



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI
CAMPUS ALTO PARAÓPEBA
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

**BIODEGRADAÇÃO DO SURFACTANTE LINEAR ALQUILBENZENO
SULFONATO DE SÓDIO PRESENTE EM DOIS DETERGENTES LÍQUIDOS
COMERCIAIS UTILIZANDO FUNGO FILAMENTOSO *Penicillium*
*crustosum***

Sulamita Aparecida Ambrosia dos Santos

Orientador: Enio Nazaré Oliveira Junior

**OURO BRANCO - MG
JUNHO DE 2018**

**BIODEGRADAÇÃO DO SURFACTANTE LINEAR ALQUILBENZENO
SULFONATO DE SÓDIO PRESENTE EM DOIS DETERGENTES
LIQUIDOS COMERCIAIS UTILIZANDO FUNGO FILAMENTOSO**

Penicillium crustosum

Sulamita Aparecida Ambrosia dos Santos- Graduanda Eng. Bioprocessos

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado em cumprimento às
exigências do Curso de Bacharelado em
Engenharia de Bioprocessos da
Universidade Federal de São João del
Rei.**

Orientador: Enio Nazaré Oliveira Junior

**BIODEGRADAÇÃO DO SURFACTANTE LINEAR ALQUILBENZENO
SULFONATO DE SÓDIO PRESENTE EM DOIS DETERGENTES
LÍQUIDOS COMERCIAIS UTILIZANDO FUNGO FILAMENTOSO**
Penicillium crustosum

Sulamita Aparecida Ambrosia dos Santos- Graduanda Eng.Bioprocessos

A Banca Examinadora, composta pelos membros abaixo, avaliou este TCC II:

Prof. Dr. Enio Nazaré Oliveira Júnior – Orientador

Prof^a. Raquel Gomes Oliveira – Examinadora

Karen Sartori Jenuon Gontijo – Examinadora

Ouro Branco, ____/____/____

Ficha de Avaliação do TCC II

Data: _____ Hora de início: _____ Hora de término: _____

Título: BIODEGRADAÇÃO DO SURFACTANTE LINEAR ALQUILBENZENO SULFONATO DE SÓDIO EM DOIS DETERGENTES LIQUIDOS COMERCIAIS UTILIZANDO FUNGO FILAMENTOSO *Penicillium crustosum*

Aluna: Sulamita A Ambrosia dos Santos

Avaliador: _____

Orientador: () SIM () NÃO

Favor avaliar e pontuar cada um dos itens abaixo do Projeto impresso recebido (Texto escrito) e da Apresentação Oral do grupo de acordo com a tabela abaixo. Essa ficha preenchida deve ser entregue ao orientador do projeto, ao final da apresentação do grupo.

Nota	Conceito
0	Péssimo
0.2	Muito ruim
0.4	Ruim
0.6	Bom
0.8	Muito bom
1.0	Excelente

1. Texto escrito

ITEM	NOTA	COMENTÁRIO
1. Qualidade do texto (boa leitura)		
2. Normalização / Padronização		
3. Estrutura, escopo e objetivos		
4. Metodologia utilizada		
5. Resultados		
6. Posicionamento do grupo		
TOTAL 1 (6 pontos)		

2. Apresentação Oral

ITEM	NOTA	COMENTÁRIO
1. Entonação e postura perante a assistência		
2. Qualidade da apresentação (visual, escrita e gestão do tempo)		
3. Clareza e objetividade na exposição		
4. Domínio do assunto		
TOTAL 2 (4 pontos)		

TOTAL GERAL (10 pontos)		
--------------------------------	--	--

Exclusivo para o Orientador

Nota dos avaliadores:

Nota final do Grupo (igual à média aritmética simples das notas dos avaliadores):

RESUMO

Os detergentes são compostos que reduzem a tensão superficial de outras substâncias, sendo assim considerados tensoativos, por A maioria sua formulação conter o surfactante alquilbenzeno linear sulfonado (LAS). Este surfactante é indispensável na formulação de detergentes comerciais, pelo fato de não serem completamente biodegradáveis, podendo ser tóxicos para o ambiente aquático. O objetivo desse trabalho foi analisar a eficiência do fungo filamentoso *Penicillium crustosum* na biodegradação do LAS em dois detergentes líquidos comerciais. Para isso, foi realizado um planejamento estatístico DCCR (Delineamento Composto Central Rotacional) 2^2 com 4 pontos axiais e triplicata no ponto central com duas variáveis independentes (concentrações de sulfato de amônio e LAS) e a variável resposta analisada foi remoção do detergente em porcentagem. Os fungos foram inoculados em meios de cultivo líquidos em frascos cônicos de 125 mL e incubados em *shaker* a 25°C e 180 rpm durante cinco dias. A determinação de surfactante foi realizada por meio do método de azul de metileno (MBAS). As remoções de surfactantes nos meios contendo o detergente A variaram de 67 a 96% e nos meios contendo o detergente B variaram de 76 a 100%. Tais resultados mostram que o fungo *Penicillium crustosum*, foi muito eficiente na biodegradação de LAS, podendo ser uma alternativa interessante para futuras aplicações em tratamentos em efluentes contendo LAS em suas composições.

Palavras chave: Água, biodegradação, surfactante.

