10).

Tabela 10. Taxa de degradação e taxa cumulativa de C-CO₂ mg kg⁻¹ liberado do biossólido da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) pelos isolados fúngicos UFSMFPM6, UFSMFPM8, *Fomes fasciatus*, *Agaricus bisporus*, *Schizophyllum commune* e *Trametes versicolor* no período de 100 dias quando submetidos aos pH 5,5 e 7,0 sob temperatura constante de 28°C e umidade ajustada a 80%. Santa Maria, RS, UFSM, 2013.

Tratamento	Taxa de degradação (%)	Taxa cumulativa (C-CO ₂ mg kg ⁻¹)
pH 5,5		
Controle	24,43	3825,39k
UFSMFPM6	24,49	3834,05k
UFSMFPM8	23,65	3702,77l
<i>Fomes fasciatus</i>	25,32	4120,67i
<i>Agaricus bisporus</i>	24,41	3987,10j
<i>Schizophyllum commune</i>	25,85	4464,48g
<i>Trametes versicolor</i>	24,79	4226,77h
pH 7,0		
Controle	54,42	8519,81e
UFSMFPM6	54,55	8539,09e
UFSMFPM8	53,83	8246,72f
<i>Fomes fasciatus</i>	62,89	8805,88d
<i>Agaricus bisporus</i>	63,25	9345,09b
<i>Schizophyllum commune</i>	63,95	9540,59a
<i>Trametes versicolor</i>	63,85	9032,60c

A melhor resposta da taxa cumulativa de C-CO₂ mg kg⁻¹ liberada do bio sólido foi obtida com *Schizophyllum commune*, seguido de *Agaricus bisporus*, e após *Trametes versicolor*, todos a pH 7,0. A capacidade degradativa destes três isolados pode estar associada ao fato destes fungos serem reconhecidamente produtores de lacases (MUNARI et al.2003; KAMIDA et al., 2005). Esta enzima apresenta baixa especificidade por substratos e seu pH ótimo é dependente do tipo de resíduo. Esta característica a torna versátil e com potencial para ser utilizada em várias aplicações biotecnológicas industriais (COUTO; TOCA-HERRERA, 2007). Além disto, é importante considerar que a maior parte dos estudos de biodegradação é conduzido com substratos lignocelulósicos de composição definida, diferindo da realidade dos lodos ativados, os quais são heterogêneos (VON SPERLING, 2008). Nesta ótica, estes resultados mostram que apesar do pH ótimo para a maioria das espécies fúngicas estar ao redor de 5,6 cada espécie apresenta suas especificidades (ARANTES; MILAGRES, 2009) e sua capacidade catalítica também deve ser relacionada ao tipo de resíduo.

Relacionado o efeito dos três fatores ambientais (temperatura, umidade e pH) avaliados neste estudo foi possível observar que a temperatura foi mais eficiente em promover maior liberação de C-CO₂ mgkg⁻¹ do bio sólido do que os tratamentos sob diferentes umidades e pHs. Da mesma maneira, a maior taxa de degradação foi observada sobre o efeito da temperatura de 32°C com o isolado *Schizophyllum commune*, onde foi encontrado o valor de 65,71% de biodegradação do bio sólido da ETE Santa Maria (RS) (Tabela 10).

A Norma Técnica P4.230 da CETESB (CETESB, 1999), que regula o uso agrícola dos bio sólidos no estado de São Paulo, exige um mínimo de 30% de degradação, num período de 62 dias de incubação para bio sólidos provenientes de tratamentos industriais ou mistos de esgotos industriais e domésticos (ANDRADE, 2004). No presente estudo, os isolados avaliados na temperatura de 32°C (*Schizophyllum commune*, *Agaricus bisporus*, *Trametes versicolor*, UFSMFPM6, UFSMFPM8 e *Fomes fasciatus*) e os isolados avaliados a 80 e 95% de umidade (*Schizophyllum commune*, *Agaricus bisporus*, *Trametes versicolor* e *Fomes fasciatus*) apresentaram taxas de biodegradação acima de 42% aos 62 dias de incubação, superando o mínimo exigido Norma Técnica P4.230 da CETESB (CETESB, 1999).

A biodegradação por fungos em sistemas de lodos ativados normalmente é discutida sob o foco da digestão nos tanques de aeração (CETESB, 1999) e pouco se conhece da capacidade de diferentes organismos, em especial, dos fungos lignocelulolíticos, em atuar no produto final (biossólido), como é o caso deste estudo. Nesta etapa, a massa orgânica tende a ser mais estável não sofrendo grandes variações na concentração dos poluentes e na composição química. Entretanto, apesar dos resultados obtidos mostrarem viabilidade de uso dos fungos lignocelulolíticos avaliados, ainda são necessários maiores esforços para testar novas cepas quanto ao seu potencial de biodegradação. Além disto, é importante salientar a necessidade de estudos a campo, onde os fatores ambientais podem apresentar flutuações (BERTAZZOLI; PELEGRINI, 2002) que alteram a dinâmica de biodegradação do lodo ativado.

5.4 Fracionamento químico do carbono e nitrogênio em substrato biodegradado pelos isolados fúngicos

Após o estudo de fracionamento químico do carbono e nitrogênio pode-se observar que o teor de matéria orgânica variou entre 30,17 a 37,63% nos resíduos avaliados (Tabela 11). Estes valores estão dentro da faixa esperada para lodos ativados de origem doméstica (VON SPERLING, 2008) (Tabela 11).

O maior teor de carbono total foi obtido no controle, enquanto os menores valores ocorreram com o uso dos isolados de *Trametes versicolor* e *Schizophyllum commune*. Esta redução pode estar associada ao fato destes isolados terem utilizado parte do carbono disponível no resíduo de lodo ativado, o qual também é mensurado pela metodologia empregada na obtenção do teor de carbono total. Com isso, ocorreu redução do teor de carbono total, fato este que pode ser verificado, em especial, nos isolados que apresentaram as maiores taxas de biodegradação do biossólido. O carbono é o elemento presente em maior concentração nos lodos ativados (Tabela 11), o que evidencia a participação expressiva deste componente nos teores de matéria orgânica (BRADY, WEIL, 2002).

O teor de carbono solúvel sofreu grande alteração após passar pelo experimento respirométrico na temperatura de 32°C. O uso desta fração pelos isolados fúngicos causou redução entre 2 a 2,5 vezes no teor de carbono solúvel em relação ao controle. A fração carbono solúvel em água compreende uma série de

compostos (açúcares, ácidos orgânicos e peptídeos) que podem ser caracterizados como facilmente degradáveis (MORAL et al., 2005). Leita; Nobili (1991) avaliando a fração solúvel em água do carbono em compostagem de lixo domiciliar observaram redução de 50% do seu valor logo no início do processo de compostagem do lixo.

Tabela 11. Fracionamento químico do carbono e nitrogênio em substrato de lodo ativado biodegradado pelos isolados fúngicos UFSMFPM6, UFSMFPM8, *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor*, *Agaricus bisporus* e *Fomes fasciatus* antes (controle) e após o experimento respirométricos na temperatura de 32°C. Os valores representam a média de três repetições (\pm desvio padrão).