SUMÁRIO

RESUMO	1
LISTA DE ABREVIATURAS	4
1. INTRODUÇÃO	5
2. OBJETIVOS	7
2.1. Objetivos gerais	7
2.2. Objetivos específicos	7
3. REVISÃO LITERÁRIA	7
3.1. Legislação e o consumo de surfactantes	7
3.2. Surfactantes	8
3.3. O alquibenzeno linear sulfonado (LAS)	10
3.4. Impactos Ambientais	12
3.5. Biodegradação do LAS	14
3.5.1. Degradação anaeróbia	14
3.5.2. Degradação aeróbia	15
3.6. Fungos e biodegradação	17
3.7. Composição química dos detergentes	19
4. PESQUISA DE MERCADO	21
5. CONTEXTO SUSTENTÁVEL	22
6. METODOLOGIA	22
6.1. Reativação dos fungos	22
6.2. Coleta dos esporos	23
6.3. Contagem de esporos	24
6.4. Curva de crescimento	24
6.5 Cultivo fungico	25

6.6. Análise do surfactante total	26
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
7.1. Contagem dos esporos.....	28
7.2. Curva de crescimento	29
7.3. Curva de calibração do método MBAS.....	30
7.4. Cultivo do fungo <i>P. crustosum</i>	31
8. CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS	2,2-azinobis-3-etilbenzotiazoline-6-sulfonato
AlCl ₃	Cloreto de alumínio
APE	Alquilfenóis etoxilatos
BSA	Soro fetal bovino
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CH ₄	Metano
CMC	Concentração micelar crítica
CO ₂	Dióxido de carbono
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DCCR	Delineamento composto central rotacional
DNS	Ácido 3,5-dinitrosalicílico
DQO	Demanda química de oxigênio
ETE	Estação de tratamento de esgoto
LAS	Linear alquilbenzeno sulfonato de sódio
LAB	Linear alquilbenzeno
LC ₅₀	Concentração letal
LiP	Lignina-peroxidase
Lac	Lacase
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
H ₂ O	Água
HF	Ácido fluorídrico
MBAS	Substâncias reativas ao azul de metileno
MML	Meio mínimo líquido
MnP	Manganês-peroxidase
NaOH	Hidróxido de sódio
(NH ₄) ₂ SO ₄	Sulfato de amônio
NP	Nonilfenol
OMS	Organização Mundial de Saúde
OP	Octilfenol
SO ₃	Óxido sulfúrico
SPC	Sulfofenil carboxílico

1. INTRODUÇÃO

A água é um bem natural de valor inestimável que em muito precede não apenas o aparecimento do homem como também o surgimento de qualquer forma de vida. Porém, para que possa cumprir seu papel de mantenedora das formas de vida, dentre as quais se inclui a humana, a água deve apresentar-se em condições de potabilidade, de modo a poder ser consumida seguramente, sem prejuízos para aquele que a ingere (HERCULIN *et al.*, 2014).

Seus múltiplos usos são indispensáveis a um largo espectro das atividades humanas onde se destacam, entre outros, o abastecimento público municipal e industrial, a irrigação agrícola, a produção de energia elétrica, as atividades de lazer e recreação e a preservação da vida aquática. Todavia, os modelos de desenvolvimento adotados pelo homem para a agricultura, a pecuária, a indústria e os centros urbanos não têm levado em conta, há muito tempo, o meio ambiente (MONTAGNER *et al.*, 2007). Com a consequente utilização dos recursos disponíveis na natureza, a poluição ambiental vem causando alterações que prejudicam a integridade do ar, do solo e da água, e nesse sentido, a poluição compromete a saúde e o bem estar da população. A contaminação dos recursos ambientais subterrâneos e superficiais por compostos orgânicos tóxicos é um dos maiores impasses enfrentados pela geração atual. Ainda que, há uma grande variedade de produtos químicos e processos físicos de tratamento de resíduos tóxicos, a maior parte destes somente se dilui ou são transferidos para outra fase, não ocorrendo a degradação (SILVA, 2013).

Na década de 70, o interesse da comunidade acadêmica e a criação de órgãos de proteção ambiental, como a USEPA (*United States Environmental Protection Agency*), promoveram um aumento no número de pesquisas no mundo todo envolvendo monitoramento dos compostos, definidos como xenobióticos, em diversos ambientes. Inúmeros trabalhos foram publicados alertando para a possibilidade de que muitos fármacos e seus metabólitos poderiam estar presentes no ambiente em concentrações-traço (DAUGHTON *et al.*, 2002).

Dentre esses compostos classificados como contaminantes emergentes estão incluídos alguns fármacos de diferentes classes como: analgésicos, anti-inflamatórios, drogas psiquiátricas, antilipêmicos, antibióticos (de uso humano e veterinário), contrastes de raios X, hormônios e esteróides, além de componentes presentes em protetores solares, produtos de higiene pessoal como fragrâncias contendo grupos nitro, inseticidas repelentes e anti-sépticos, bem como os surfactantes amplamente utilizados no consumo doméstico (MONTAGNER *et al.*, 2007).

Dentre os representantes dos surfactantes aniônicos, o linear alquilbenzeno sulfonato de sódio (LAS) é um surfactante formado por uma cadeia alquílica, composta por 10 a 14 carbonos, e um grupo sulfonado. Encontra-se amplamente em produtos de limpeza devido às suas propriedades tensoativas e baixo custo relativo (OKADA *et al.*, 2009).

Segundo Holt et al. apud Esteves (2010), em esgotos domésticos, a concentração de LAS pode variar entre 1 a 22 mg/L. Uma vez utilizados em detergentes ou outros produtos de limpeza, o LAS pode atingir o meio ambiente como um componente dos efluentes de estações de tratamento, ou como ingredientes de descargas de esgotos não tratados. O LAS é considerado biodegradável nos rótulos de muitos produtos de limpeza. Apesar de sua fácil assimilação em meio aeróbio, sob condições anaeróbias, possui vias metabólicas restritas e consequentemente pode ser bioacumulado, podendo ser tóxico para o ambiente aquático (MONTAGNER et al., 2007).

Esse efeito pôde ser observado em estudos toxicológicos em peixes, os quais podem sentir a presença de surfactantes em concentrações muito baixas (0,001 mg/L). Um dos efeitos tóxicos notados foi a alteração patológica nas brânquias: diminuição do crescimento e atividade de natação prejudicada (MELO, 2013).

Diversos estudos sobre a biodegradação do LAS mostraram que o surfactante sofre maior biodegradação sob uma grande variedade de condições aeróbias e que a dificuldade na sua degradação está ligada ao tamanho da cadeia (GARCÍA et al., 2005).