Tratamento	%Matéria orgânica	%Carbono total	Carbono solúvel (mgL ⁻¹)	%Nitrogênio total	Relação C/N	%Nitrogênio inorgânico	%Nitrogênio orgânico	%Fósforo total
Controle	37,63 (\pm 0,53)	21,84 (\pm 1,21)	2500 (\pm 12,69)	3,34 (\pm 0,18)	6,54 (\pm 0,05)	1,14 (\pm 0,04)	2,20 (\pm 0,15)	2,57 (\pm 0,07)
Temperatura 32°C								
UFSMFPM6	33,42 (\pm 0,49)	19,43 (\pm 1,28)	1072,33 (\pm 42,21)	3,34 (\pm 0,06)	5,82 (\pm 0,43)	0,96 (\pm 0,02)	2,59 (\pm 0,07)	2,64 (\pm 0,29)
UFSMFPM8	31,81 (\pm 0,28)	18,47 (\pm 1,03)	1343,33 (\pm 338,44)	3,40 (\pm 0,23)	5,46 (\pm 0,68)	1,33 (\pm 0,03)	1,69 (\pm 0,24)	1,47 (\pm 0,07)
<i>Schizophyllum commune</i>	30,17 (\pm 0,85)	18,41 (\pm 1,03)	1452,85 (\pm 125,44)	3,36 (\pm 0,33)	5,37 (\pm 0,77)	1,29 (\pm 0,13)	1,87 (\pm 0,85)	1,37 (\pm 0,56)
<i>Trametes versicolor</i>	30,14 (\pm 1,18)	18,45 (\pm 1,45)	1752,85 (\pm 239,13)	3,25 (\pm 0,56)	6,37 (\pm 0,37)	1,11 (\pm 0,43)	1,90 (\pm 0,65)	2,01 (\pm 0,44)
<i>Agaricus bisporus</i>	33,35 (\pm 2,58)	19,91 (\pm 2,25)	11567,58 (\pm 224,34)	3,39 (\pm 0,83)	5,67 (\pm 0,87)	1,39 (\pm 0,52)	2,37 (\pm 0,95)	2,09 (\pm 0,45)
<i>Fomes fasciatus</i>	34,13 (\pm 0,23)	19,58 (\pm 0,83)	1976,66 (\pm 55,53)	3,39 (\pm 0,16)	6,24 (\pm 0,54)	1,13 (\pm 0,19)	2,46 (\pm 0,25)	1,52 (\pm 0,38)

Os resultados de carbono solúvel podem ser considerados baixos para todos os tratamentos avaliados, se comparados aos resultados relatados para dejetos de animais, onde Moral et al. (2005) relatam valores médios da ordem de 78.000 a 240.000,6 mg L⁻¹. Os baixos teores observados neste estudo podem estar associados à perda de compostos orgânicos solúveis durante o processo de concentração de sólidos no tratamento ou durante a estocagem nos leitos de secagem, por lixiviação (VON SPERLING, 2008). Além disto, pode ter ocorrido maior intensificação deste efeito a medida que o lodo de esgoto avaliado teve um tempo de deságüe aumentado para 90 dias em virtude da falta de áreas para destinação final no município de Santa Maria (RS).

A relação C/N dos resíduos de lodo ativado foi diminuída após a biodegradação fúngica para todos os isolados avaliados. Os resultados da relação C/N obtidos neste estudo podem ser considerados baixos, fato este que indicaria

uma rápida mineralização dos compostos orgânicos presentes nos biossólidos (BRADY, WEIL, 2002). Entretanto, ao invés de indicar rápida degradação, valores de relação C/N inferiores a 12 podem ser reflexos de resíduos com constituição bioquímica recalcitrante e com predominância de uma matéria orgânica parcialmente decomposta (BERNAL et al., 1998). O controle apresentou relação C/N de 6,54. Este valor se aproxima do resultado relatado por Dacas (2009) que obteve 5,4 ao avaliar lodo de esgoto da ETE Santa Maria (RS). Tal diferença nos resultados, para o mesmo biossólido, pode estar associada ao fato de que os lodos de esgoto variam em função do local, da época do ano, do processo de tratamento empregado e dos efluentes que são lançados na rede coletora de esgoto (VON SPERLING, 2008).

5.5 Alterações dos compostos orgânicos em substrato biodegradado pelos isolados fúngicos

A análise dos resultados do fracionamento das fibras em detergente neutro e ácido mostrou alterações no substrato de lodo ativado submetido à biodegradação pelos isolados (Tabela 12).

Tabela 12. Composição bioquímica do substrato de lodo ativado utilizado pelos isolados fúngicos UFSMFPM6, UFSMFPM8, *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor*, *Agaricus bisporus* e *Fomes fasciatus* antes (controle) e após o experimento respirométricos na temperatura de 32°C. Os valores representam a média de três repetições (\pm desvio padrão).

Tratamento	%Hemicelulose	%Celulose	%Lignina	%Proteína Bruta
Controle	16,51 (\pm 0,14)	19,52 (\pm 0,28)	12,84 (\pm 0,11)	8,13 (\pm 0,25)
Temperatura 32°C				
UFSMFPM6	11,42 (\pm 1,01)	16,89 (\pm 2,10)	11,84 (\pm 2,33)	6,00 (\pm 0,13)
UFSMFPM8	10,03 (\pm 0,08)	18,63 (\pm 0,28)	11,26 (\pm 0,31)	8,31 (\pm 0,16)
<i>Schizophyllum commune</i>	11,55 (\pm 1,12)	18,22 (\pm 1,87)	11,56 (\pm 0,81)	7,06 (\pm 0,87)
<i>Trametes versicolor</i>	9,37 (\pm 1,12)	16,73 (\pm 0,95)	10,98 (\pm 1,31)	7,05 (\pm 1,25)
<i>Agaricus bisporus</i>	9,98 (\pm 1,32)	19,63 (\pm 0,44)	11,01 (\pm 0,74)	6,98 (\pm 0,75)
<i>Fomes fasciatus</i>	13,33 (\pm 1,36)	18,25 (\pm 1,64)	11,60 (\pm 0,51)	7,11 (\pm 1,12)

As maiores alterações provocadas pela biodegradação fúngica na fração hemicelulose são coerentes com a sua composição química menos recalcitrante que as frações celulose e lignina (BRADY, WEIL, 2002). Andrade et al. (2006) também

observaram resposta semelhante ao analisar as fibras lignocelulósicas de diferentes lodos de esgoto. Estes autores obtiveram estreita relação entre as taxas de biodegradação e os teores de hemicelulose nos lodos avaliados, indicando viabilidade de uso deste parâmetro para estimar a degradação de lodos de esgoto. Entre as fibras avaliadas no presente estudo, a fração hemicelulose se mostrou mais sensível à ação dos isolados fúngicos testados e, portanto, pode ser considerado um importante parâmetro para entendimento da relação entre biodegradação e composição química do lodo ativado da ETE Santa Maria (RS).

O isolado *Trametes versicolor* foi o responsável pela maior alteração do teor de celulose em relação ao seu controle (19,52), alcançando 16,73% (Tabela 12). A fração celulose se mostrou menos alterada que a hemicelulose e lignina pela ação dos isolados fúngicos avaliados. Esses dados são coerentes com os relatos de Andrade (2004) e Andrade et al. (2006). Os resultados obtidos podem estar associados a maior resistência a degradação da celulose em relação a hemicelulose (BRADY, WEIL, 2002).

O teor de proteína bruta foi diminuído na maioria dos tratamentos avaliados. Esta redução no teor de proteína bruta em relação ao controle pode estar associada a biodegradação por parte dos isolados fúngicos, ou então, devido a ação combinada dos isolados avaliados e de microrganismos proteolíticos, principalmente bactérias, as quais são ubíquas em lodos de esgoto (LOLL; BOLLAG, 1983).

5.6 Relação entre biodegradação e composição química da fração orgânica do lodo ativado

Os parâmetros matéria orgânica e carbono total se correlacionaram negativamente com a taxa de biodegradação do lodo ativado (Tabela 13). O teor de carbono de uma amostra, embora apresente correlação positiva com a quantidade de C-CO₂ emanada a partir de amostras biossólidos (PIRES et al., 2002), pode correlacionar inversamente com a taxa de degradação (SANTOS et al., 2002). Isso ocorre porque os materiais orgânicos contêm uma grande variedade de compostos de carbono (açúcares, lipídeos, proteínas, etc.), que variam em sua taxa de degradação individual, sendo a decomposição do resíduo dependente do conteúdo relativo entre eles (BERNAI et al., 1998).

Tabela 13. Valores de coeficiente de correlação (r) e nível de significância (Prob. > t) das correlações entre os parâmetros de caracterização da fração orgânica, expressos como porcentagem do total de matéria orgânica, e as taxas de biodegradação obtidas com os isolados UFSMFPM6, UFSMFPM8, *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor*, *Agaricus bisporus* e *Fomes fasciatus* ao final de 100 dias de incubação.

Parâmetro	r	Prob. > t	Parâmetro	r	Prob. > t
Hemicelulose	- 0,546	0,0125	Nitrogênio total	0,001	0,9977
Celulose	- 0,129	0,5758	Nitrogênio orgânico	- 0,406	0,0676
Lignina	- 0,714	0,0172	Nitrogênio inorgânico	0,449	0,0410
Proteína	0,449	0,0411	Amônio	0,606	0,0035
Matéria orgânica	- 0,311	0,1701	Nitrato	- 0,336	0,1358
Carbono total	- 0,579	0,0060	Fósforo total	- 0,195	0,3958
Carbono solúvel	- 0,548	0,0100	Relação C/N	- 0,442	0,0444
*ILC	- 0,401	0,0717	*QHL	0,202	0,3779
*Lig/N	- 0,472	0,0309			

*ILC = Índice lignocelulósico; *Lig/N = Relação lignina/nitrogênio; *QHL = Quociente holocelulose:lignocelulose.

Os índices preditores da degradação de biossólidos, ILC e Lig/N correlacionaram-se negativamente com a taxa de degradação dos biossólidos, enquanto o QHL correlacionou positivamente, porém, diferentemente do relatado por Andrade (2004) e Andrade et al. (2006) estes índices não foram significativos a 5% de probabilidade de erro. Desta maneira, os índices não foram eficientes para prever a biodegradação do lodo ativado da ETE Santa Maria (RS) pelos isolados fúngicos avaliados.

O teor de lignina correlacionou negativamente com a taxa de degradação. Este resultado era esperado em virtude da recalcitrância desta fração, comparativamente a celulose, hemicelulose e proteína. Este parâmetro apresentou valor de r de -0,714 e foi a variável que melhor respondeu em termos de correlação. Portanto, a determinação do teor de lignina em lodos ativados por aeração prolongada pode ser entendida como uma importante ferramenta quando se deseja conhecer a biodegradabilidade de lodo ativado por isolados fúngicos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os isolados fúngicos lignocelulolíticos *Trametes versicolor*, *Schizophyllum commune*, *Agaricus bisporus* e *Fomes fasciatus* são eficientes na biodegradação do lodo ativado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS), apresentando as maiores taxas de biodegradação deste resíduo.
- A biodegradação fúngica do lodo ativado é favorecida na temperatura de 32°C.
- A composição química da fração orgânica do lodo ativado da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Maria (RS) é constituída, principalmente, por frações recalcitrantes de fibras lignocelulósicas, dentre as quais a hemicelulose representou a fração mais sensível a biodegradação pelos isolados fúngicos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADULLA, E. et al. Decolorization and detoxification of textile dyes with a laccase from *Trametes hirsuta*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, n.8, p. 3357-3362, 2000.

ABREU, L. D. et al. Degradação da madeira de *Eucalyptus* sp. por basidiomicetos de podridão branca. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.74, n.4, p. 321-328, 2007.

ADAMS, J. D. W.; FROSTICK, L. E. Investigating microbial activities in compost using mushroom (*Agaricus bisporus*) cultivation as an experimental system. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 1097-1102, 2008.

ADESM - Agência de Desenvolvimento de Santa Maria. In: Plano Diretor de Saneamento Ambiental. (Coord.) SERRO, V.; EMANUELLI, C.; GREGORI, D.; SEGABINAZZI, G. KUNZLER, S.; KUNZLER, M. M. **Caderno de Propostas**. 35-36; 49 p. 2012.

AGUIAR FILHO, A. A. **Análises enzimáticas de fungos lignocelulolíticos cultivados em vinhaça e bagaço de cana-de-açúcar**. 2008. 79p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Escola Superior Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2008.

AITA, C. et al. Decomposição de palha de aveia preta e dejetos de suínos em solo sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.30, n.1, p. 149-161, jan./fev. 2006.

AJWA, H.A.; TABATABAI, M.A. Decomposition of different organic materials in soils. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.18, n.3, p.175-182, 1994.

ALBIACH, R. et al. 2001. Organic matter components and aggregate stability after the application of different amendments to a horticultural soil. **Bioresource Technology**, v.76, n.2, p. 125-129, 2001.

ALCÂNTARA, P. B. **Avaliação da influência da composição de resíduos sólidos urbanos no comportamento de aterros simulados**. 2007. 364p. Tese (Doutorado em Engenharia Civil), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

ALLEN, S.E. **Chemical Analysis of Ecological Materials**. 2. edição. London, Blackwell Scientific Publications, 368 p. 1989.

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W. & BLACKWELL, M. 1996. **Introductory Mycology**. 3. ed. New York: John Wiley; Sons, Inc. 865p. 1996.

ALONSO, S. K. et al. Isolamento e seleção de fungos causadores da podridão branca da madeira em florestas de Eucalyptus spp. com potencial de degradação de cepas e raízes. **Revista Árvore**, Viçosa, v.31, n.1, p. 145-155, 2007.

ANDRADE, C. A. de. **Fração orgânica de biossólido e efeito no estoque de carbono e qualidade da matéria orgânica de um Latossolo cultivado com Eucalipto**. 2004. 135p. Tese (Doutorado em Agronomia), Escola Superior Luis de Queiros, Universidade de São Paulo, 2004.

ANDRADE, C. A. de. et al. Cinética de degradação da matéria orgânica de biossólidos após aplicação no solo e relação com a composição química inicial. **Bragantia**, Campinas, v.65, n.4, p. 659-668, 2006.

ANDREOLI, C. V. et al. **Reciclagem de biossólidos**: transformando problemas em soluções. Curitiba: SANEPAR, FINEP, 1999.