A biodegradação aeróbia do surfactante pode ser dividida em duas etapas. Durante a primeira etapa, ocorre a quebra da cadeia hidrofóbica do tensoativo, essa quebra diminui alguns de seus efeitos indesejáveis no meio ambiente, tais como a formação de espumas. Na segunda etapa, os produtos resultantes são transformados em CO₂, água e sais minerais. O principal mecanismo de biodegradação do LAS envolve a quebra da cadeia alquílica, seguida do grupo sulfonato e, por fim, do anel benzênico (PENTEADO et al., 2006).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos gerais

O objetivo deste trabalho foi otimizar o processo de biodegradação do surfactante aniônico do tipo linear alquilbenzeno sulfonato de sódio (LAS), dodecil sulfato de sódio, utilizado em detergentes líquidos comerciais, em um efluente sintético utilizando o fungo filamentoso *Penicillium crustosum*.

2.2. Objetivos específicos

- Analisar a eficiência do fungo filamentoso *Penicillium crustosum* na biodegradação do LAS;
- Analisar a cinética de crescimento e produção de massa seca do fungo na presença de glicose e surfactante como fontes de carbono;
- Analisar o comportamento do micro-organismo na presença de diferentes concentrações das fontes de substrato se pode ocorrer inibição de crescimento pelo excesso destes constituintes;
- Determinar a melhor relação existente entre as fontes de carbono disponíveis para a cultivo.

3. REVISÃO LITERÁRIA

3.1. Legislação e o consumo de surfactantes

O consumo de surfactantes é de cerca de 8 milhões de toneladas por ano no mundo. O LAS representa cerca de 25 a 30% de todos os surfactantes utilizados (PENTEADO *et al.*, 2006). A produção de detergentes no Brasil tem crescido expressivamente ao longo dos anos, estima-se que a produção nacional representa cerca de 10% da produção mundial e deixa o país entre os maiores fabricantes de detergentes (PENTEADO *et al.*, 2006). O Brasil é responsável por quase metade das vendas de produtos de limpeza da América Latina. Porém, o efeito causado pela contaminação das águas vem aumentando devido à falta de saneamento básico.

As descargas indiscriminadas de detergentes nas águas levam a formação de espumas além de exercer efeitos tóxicos sobre os ecossistemas aquáticos. No Brasil os efeitos causados pelo descarte inadequado de detergentes se tornam comuns devido à falta de tratamento de efluentes. Dados do ministério das cidades relatam que menos de 44% da população brasileira está ligada a uma rede de coleta de esgoto sendo que somente um terço do esgoto coletado é tratado (MINISTERIO DAS CIDADES, 2015).

O Brasil aprovou no ano de 1977 o decreto nº 79.094 que proíbe a produção, o comércio e ou importação de tensoativo aniônico não biodegradável (PENTEADO *et al.*, 2006). Assim o Brasil ainda é atrasado para definir as diretrizes em relação à produção e especificações dos detergentes. Em comparação, a Europa possui uma regulamentação mais ampla para detergentes que lista a biodegradabilidade nos rótulos dos produtos, as informações de segurança e ainda descreve os testes realizados nos mesmos.

Em muitos países assim como o Brasil, a avaliação de detergentes nos rios, mananciais e águas costeiras são feitas pelo método não específico MBAS (Substâncias Ativas ao Azul de Metileno (“Metilene Blue Active Substances”) que consta do “*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*”. O método MBAS depende da formação de um complexo entre o detergente e o azul de metileno, no entanto, outros materiais aniônicos podem ligar-se ao azul de metileno. A CETESB é pioneira na utilização do método no Brasil. Por meio de estudo detalhado feito no estado de São Paulo no período de 1993 a 2003 foi possível estabelecer um parâmetro para manter a sobrevivência e a reprodução dos organismos vivos presentes nas águas. O artigo feito pela CETESB está incluído no artigo 7, decreto 88.351 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) que define um índice menor ou igual a 0,5mg MBAS/L que consta do “*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*”.

3.2. Surfactantes

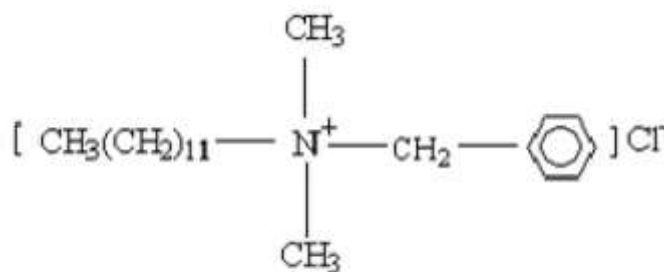
Os surfactantes ou tensoativos formam um importante grupo de compostos químicos amplamente utilizados na indústria. Eles são compostos que reduzem a tensão superficial ou tensão interfacial entre dois líquidos, ou entre um líquido e um sólido. Os surfactantes podem funcionar como detergentes agentes molhantes, emulsionantes, agentes de formação de espuma e dispersantes (VICENTE, 2004). Os surfactantes são moléculas anfipáticas constituídas de uma porção hidrofóbica e uma porção hidrofílica. A porção apolar é frequentemente uma cadeia de hidrocarbonetos enquanto a porção polar pode ser iônica, não aniônica ou anfotérica (MELO, 2013).

A classificação dos surfactantes é feita com base na carga da cabeça hidrofílica. É comum dividir os surfactantes em: aniônicos, catiônicos e os zwitteriônicos. Sendo este anfotérico, encontradas na sua estrutura molecular cargas positivas e negativas. Dependendo do pH, os surfactantes zwitteriônicos pode ser catiônico ou aniônico (PENTEADO *et al.*, 2006).

Os surfactantes catiônicos são compostos que quando em dissolução o grupo ativo fica carregado positivamente. A estrutura química de um surfactante catiônico está representado na figura

1. Quando em contato com os surfactantes aniônicos formam precipitados insolúveis (BONFIM, 2006).

Figura 1: Surfactante catiônico.

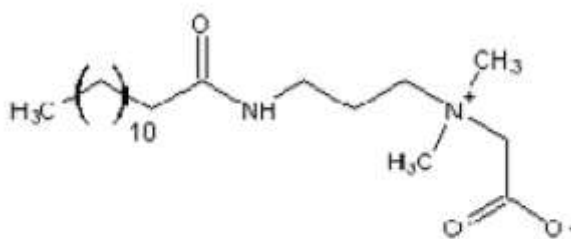


Cloreto de dodeciltrimetilbenzilamônio

Fonte: BONFIM, 2006.

Os surfactantes zwitteriônicos desenvolvem uma carga positiva ou negativa dependendo do pH do meio. Eles possuem em sua molécula grupos ácidos e básicos, podendo agir como detergentes aniônicos ou catiônicos, porém, agem melhor em pH neutro. Em geral os surfactantes anfotéricos são aplicados na produção de xampus e limpadores de pele (BONFIM, 2006).

Figura 2: Surfactante zwitteriônicos



Cocoaminopropil betaina

Fonte: BONFIM, 2006.

Os surfactantes mais comumente utilizados são os aniônicos devido à simplicidade e ao baixo custo de produção representando cerca de 80% da produção total de surfactantes (VICENTE, 2004). A presença dos íons sódio, potássio, amônio, cálcio e várias aminas alquilprotonadas, fornecem diferentes solubilidades a estes compostos em água ou em óleo. Dentre os grupos

hidrofílicos presentes nos tensoativos aniônicos destaca-se os grupos funcionais hidroxila, aminas, carboxilas, sulfônicas e sulfatos. A Tabela 1 destaca os surfactantes aniônicos.

Tabela 1. Classificação dos surfactantes aniônicos

Surfactantes aniônicos	
Alquiбенzenosulfonatos	Ácidos graxos alfa-sulfonado
Álcool sulfatos	Ácidos graxos sulfonados
Alcooletersulfatos	Mono e Di-ester sulfonados
Alquil fenol éter sulfatos	Sulfosuccionamatos
Alfa-olefina sulfatos	Petróleo sulfonadados
Amidas graxas éter sulfatos	Ésteres fosfatos
Parafina alcano sulfatos	Ligno sulfonados

Fonte: PENTEADO et al., 2006.

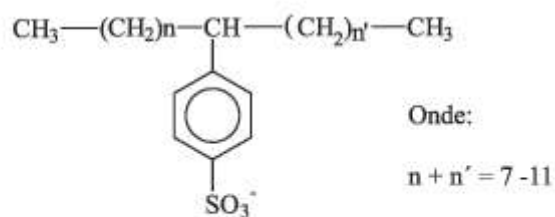
Dentre os surfactantes citados na Tabela 1 destacam-se os alquiбенzenosulfonados e alquilsulfatos que são sintetizados em ampla escala para a produção de detergentes.

3.3. O alquiбенzeno linear sulfonado (LAS)

O alquilbenzeno linear sulfonado (LAS) é um tensoativo aniônico sintético introduzido nos anos 60 em substituição ao alquilbenzeno sulfonado (ABS) na fabricação de detergentes. A substituição ocorreu devido à preocupação das autoridades pelos impactos causados pelo alquilbenzeno sulfonado (ABS) nos corpos d'água. O LAS, por ser considerado biodegradável causaria menos impacto (SOUZA, 2009).

O LAS é composto por misturas de surfactantes aniônicos no qual possui uma parte hidrofílica e outra hidrofóbica (ESTEVES, 2010). A porção hidrofóbica é constituída de uma cadeia alquílica ligada a um anel aromático, sendo que a cadeia alquílica pode conter de 10 a 14 átomos carbonos. A parte hidrofílica é formada por grupos sulfonados aniônicos que podem ser ligados a qualquer átomo com exceção aos carbonos terminais da cadeia alquílica (PENTEADO et al., 2006). A presença da estrutura hidrofóbica e hidrofílica na molécula do LAS assim como em outros surfactantes causa uma redução da tensão superficial (DELFORNO, 2014). A diminuição da tensão superficial faz com que o tensoativo dificulte a formação de gotas possibilitando a emulsificação e a solubilização de partículas insolúveis e imiscíveis. Propriedade essa que lhe confere uma gama de aplicações nas indústrias de agroquímicos, fármacos, entre outros, porém, a maior utilização concentra-se nas indústrias de produtos de limpeza.

Figura 3. Estrutura molecular do LAS

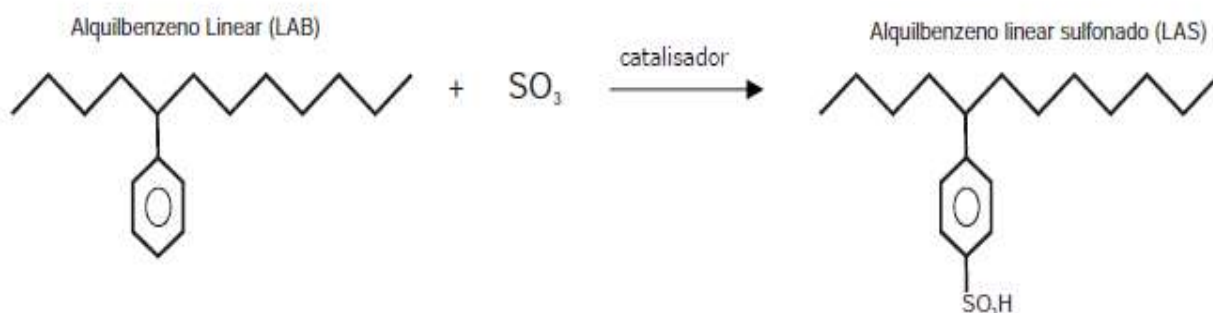


Fonte: PENTEADO *et al.* (2006).