ANDREOLI, C. V. et al. Disposição do lodo de esgoto no solo. In: ANDREOLI, C. V., SPERLING, M.; FERNANDES, F. (Coords.) **Lodo de esgotos**: tratamento e disposição final. DESA/UFMG, SANEPAR. v. 6, p. 319-395, 2001.

ARANTES, V.; MILAGRES, A. M. F. Relevância de compostos de baixa massa molar produzidos por fungos e envolvidos na biodegradação da madeira. **Química Nova**, v.32, n.1, p. 1-6, jan./mar. 2009.

ARAÚJO et al. Lodo de esgoto na fertilidade do solo, na nutrição de *Brachiaria decumbens* e na atividade da desidrogenase. **Pesquisa Agropecuária Tropical** v. 39, n.1, p. 1-6, jan./mar. 2009.

BACKES, C. et al. Efeito do lodo de esgoto e nitrogênio na nutrição e desenvolvimento inicial da mamoneira. **Bioscience Journal**, Uberlandia, v.25, n.1, p. 90-98, 2009.

BALDRIAN, P. Enzymes of saprotrophic basidiomycetes. In: BODDY, L.; FRANKLAND, J.; WEST, P. V. 2. ed. **Ecology of saprotrophic basidiomycetes**. London: Academic Press, p. 19-41, 2008.

BAPSTISTA, N. M. Q. Produção das Enzimas Lignina Peroxidase e Lacase por Fungos Filamentosos. **Scientia Plena**. v.8, n.1. 2012.

BENTO, A.P. et al. Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados: um instrumento de avaliação e controle do processo. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, São Cristovão, v.10, n.4, p. 329-338, 2005.

BERNAI, M. P., et al. "Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes. **Bioresource Technology**, v. 63, n.1, p. 91-99, 1998.

BERTAZZOLI, R., PELEGRINI, R., 2002. Descoloração e degradação de poluentes orgânicos em soluções aquosas através do processo fotoeletroquímico. **Química Nova**, São Paulo, v.25, n.3, p. 477-482, 2002.

BEZERRA, F. B. et al. Lodo de esgoto em revegetação de área degradada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v 41, n.3, p. 469-476, mar. 2006.

BLANCHETTE, R. A. Delignification by wood-decay fungi. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.29, p. 381-398, 1991.

BOVI, M.L.A. et al. Lodo de esgoto e produção de palmito em pupunheira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.31, n.1, p.153-166, 2007.

BRADY, C.B.; WEIL, R.R. **The nature and properties of soils**. 3th ed. New York: Prentice Hall, 960 p. 2002.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente, CONAMA. Resolução CONAMA nº 357/2005, de 17 de março de 2005 – In: Resoluções, 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em 22 jan. 2013.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente, CONAMA. Resolução CONAMA nº 375/2006, de 30 de agosto de 2006 – In: Resoluções, 2006. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/conama/>>. Acesso em 15 jan. 2013.

BRITO, J. O. et al. Densidade básica e retratibilidade da madeira de *Eucalyptus grandis* submetida a diferentes temperaturas de termorreificação. **Revista Cerne**, Lavras, v.12, n. 2, p. 182-188, 2006.

BRUUS, J. et al. On the Stability of Activated Sludge Flocs with Implications to Dewatering”, **Water Research**, v.26, n.12, p. 1597-1604, 1992.

BUSWELL, J. A. Fungal degradation of lignin. In: ARORA, D. K.; BHARAT, R.; MUKERJI, K. G.; KNUDSEN, G. R. (Ed.). **Handbook of applied mycology: soil and plants**. New York: Marcel Dekker. p. 425-480.1991.

CAMILOTTI, F. et al. Acúmulo de metais pesados em cana-de-açúcar mediante a aplicação de lodo de esgoto e vinhaça. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.27, n.1 p. 284-293, 2007.

CAMPOS, de F. da S.; ALVES, A. C. Uso de lodo de esgoto na reestruturação de solo degradado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n.4, p. 1389-1397, 2008.

CARLILE, M. J. et al. **The fungi**. 2. ed. London: Academic Press, 588 p. 2001.

CARVALHO, C. C. **Produção de Ligninases por Basidiomicetos através de Fermentação em estado sólido, caracterização e aplicação das enzimas**. 2005, 112p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada), Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2005.

CARVALHO, W. et al. Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2191-2195, 2009.

CAVALCANTI, J. E. W. **Manual de tratamento de efluentes industriais**. 1 edição. São Paulo, SP: Engenho Editora Técnica, 2009.

CEOLATO, L. C. **Lodo de esgoto líquido na disponibilidade de nutrientes e alterações dos atributos químicos de um Argissolo**. 2007. 52p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical), Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2007.

CETESB. **Aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas: critérios para projeto e operação**. São Paulo, CETESB, 1999. (Norma Técnica P. 4.230). 32 p. 1999.

CETESB. **Microbiologia de lodos ativados**. Editora da CETESB, São Paulo, 2000.

CHEN, H. et al. Effects of temperature and moisture on carbon respired from decomposing wood roots. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.138, n.1-3, p. 51-64, 2000.

CHAGAS, W. F. **Estudo de patógenos e metais em lodo digerido bruto e higienizado para fins agrícolas, das estações de tratamento de esgotos da ilha**

do governador e da Penha no estado do Rio de Janeiro. 89p. 2000. Dissertação (Mestrado em Ciências em Saúde Pública). Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública; 2000.

COELHO, G. **Contribuição ao conhecimento dos fungos com poros (Basidiomycota) da região de Santa Maria, RS, Brasil.** 72p. 2008. Tese (Doutorado em Botânica), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

CORRÊA, R. S. et al. Produção de biossólido agrícola por meio da compostagem e vermicompostagem de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 11, n.4, p. 420-426, 2007.

CORSAN. 2011. Uso agrícola do lodo de esgoto. Disponível em:// www.senge.org.br/site/forca_download.php?arquivo=conteudo. Acesso em 04 de junho de 2013. 2011.

CORTEZ, J. et al. Decomposition of Mediterranean leaf litter: a microcosm experiment investigating relationships between decomposition rates and litter quality. **Soil Biology Biochemistry**. V.28, p. 443-452. 1996.

COSTA, S. S. da et al. Indicadores epidemiológicos aplicáveis a estudos sobre a associação entre saneamento e saúde de base municipal. **Engenharia Sanitária Ambiental**, Rio de Janeiro, v.10, n.2, p. 118-127, abr-jun. 2005.

COSTA, M. C. et al. Co-digestão anaeróbia de substâncias surfactantes, óleo e lodo de esgoto. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v.12, n.4, p. 433-439, out/dez. 2007.

COUSIN, C.P., GANCZARCZYK J.J, Effect of Calcium Ion Concentration on the Structure of Activated Sludge Flocs, **Environmental Technology**, London, v.20, n.11, p. 1129-1138. 1999.

COUTO, S. R.; TOCA-HERRERA, J. L. Laccase production at reactor scale by filamentous fungi. **Biotechnology Advances**, Philadelphia, v.25, n.6, p. 558-569, 2007.