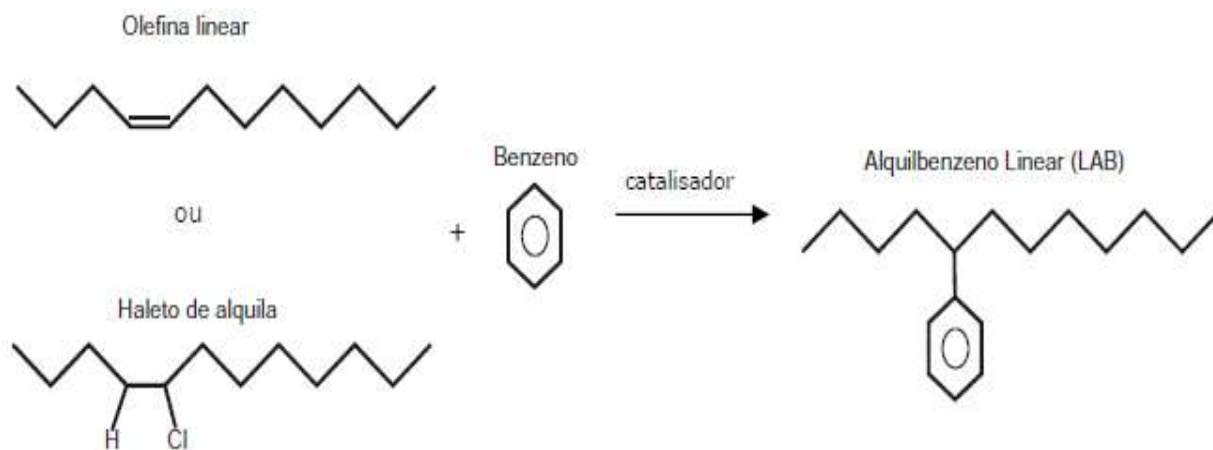
O LAS é produzido pela reação de sulfonação do alquilbenzeno linear (LAB), utilizando como agentes sulfonantes o H_2SO_4 concentrado, oleum ou SO_3 gasoso. A produção com SO_3 tem se tornado mais comum devido ao aumento da utilização de reator com filme descendente tornando a produção mais eficiente e produzindo um produto de melhor qualidade (PENTEADO *et al.*, 2006). Já o LAB é produzido por meio da reação de alquilação de Friedel-Crafts do benzeno com oleofinas lineares ou haletos de alquilas, usando como catalisadores HCl , AlCl_3 , misturas de zeolitas e óxidos metálicos com mostrado na Figura 4. Dependendo do processo e do catalisador utilizado o LAS pode conter de 1 a 3% de LAB devido a reação ser incompleta (SOUZA, 2009). Comercialmente o LAS é vendido como uma mistura de inúmeros homólogos devido ao tamanho da cadeia alquilica e isômeros devido a posição do anel aromático (PENTEADO *et al.*, 2006).

Figura 4. A) reação de sulfonação do LAB para obtenção do LAS. B) reação de uma oleofina ou haleto de alquila para obtenção do LAB.

a) Reação de sulfonação



b) Reação de alquilação



Fonte: PENTEADO *et al.* (2006).

O LAS é considerado um poluente emergente e sua toxicidade aos micro-organismos, plantas, animais terrestres e humanos são bem elucidados. Estudos ecotoxicológicos verificaram a toxicidade de LAS em organismos aquáticos e relataram bioacumulação em *Daphnia magna* e no peixe *Cyprinus carpio* (CAROSIA, 2011).

3.4. Impactos Ambientais

Impactos ambientais são causados pelo descarte indiscriminado de tensoativos incluindo o LAS em mananciais das cidades e no mar, acompanhados de efluente industrial sem tratamento.

Apesar de ser biodegradável o LAS em despejos de grande proporção afeta consideravelmente a vida aquática (PENTEADO et al., 2006).

A formação de espumas é um dos grandes problemas causados por tensoativos em geral, tanto em corpos d'água quanto nas estações de tratamento. As espumas formadas podem carrear gases tóxicos e bactérias patogênicas por longa distância por ser composta de material leve além de causarem a inibição dos micro-organismos responsáveis pelos processos de depuração natural. O tamanho da cadeia linear e a posição do grupo fenila na cadeia alquilica interfere na constante de biodegradação (PENTEADO et al., 2006).

Figura 5: Espumas formadas no rio Tietê.



Fonte: Witter Veloso/Tem (2015)

Os surfactantes aniônicos podem se ligar a macromoléculas como amidos, proteínas e peptídeos, modificando sua estrutura e causar mudanças nas suas propriedades biológicas, afetando a toxidez destes produtos ao homem, provocando irritações nos olhos e na pele (SOUZA, 2009).

Além disso, segundo BONFIM (2006), o LAS sob determinadas concentrações, pode inibir a respiração dos micro-organismos, a ação de enzimas na nitrificação e mineralização, impossibilitando uma completa biodegradação dos efluentes.

A produção do LAS assim como os diversos processos industriais também causa impactos ao ambiente dentre eles a liberação de óxidos de nitrogênios, enxofre e hidrocarbonetos (LENHARD, 2006).

3.5. Biodegradação do LAS

A degradação do LAS pode ser feita por vias físicas e/ou físico-químicas. Entretanto, as vias biológicas merecem destaque devido à alta remoção e facilidade de aplicação. Sabe-se que o LAS pode ser biodegradado pela flora natural dos rios quando se encontra em temperaturas e concentrações ideais (SOUZA, 2009). Essas condições dificilmente são encontradas o que leva ao grande número de pesquisas na área.