CUNHA, F.G.; MACHADO, G. J. Estudos de geoquímica ambiental e o impacto na saúde pública no município de São Gonçalo do Piauí, estado do Piauí. Programa Nacional de Pesquisa em Geoquímica Ambiental e Geologia Médica "PGAGEM". CPRM – Serviço Geológico do Brasil. 2004, 37p. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/gestao/estudo_geoq_amb.pdf>. Acesso em 24/06/2013.

DA CAS, V. L. **Mineralização do carbono e do nitrogênio no solo com o uso de lodo de esgoto e palha de aveia**. 68p. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

DALZELL, D. J. B. et al. A comparison of five rapid direct toxicity assessment methods to determine toxicity of pollutants to activated sludge. **Chemosphere**, v.47, n.5, p. 535-545, 2002.

DAMIAN, P.D.; BODDY, L. Development of mycelial systems of *Stropharia caerulea* and *Phanerochaete chrysosporium* on soil: effect of temperature and water potential. **Mycological Research**, London, n.101, p. 705-713, 1997.

DAVIES, P.S. **The biological basis of wastewater treatment**. Glasgow, UK: Strathkelvin Instrument Ltd, 2005.

DAVIS, S.; BURNS, R. G. Decolorization of phenolic effluents by soluble and immobilized phenol oxidases. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.32, p. 721-726. 1990.

DEL BIANCHI, V. L. et al. **Fermentação em estado sólido**. In: *Biotecnologia Industrial*, Coord. Schmidell, W. et al., v.2, p. 247-276, 2001.

DEORSOLA, A. B. **Influência dos cátions (sódio, potássio, cálcio e magnésio) no tratamento biológico de efluentes.** 174p. 2006. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2006.

DIAS, N. M. P. et al. Isotermas de adsorção de cádmio em solos ácidos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.5, n.2, p. 229-234, 2001.

DIAS, D.M. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. isolados de *Coffea arabica* L. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 545-552, 2005.

DINCER, AR, KARGIR F. Salt Inhibition Kinetics in Nitrification of Synthetic Saline Wastewater, **Enzyme and Microbial Technology**, v. 28, n.7-8, p. 661–665 may. 2001.

DUPONT, R. R. et al. **Bioremediation.** Annapolis: American Academy of Environmental Engineers and USEPA. 596p. 1998.

EIRA, A.F. da. **Cultivo do "cogumelo-do-sol" *Agaricus blazei* (Murrill) Heinemann.** Viçosa: Aprenda Fácil, 203p. 2003.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos, **Manual de Métodos de Análise de Solos.** 2.ed. Rio de Janeiro, Embrapa, 212.p, 1997.

ERIKSSON, K. E. L. et al. Biodegradation of lignin. Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components, **Springer-Verlag:** Berlin, 1990.

FRANÇA, M. **Avaliação da biodegradabilidade e da biodisponibilidade do lodo de esgoto anaeróbico termohidrolisado pelo uso de biogás.** 170 p. 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

FARIA, R. A. **Estudo da produção de enzimas ligninolíticas por *Ceriporiopsis subvermispora***. 102 p. 2010. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial), Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo. 2010.

FERREIRA, A. C. et al. **Riscos associados ao uso do lodo de esgoto. In: Uso e manejo do lodo de esgoto na agricultura**. Rio de Janeiro: Programa de Pesquisa em Saneamento Básico - PROSAB. Cap. 3, 1999.

FERNANDES, F. et al. Caracterização preliminar dos principais tipos de lodo de esgoto do Paraná para um programa de reciclagem agrícola. **SANARE**, Curitiba, v.6, n.6, p. 15-21, 1996.

FERNANDES, L. et al. In vitro wood decay of *Eucalyptus grandis* by the basidiomycete fungus *Phellinus flavomarginatus*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.55, n.3, p. 187-193, 2005.

FONT, X. et al. Black liquor detoxification by lacase of *Trametes versicolor* pellets. **Journal of Chemical and Biotechnology**, v.78, n. 5, p. 548-554, 2003.

FONTES, C. M. A. **Potencialidades da cinza de lodo de estações de tratamento de esgotos como material suplementar para a produção de concretos com cimento Portland**. 143p. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciências em Engenharia Civil), Universidade do rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2003.

FORNEY, L. J. et al. Structure of microbial communities in activated sludge: potential implications for assessing the biodegradability of chemicals. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.49, n.1, p. 40-53, 2001.

GALDOS, M. V. et al. Atributos químicos e produção de milho em um latossolo vermelho eutroférico tratado com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.28, n 3, mai/jun. p. 569-577, 2004.

GEYER, A. L. B. **Contribuição ao estudo da disposição final e aproveitamento da cinza de lodo de estação de tratamentos de esgotos sanitários como adição**

ao concreto. 238 p. 2001. Tese (Doutorado em Engenharia Civil), Universidade Federal do Rio grande do Sul, Porto Alegre. 2001.

GONÇALVES Jr., A. C. et al. Avaliação da fitodisponibilidade de cádmio, chumbo e crômio, em soja cultivada em latossolo vermelho escuro tratado com fertilizantes comerciais. **Química Nova**, São Paulo, v.23, n.2, p. 173-177, 2000.

GRIFFIN, D.H. **Fungal physiology**. New York: Wiley-Liss. 456p. 1994.

GUILMO, S.M.P.et al. Efeito de fungos termófilos sobre a madeira de *Eucalyptus saligna* Sm. II. **Parte do Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.26/27, p. 29-34, Jan./Dez.1993.

GUTIERREZ, A. et al. Hyphal-sheath polysaccharides in fungal deterioration. **The Science of the Total Environment**, v.167, n.1-3, p. 315-328, 1995.

HAIDER, K., TROJANOWSKI, J. A comparison of the degradation of ¹⁴C_labeled DHP and corn stalk lignins by micro- and macrofungi and bacteria. **Soil Biology**. Monography, 1980.

HATTORI, H.; MUKAI, S. Decomposition of sewage sludge in soil as affected by their organic matter composition. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.32, n.3, p. 421-432, 1986.

HAIDER, K. Microbe-soil-organic contaminant interactions. In: ADRIANO, D.C. et al. (Ed.) **Bioremediation of contaminated soils**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, p.33-51, 1999.

HERRERA, O. M. **Produção, economicidade e parâmetros energéticos do cogumelo *Agaricus blazei*: um enfoque de cadeia produtiva**. 145p. 2001. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

HERMOSO, A. R. et al. Correlação entre a microfauna e parâmetros físicoquímicos de um sistema de lodos ativados de uma indústria de refrigerantes. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, n.4, p. 16-22, agosto, 2006.

HIGGINS MJ, NOVAK, J. T. Characterization of Exocellular Protein and its Role in Bioflocculation, **Journal of Environmental Engennering**, v.123, p. 479-85, 1997.

HOADLEY, R. B. **Understanding wood**: a craftman's guide to wood technology. Newton: Tauton, 280 p. 2000.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (2012) - **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico**, 2012. Rio de Janeiro, 2001. Disponível em: <
<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=431690>> Acesso em 22 jan. 2013.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (2011). **Contagem Populacional**. Disponível em: <
<http://www.cidades.gov.br/images/stories/ArquivosSNSA/PlanSaB>> Acesso em 02 jan. 2013.

ISIKHUEMHEN, O.S. et al. Bioremediation of crude oil polluted soil by white rot fungus, *Pleurotus tuberregium* (Fr.) Sing. **Environmental Science and pollution Research**, v.10, nov. p. 108-112, 2003.

JACQUES, R. J. S. et al. Biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Revista **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 29, n.1 p. 7-24, 2007.

JAPAN SEWAGE WORKS AGENCY. **Areawide sewage sludge treatment and disposal project**. Tóquio, 1990. Disponível em:<
www.env.go.jp/en/wpaper/1990/eae190000000030.html>. Acesso em 10 de ago. 2012.

JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. ABES, 3. ed., Rio de Janeiro, 1995.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soil and plants**. 2.ed. Florida: CRC Press, 365p. 1992.

KAMIDA, H. et al. Biodegradação de Efluente têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. **Química Nova**, São Paulo, v.28, n.4, p. 629-632, jul./ago. 2005.

KIEHL, E.J. **Fertilizantes Orgânicos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 492p. 1985.

KIRK, T. K.; CHANG. H. Potencial applications of bio-lignolytic systems. **Enzyme Microbial. Technology**, v.3, p. 189-196. July. 1981.

KIRK T. K.; CULLEN D. Enzimology and molecular genetics of wood degradation by white-rot fungi. In: **Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry**. New York, John Wiley and Sons, p. 273-308. 1998.

KARGI, F., UYGUR, A., Improved Nutrient Removal from Salime Wastewater in an SBR by Halobacter Supplemented Activated Sludge, **Environmental Engineering Science**, v.22, n.2, p. 170-176, 2005.

KLUSENER FILHO, L. C. **Processo de Decisão**: Disposição do Lodo da Estação de Tratamento de Esgotos de Santa Maria -RS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL,25. 2009, Recife. Anais...Recife: ABES. Relação de trabalhos, 2009.

KNOBLAUCH, R. et al . Volatilização de amônia em solos alagados influenciada pela forma de aplicação de ureia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa , v.36, n.3, p. 813-822, Jun. 2012.

KUMAR, R. et al. Chemical modifications of natural fiber for composite material", **Pelagia Research Library: Der Chemica Sinica**, v.2, n.4, pp. 219-228. 2011.

LEITA, L.; NOBILI M. de. Water-soluble fractions of heavy metals during composting of municipal solid waste. **Journal of environmental quality**, v.20, n.1, p. 73-78, 1991.

LIBRA, J. A. et al. Competition Strategies for the Decolorization of a Textile-Reactive Dye With the White-Rot Fungi *Trametes versicolor* Under Nonsterile Conditions, Inc. **Biotechnol Bioeng**, v.82, p. 736–744, 2003.

LOEPPERT R. H.; SUAREZ D. L. Carbonate and gypsum. In: Methods of soil analysis part 3: Chemical methods (Eds: Sparks DL, Page AL, Helmke PA, Loeppert RH, Soluanpour PN, Tabatabai MA, Johnston CT, Sumner, ME). **Soil Science Society of America**, Inc. and American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wisconsin, USA. p. 437-73. 1996.

LOLL, M. J.; BOLLAG, J. M. "Protein transformation in soil. **Advances in Agronomy**, v.36, p. 351-382, 1983.

MAZIERO, R. et al. Screening of basidiomycetes for the production of exopolysaccharide and biomass in submerged culture. **Revista de Microbiologia**. v.30, p. 77-84, 1999.

MCCORMICK, M. A. et al. Characterization of the wood decay fungi *Fomes fasciatus* and *F. fomentarius* using sequence analysis, morphology, and growth response to temperature *in vitro*. **Inoculum**, v.63, n.3, June, 2012.

MCCORMICK, M. A. et al. Geography and hosts of the wood decay fungi *Fomes fasciatus* and *Fomes fomentarius* in the United States. **North American Fungi**, v.8, n.2, p. 1-53. 2013.

MACEDO, M. L. H. **Identificação de transcritos de *Ceriporiopsis subvermispora* expressos nas fases iniciais da biodegradação da madeira**. 105p. 2006. Tese (Doutorado em Biologia Estrutural e Celular), Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2006.

MACHADO, M. F. S. **A Situação Brasileira dos Biossólidos**. 109p. 2001. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

MAGAN, N. Ecophysiology: impact of environmental in growth, synthesis of compatible solutes and enzyme production. In: BODDY, L.; FRANKLAND, J.; WEST, P. V. **Ecology of saprotrophic basidiomycetes**. 2. ed. London: Academic Press, p. 63-78. 2008.

MALTA, T. S. **Aplicação de lodos de estações de tratamento de esgotos na agricultura: estudo do caso do município de Rio das Ostras - RJ**. 68p. 2001. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública), Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2001.

MARINO R. H. et al. Melhoramento genético de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. por cruzamentos multispóricos visando a obtenção de isolados resistentes ao calor. **Hoehnea**, São Paulo, v.33, n.3, p. 349-357, 2006.

MATINEZ, F. Role of Exopolymeric Protein on the Settability of Nitrifying Sludges, **Bioresource Technology**, v.94, p. 43-48, 2004.

MATOS, W. O. et al. Especificação redox de cromo em solo acidentalmente contaminado com solução sulfocrômica. **Química Nova**, São Paulo, v.31, n.6, p. 1450-1454, 2008.

MELO, W. J.; MARQUES, M. O. Potencial do lodo de esgoto como fonte de nutrientes para as plantas. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Eds.). **Impacto ambiental do uso agrícola de lodo de esgoto**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, p. 109-142. 2000.

MELO, V. P. et al. Atributos físicos de Latossolos adubados durante cinco anos com biossólido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.1, p. 67-72, jan. 2004.

MELO, W.J et al. Nickel in a tropical soil treated with sewage sludge and cropped with maize in a long-term field study. **Soil Biology and Biochemistry**, v.39, p. 1341-1347, 2007.

MELO, G. M. et al. **Metais Pesados no Ambiente Decorrente da Aplicação de Lodo de Esgoto em Solo Agrícola**. 2007. Disponível em <<http://www.ambientenet.eng.br/TEXTOS/LODO%20ESGOTO.PDF>> Acesso em 06 jun. 2013;

MENDONÇA, E. S.; MATOS, E. S. 2005. **Matéria orgânica do solo: métodos de análises**. Viçosa: UFV, 127p. 2005.

MIRANDA, et al., R. de C. M. et al. Decolorization of laundry effluent by filamentous fungi. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n.18, p. 4216-4224, March, 2010.

MOCELIN, C. **Pirólise de lodo de esgoto sanitário: produção de adsorvente e óleos combustíveis**. 113p. 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica e de Materiais), Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2007.

MODA, E. M. et al. Edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* production on washed and supplemented sugarcane bagasse. **Scientia Agricola**, v.62, p. 127-132, 2005.

MODES, K. S. **Efeito da retificação térmica nas propriedades físico-mecânicas e biológica das madeiras de *Pinus taeda* e *Eucalyptus grandis***. 101p. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

MORAL, R., et al. Characterization of the organic matter pool in manures. **Bioresource technology**, Oxford, v.96, n.2, p. 153-158, jan. 2005.

MOREIRA, F. R.; MOREIRA, J. C. A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. **Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.9, n.1, p. 167-181, 2004.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 729 p. 2006.