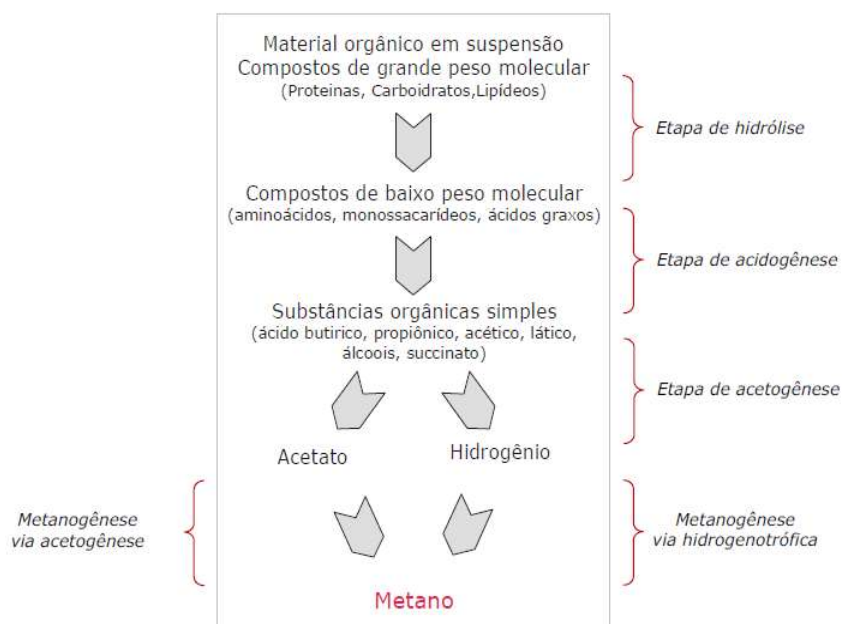
Segundo Bofim (2006), quanto maior for o tamanho da cadeia carbônica, maior será a toxicidade aquática, quanto mais larga e menos ramificada for a cadeia carbônica, melhor será a biodegradabilidade, como é o caso do LAS.

A biodegradação pode ocorrer por vias aeróbicas ou anaeróbicas, sendo a primeira mais comum atingindo altos níveis de remoção. Vários fatores influenciam na biodegradação do LAS, como a concentração de oxigênio dissolvido, complexação com tensoativos catiônicos provenientes de sais insolúveis, nutrientes orgânicos e variações de pH na degradação aeróbia (PENTEADO et al., 2006).

3.5.1. Degradação anaeróbia

O processo anaeróbio utiliza-se da matéria orgânica particulada presente no meio e dos compostos orgânicos como fontes de aceptores de elétrons. A degradação anaeróbia é dividida entre quatro grupos de micro-organismos e cada um desempenha uma função (SOUZA, 2009). O primeiro grupo é composto por bactérias fermentativas que por meio de reações de hidrólise, transformam polímeros em monômeros. O segundo grupo formado pelos micro-organismos acidogênicos, utilizam os monômeros provenientes da hidrólise produzindo ácido butanoico, propiônico e acético e substâncias como, succinato, lactato e etanol. Enquanto o terceiro dos micro-organismos, que são os acetogênicos, usam os produtos da etapa anterior como fonte de hidrogênio para a produção de acetato, hidrogênio e gás carbônico. O resultado final é a conversão de acetato e hidrogênio a metano ocorrendo à completa mineralização da matéria (SOUZA, 2009).

Figura 6. Esquema da degradação anaeróbia.



Fonte: SOUZA, 2009.

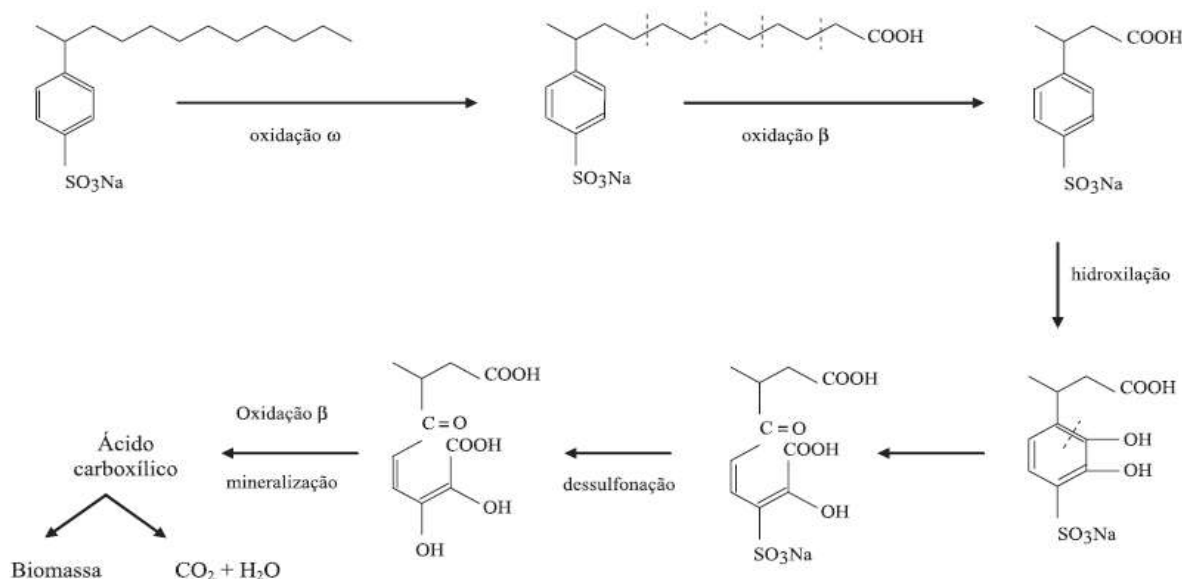
3.5.2. Degradação aeróbia

A degradação via aeróbia, tem sido cada vez mais abordada, visto que existe uma gama de micro-organismos capazes de degradar de maneira eficiente o LAS, estima-se que 99,9% do surfactante é degradado por essa via. Bactérias, fungos, protozoários e rotíferos são alguns dos micro-organismos presentes nas estações de tratamento de esgoto (ETE) na degradação do LAS. A degradação aeróbia ocorre em duas etapas, a primeira etapa corresponde à quebra da cadeia hidrofóbica do surfactante, aumentando a concentração micelar crítica. A quebra da cadeia hidrofóbica acarreta na diminuição de formação de espuma. Na segunda etapa o material resultante da primeira é convertido em gás carbônico, água e sais minerais (PENTEADO *et al.*, 2006).