MOREIRA NETO, Sérgio L. **Enzimas Lignofílicas produzidas por *Psilocybe castanella* CCB444 em solo contaminado com hexaclorobenzeno**. 110p. 2006. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente), Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 2006.

MOURA, L. F. de; J. O. BRITO Efeito da termorreificação sobre as propriedades colorimétricas das madeiras de *Eucalyptus grandis* e *Pinus caribaea* var. hondurensis. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.39, n.89, p. 69-76, mar. 2011.

MUNARI, F. M. et al. Cinética da secreção de lacases e peroxidases e degradação de fenóis totais em cultivo submerso de *Pleurotus sajor-caju* com efluentes da indústria papeleira. Paper presented at **XIV SINAFERM**, Florianópolis, Brazil. 2003.

MURPHY, J.; RILEY, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Anal Chim Acta**, Oxford, v.27, p. 31-36, 1962.

NEGRÃO, D. R. **Seleção de fungos degradadores de madeira para uso na destoca biológica de *Eucalyptus* spp.** 95p. 2011. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Botucatu, 2011.

NOGUEIRA, E. B. S.; CAVALCANTI, M. A. Q. Cellulolytic fungi isolated from processed oats. **Revista de Microbiologia**, v. 27, p. 7-9, 1996.

NORRIS, D. M. Degradation of ¹⁴C_labeled aromatic acids by *Fusarium solani*. **Appl. Environ. Microbiol**, v.40, p. 376-380, 1980.

O'CONNELL, A. M. Microbial decomposition (respiration) of litter in Eucalyptus forests of south-western Australia: an empirical model based on laboratory incubations. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.22, p. 153-160, 1990.

OGEDA, T. L. et al. Hidrólise Enzimática de Biomassa. **Química Nova**, São Paulo, v.33, n.7, p. 549-1558, 2010.

OKINO, L. K. et al. Ligninolytic activity of tropical rainforest basidiomycetes. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. v.16, p. 889-893, 2000.

OLIVEIRA, C. et al. Solubilidade de metais pesados em solos tratados com lodo de esgoto enriquecido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, n.1 p. 171-181, 2003.

OLIVEIRA, G. S. S. et al.. Microbiologia de sistema de lodos ativados e sua relação com o tratamento de efluentes industriais: a experiência da Cetrel. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.14, n.2, p. 183-191, 2009.

OLSEN, S.R. & SOMMER, L.E. Phosphorus. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H. & KEENEY, Q.R., eds. Methods of soil analysis, Part 2. Chemical and microbiological properties. 2.ed. Madison, **ASA-Soil Science Society American**, p.403-430 (Agronomy Monograph, 9). 1982.

PACHECO, J. W. F. **Curtumes** / José Wagner Faria Pacheco, São Paulo: CETESB, 2005. 76 p. (Série P + L) Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. ISBN. Acessado em 06/05/2013.

PADOVANI, V. C. R. **Composto orgânico de lodo de esgoto como substrato para produção de mudas de árvores nativas e exóticas**. Campinas, UNICAMP, 2006. 161p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

PALLERLA, S., CHAMBERS, R. Reactor development for biodegradation of pentachlorophenol. **Catalysis Today**, v.40, p. 103-111, 1998.

PAMUKOGLU Y, KARGI F. Biosorption of copper (II) ions onto powdered waste sludge in a completely mixed fed- batch reactor: estimation of design parameters. **Bioresource Technology**, v.98, p. 1155-1162, 2007.

PAPAGIANNI, M. "Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes." **Biotechnology Advances**, v.22, n.3, 2004.

PARK, Y. K. et al. Determinação da concentração de b-glucano em cogumelo *Agaricus blazei* Murril por método enzimático. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p. 312-316, 2003.

PEDROZA, E. C. L. et al. **Aplicação de leitos para secagem de lodo gerado em estações de tratamento de esgotos**. In: ANDREOLI, C. Vi. (Org.). Alternativas de uso de resíduos de saneamento. 1 ed. Curitiba: Sermograf Artes Gráficas e Editora Ltda, 2006, v. 1, p. 109-158. 2006.

PEDROZA, M. M. et al. Produção e tratamento de lodo de esgoto: uma revisão. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v.11, p. 147-157, 2010.

PEREZ, J. et al. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. **Int Microbiol**, v.5, p. 53-63, 2002.

PIRES, A.M.M. et al. **Degradação da carga orgânica, condutividade elétrica e pH de um Latossolo tratado com biossólido incorporado ou em superfície** (compact disc). In: FERTBIO2002, Rio de Janeiro, 2002. Resumos. Rio de Janeiro: UFRRJ, 2002.

PLATT, M. et al. Lignocellulose degradation during growth of the mushroom *Pleurotus sp.* Florida on cotton straw. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, v.13, p. 194-201, 1981.

POINTING, S. B.. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.57, p. 20–33. 2001.

PONCSÁK, S. et al. Effect of high temperature treatment on the mechanical properties of birch (*Betula papyrifera*). **Wood Science Technology**, v.1, n.40, p. 647–663, 2006. Disponível em:

<<http://www.springerlink.com/content/g225xlxr896u1422/fulltext.pdf>>. Acesso em: 18 jun. 2013.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Os reinos dos fungos**. EDUNISC, v.2, Santa Cruz do Sul. 829 p. 2002.

RABINOVICH, M. L. et al. Fungal decomposition of natural aromatic structures and xenobiotics: A review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v.40, n.1, p. 1-17, 2004.

RAIJ, B. V. et al. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. 285p.

RAMALHO, R. S. **Tratamiento de Aguas Residuales**. 1ª ed. México: Editora Reverte, S. A., 2003.

RANGEL, O. J. et al. Efeito de aplicações de lodos de esgoto sobre os teores de metais pesados em folhas e grãos de milho. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v.30; p. 583-594, 2006.

RAYNER, A. D. M.; BODDY, L. **Fungal decomposition: its biology and ecology**. Chippenham: John Wiley & Sons, 587p. 1988.

REVOREDO, M.D.; MELO, W.J. Disponibilidade de níquel em solo tratado com lodo de esgoto e cultivado com sorgo. **Bragantia**, Campinas, v.65; p. 679-685, 2006.

ROCHA, T. M.; SHIROTA, R. Disposição de lodo de esgoto. **Revista de estudos ambientais**, v.1, n.3, set/dez. 1999.

RODRIGUES, T., O. **Efeitos da torrefação no condicionamento de biomassa para fins energéticos**. 71p. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais), Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

RODRIGUEZ, C. E. R. et al. Bioremediation of emerging pollutants from sewage sludge by fungal bioaugmentation. **Environmental Engineering and Management Journal.**, v.11, n.3, March. 2012.

RULKENS, W. Sewage Sludge as a Biomass Resource for the Production of Energy: Overview and Assessment of the Various Options. **Energy & Fuels**, v.22, n.1, 2008.

SANEPAR. **Uso e Manejo do Lodo de Esgoto na Agricultura**, Rio de Janeiro : Sanepar/Prosab/Finep. 97p. 1999.

SANTOS, D.S. et al. **Degradação da fração orgânica de lodos de esgoto após aplicação no solo** (compact disc). In: FERTBIO, Rio de Janeiro, 2002. Resumos. Rio de Janeiro: SBCS; SBM; UFFRJ, 2002.

SCHAFFER, E. L. Effect of pyrolytic temperatures on the longitudinal strenght of dry Douglas fir. **Journal of Testing and Ealuation**, v.1, n.4, p. 319-329, 1973.

SCHIRMER, G. K. **Utilização do lodo de esgoto na vermicompostagem e como substrato para a produção de mudas de *Pinus elliottii* Engelm.** 93p. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo), Universidade Federal de Santa Maria, santa Maria, 2010.

SCHUMACHER, M. V. et al. Influência do vermicomposto na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.11, n.2, p. 121-130, 2001.

SCHWARZE, F. W. M. R. et al. Wood decay under the microscope, **Fungal Biology Reviews**, v.21, p. 133 – 170, 2007.

SCOTT G. M. et al. Engineering, scale-up, and economic aspects of fungal pretreatment of wood chips. In: **Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry**, ed Young, R. e Akhtar, M. New York. John Wiley & Sons, p. 341-384. (1998).

SELVAM, K. et al. Biological treatment of a pulp and paper industry effluent by *Fomes lividus* and *Trametes versicolor*. **World Journal Microbiology & Biotechnology**, v.18, p. 523-526, 2002.

SEVERO, E. T. D.; TOMASELLI, I. Efeito do tratamento de vaporização em toras e madeira serrada de *Eucalyptus dunnii* sobre a flexão estática. **Revista Floresta**, v.29, n.3, p. 37-51, 2003.

SILVA, M. L. S. et al. Concentração de metais pesados em grãos de plantas cultivadas com diferentes níveis de contaminação. **Revista de Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.4, p. 527-535, abr. 2007.

SILVA, R. B. **Biorremediação de solos contaminados com organoclorados por fungos basidiomicetos em biorreatores**. 186p. 2009. Tese (Doutorado em Biodiversidade Vegetal e Ambiente), Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 2009.

SILVA, A. M. R. B. da et al. **Avaliação das características físico-químicas de bio sólidos provenientes de estações de tratamento de esgoto doméstico aeróbio e anaeróbio em Pernambuco**. In: 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Disponível em: <http://bases.bireme.br/>. Acesso em 10 de janeiro de 2010.

SILVA, G. A. da et al. Avaliação do potencial de degradação de fungos causadores de podridão branca. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 5, n. 2, abril-junio, p. 225-231, 2010a.

SILVA, J. O. Caracterização do potencial energético e estudo físico-químico do lodo da Estação de Tratamento de Esgoto do DMAE - Uberlândia-MG. 81p. 2011. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal de Uberlândia. 2011.

SOARES, G. M. B. **Aplicação de Sistemas enzimáticos à degradação de corantes têxteis**. 173p. 2000. Tese (Doutorado em Engenharia Têxtil), Universidade do Minho, Braga, Portugal, 2000.

SOARES, P. A.; ROSSELL, C. E. V. **Conversão da Celulose pela tecnologia Organosolv**. NAIPPE/USP. 2006.

SOBRINHO, A. P. Tratamento de esgoto e produção de lodo. In: **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: SABESP, 2001. p. 7-40.

SOMMERS, L.E. et al. Transformations of carbon, nitrogen, and metals in soils treated with waste materials. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.8, p. 287-294, 1979.

SOUZA, A. F.; ROSADO, F. R. Utilização de fungos basidiomicetes em biodegradação de efluentes têxteis. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.2, n.1, p. 121-139, jan./abr. 2009.

STALPERS, J.A. Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture. **Studies in Mycology**, v.16, p. 1-248, 1978.

STANIER, R.Y. et al. **O mundo dos micróbios**. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 1969. 741p.

STEFFEN, K. T. et al. Removal and mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by litter-decomposing basidiomycetous fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v.60, p. 212-217, 2002.

STEVENSON, F.J. **Humus chemistry genesis composition and reactions**. 2.ed. New York : Jonh Willey & Sons, 4943p. 1994.

STOTZKY, G. Microbial respiration. In: BLACK, C.A., ed. **Methods of soil analysis**, Madison: **American Society of Agronomy**, v.2, n.1, p. 1551-1572. 1965.

SUI, Y., THOMPSON, M.L. Phosphorus sorption, desorption, and buffering capacity in a biosolids-amended mollisol. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.64, p. 164-169, 2000.

TAUK, S. M. Biodegradação de resíduos orgânicos no solo. **Revista Brasileira de Geociências**. v.20, p. 299-301, 1990.

TEDESCO, M. J. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 147p. (Boletim Técnico, 5).

TRANNIN, I.C. de B. et al. Atributos químicos e físicos de um solo tratado com biossólido industrial e cultivado com milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, p. 223-230, 2008.

TREMIER, A. et al. A respirometric method for characterising the organic composition and biodegradation kinetics and the temperature influence on the biodegradation kinetics, for a mixture of sludge and bulking agent to be co-composted. **Bioresource Technology**, v.96, p. 169-180, 2005.

TRIGUEIRO, R. M.; GUERRINI I. A. Utilização de biossólido como substrato para a produção de mudas de eucalipto. **Scientia Forestalis** (IPEF), Piracicaba, n.64, p. 150-162, 2003.

URBAIN V., BLOCK J.C., MANEM J. Bioflocculation in Activated Sludge na Analytic Approach, **Water Research**, v.27, n.5, p. 829-838, 1993.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Ecological soil screening levels for barium. Washington: EPA, 2005. 80p. Disponível em: <http://rais.ornl.gov/homepage/eco-ssl_barium.pdf>. Acesso em 06/06/2013.

VAN SOEST, P. J. et al. Methods for dietary fiber, neutral-detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**., v.74, p. 3583-3597, 1991.

VON SPERLING, M. V. **Crerios e dados para uma seleção preliminar de sistemas de tratamento de esgotos**. In: Revista BIO. p. 7-21. São Paulo. 1999.

VON SPERLING, M.; FRÓES, C. M. V. Avaliação do desempenho de uma ETE tipo aeração prolongada com base em três anos de monitoramento intensivo. 2000. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais Disponível em: <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/aresidua/peru/bratar241.pdf> Acesso em 28 de maio de 2013.

VON SPERLING, M. **Lodo de Esgotos**: tratamento e disposição final, 1º. ed., v.6, Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 483 p, v.6. 2001.

VON SPERLING, M.; GONÇALVES, R. F. Lodo de esgotos: características e produção. In: ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. (Org.) **Lodo de esgotos**: tratamento e disposição final. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG; Curitiba: SANEPAR, 2001. 484 p. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias), v. 6. cap. 2, p. 17-67. 2001.

VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C. A. L. Urban wastewater treatment technologies and the implementation of discharge standards in developing countries. **Urban Water**, v.4. p. 105-114, 2002.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**: Lodo Ativado. 2º ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2002.

VON SPERLING, M. V. **Lodos Ativados**. Engenharia Sanitária Ambiental [online]. 2008, 2ª Edição Ampliada; 3ª Reimpressão: 2008, 428 p. ISBN: 85-7041-129-4.

YADAV, K. R. et al. Bioconversion of eucalyptus bark waste into soil conditioner. **Bioresource Technology**, v. 81, n.1, p. 163-165, 2002.