Os mecanismos de degradação do LAS ocorrem da seguinte forma, primeiramente ocorre uma oxidação enzimática na qual a cadeia carbônica pertencente ao grupamento hidrofóbico é oxidada por ω -oxidação. Forma-se então um álcool seguido de aldeído e finalmente ácido carboxílico. O grupamento hidrofóbico é então quebrado ficando apenas com cadeias com dois átomos de carbono, a reação é chamada de β -oxidação e é feita por enzimas chamadas de monooxigenase e deidrogenases. O produto é o gás carbônico, água e sais minerais. A segunda parte pode ser elucidada da seguinte forma: a parte da cadeia hidrofóbica ligada ao grupo fenila não

pode ser quebrada pelas enzimas monooxigenase. Sendo assim, o número de carbonos que permanecem ligados ao grupamento fenila sofre variações dependendo do tamanho inicial da molécula. A molécula que restou da degradação inicial é chamada de sulfofenilcarboxilato (SPC), o anel desta molécula é quebrado por hidroxilação e a dessulfonação (PENTEADO *et al.*, 2006). A rota de degradação aeróbia do LAS é exemplificada pela Figura 7.

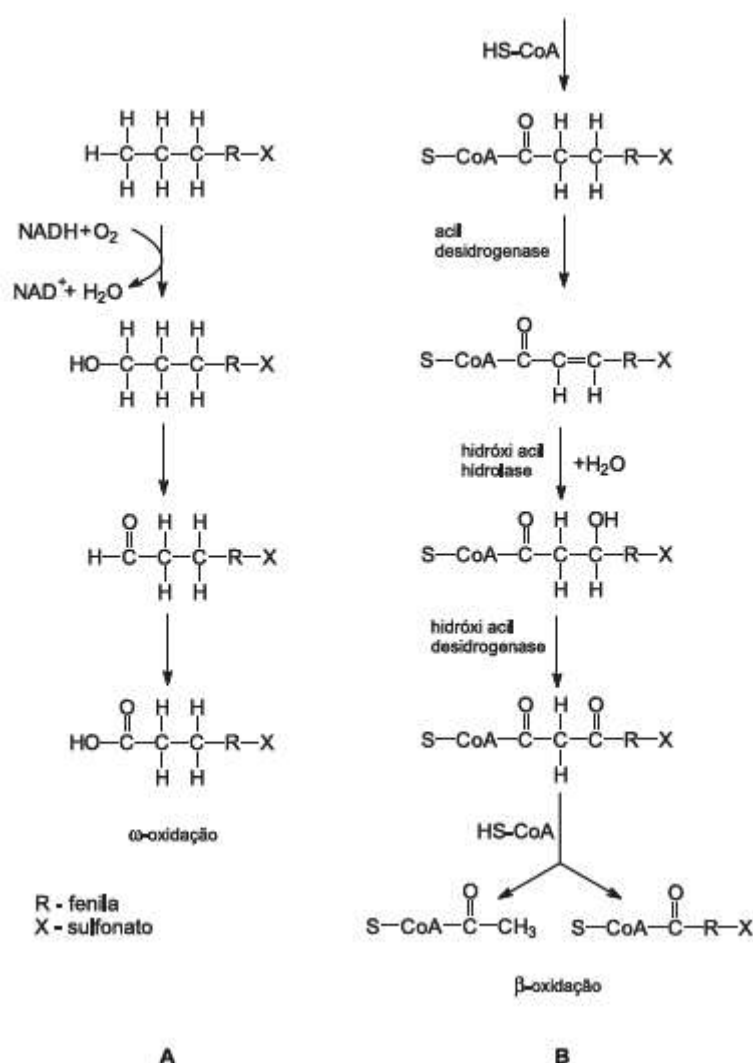
Figura 7. Biodegradação aeróbica do LAS.



Fonte: PENTEADO *et al.* (2006).

O monitoramento do SPC formado da degradação do LAS tem se tornado essencial, uma vez que têm mostrado que sua toxicidade não está ainda bem definida. Contudo, estudos de remoção microbiana do LAS tem se tornado cada vez mais comum devido à alta taxa de remoção, justificando a importância das pesquisas.

Figura 8. Oxidação ω (A) e β (B) da cadeia alquílica do surfactante.



Fonte: PENTEADO et al., 2006

3.6. Fungos e biodegradação

O emprego de micro-organismos no tratamento de efluentes se mostra uma alternativa sustentável e de baixo custo. Estudos realizados por Costa 2014, com fungos filamentosos mostram-se eficientes na remoção do LAS, pertencente à classe dos surfactantes mais utilizados como princípio ativo de detergentes domésticos (COSTA, 2014).

Os fungos são organismos heterotróficos, geralmente aeróbios e adaptados a ambientes diversos, onde podem existir como saprófitas, parasitas ou simbioses. Os fungos degradam a matéria orgânica, transformando-a em formas químicas simples que retornam ao solo. Podem se desenvolver em meios de cultivo especiais, formando colônias de dois tipos leveduriformes e filamentosa. Sua reprodução pode ser tanto assexuada, por meio de brotamento, fragmentação ou

produção de esporos, quanto sexuada, por meio do encontro de indivíduos de sexos diferentes (BAPTISTA, 2011).

Os fungos estão presentes há mais de 3,5 bilhões de anos, sendo as mais versáteis e adaptáveis formas de vida na Terra. Apesar de muitas vezes estarem associados ao aspecto negativo, pelo lado patogênico, apresentam diversos benefícios, principalmente na indústria de alimentos – produção de queijos, vinhos e pães (SILVA, 2013).

A maioria dos fungos é multicelular, formando uma rede de filamentos denominados hifas (Figura 8), que são paredes celulares tubulares que envolvem a membrana plasmática. As unidades de reprodução dos fungos filamentosos são denominadas conídios ou esporos, os quais são capazes de resistir a condições adversas tanto ambientais quanto químicas e podem variar morfológicamente de acordo com a espécie (SILVA, 2013).

A capacidade de tais substrato pelos fungos é um resultado da ação de enzimas não específicas produzidas por eles, tais como, a lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase (SILVA, 2013). Por apresentarem baixa especificidade para o substrato, ou seja, podendo atuar com eficácia em diversos componentes orgânicos, pode-se afirmar que esses micro-organismos são interessantes para o tratamento de resíduos de diversas características, como por exemplo, efluentes contendo surfactantes (SILVA, 2013).

Os fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* são conhecidos por produzirem compostos hidrolíticos e oxidativos, tais como enzimas, e apresentam capacidade de transformar orgânicos tóxicos em substâncias de fácil assimilação, utilizando-os como substrato para o crescimento (COSTA, 2014).

Silva (2014) relata um estudo utilizando o processo de biodegradação apresentou reduções próximas a 90% de LAS, em alguns casos chegando alcançar 95%. A maior redução (95,36%) foi alcançada pelo *P. crustosum* com 3 mg/L de LAS e 13,55 g/L de glicose. Em condições parecidas o *P. chrysogenum* também apresentou 94,64% de biodegradação na presença de 3 mg/L de LAS e 6,45 g/L de glicose.

Silva (2014) afirma que o processo de degradação, empregando fungos filamentosos, é um método interessante para ser inserido como um processo de tratamento após as etapas convencionais, uma vez que, os melhores resultados foram observados em baixas concentrações de LAS. Visando, atingir maiores reduções destes compostos que se classificam como substâncias tóxicas aos organismos vivos e mesmo assim são altamente empregados em processos de higienização, o que os tornam presentes em grandes quantidades nos recursos hídricos do planeta.

Os estudos nessa área biológico devem ser contínuos, a fim de avaliar a eficiência do tratamento, bem como, a toxicidade dos subprodutos da biodegradação do LAS em ambientes reais, onde uma gama de interferentes e uma alta carga orgânica (COSTA, 2014).

3.7. Composição química dos detergentes

Os detergentes, bem como os sabões e outros produtos de limpeza, são compostos que reduzem a tensão superficial de outras substâncias, sendo por isso, considerados tensoativos. Desta forma, são compostos químicos projetados para terem propriedades de limpeza ou solubilidade (MUNGRAY *et al.*, 2009).

Em sua constituição, os detergentes possuem surfactantes. Essa palavra deriva da abreviação de agente ativo de superfície, que em outras palavras já denota a sua função, ativo a uma superfície, tendo capacidade para absorver a superfícies e interfaces (HOLMBERG *et al.*, 2002).

Os surfactantes são de grande valor econômico, uma vez que são amplamente utilizados em detergentes domésticos, produtos de higiene pessoal, indústria têxtil, mineração, formulação de polímeros, pesticidas, fármacos e indústrias de papel e tintas (YING, 2006). Em 1993, a produção mundial de surfactantes sintéticos foi estimada em mais de 7,2 milhões de toneladas (DI CORCIA, 1998).

Em valores mais atualizados, conforme Research and Markets (2015), o mercado global de surfactantes poderá alcançar uma produção de 24.037,43 Kton, movimentando uma quantia 42.120,4 milhões de dólares em 2020. Em 2014, os surfactantes aniônicos dominaram o mercado com um volume de 7.686,1 Kton, seguidos pelos surfactantes não iônicos que somaram uma porção de 6.345,7 Kton no mesmo ano.

Os surfactantes podem ser naturais ou sintéticos, com uma parte da cadeia orgânica lipofílica (ou hidrofóbica) e outra hidrofílica em sua estrutura, responsáveis pela adsorção de moléculas tensoativas nas interfaces líquido-líquido, líquido-gás ou sólido-líquido de um dado sistema (HUNTER, 1992 apud ROSSI *et al.*, 2006).

A tendência de se acumularem nas interfaces é uma propriedade fundamental dos agentes tensoativos. Entretanto, esse fato depende da estrutura do composto e também da natureza das duas fases que se encontram na interface em questão. Desta forma, o surfactante a ser utilizado dependerá de sua aplicação. Alguns são apenas solúveis na interface água e óleo, sendo muito eficientes na redução da tensão interfacial (HOLMBERG *et al.*, 2002).

A cadeia carbônica é a parte apolar da estrutura molecular da substância, enquanto a “cabeça” hidrofílica pode ser uma porção iônica (aniônica e catiônica), não iônica ou também anfótera (DESAI *et al.*, 1997). Essa estrutura dual confere ao surfactante a capacidade de formar micelas em solução, desta forma, fornecendo as características de detergência e solubilização. Em um meio aquoso e em baixas concentrações, as moléculas de surfactante estão na forma de

monômeros, entretanto, em altas concentrações, a energia livre do sistema pode ser reduzida pela agregação das moléculas em micelas, com a porção hidrofóbica voltada para dentro e a porção hidrofílica em contato com o meio externo (HAIGH, 1996).

A concentração na qual esse fenômeno ocorre é conhecida como concentração micelar crítica (CMC). Acima dessa concentração, os surfactantes têm a habilidade para solubilizar mais moléculas orgânicas hidrofóbicas do que se poderia dissolver unicamente na água (YING, 2006).

Dentre os grupos apolares presentes na molécula, destacam-se a cadeia carbônica com mais de 10 átomos de carbono e os anéis aromáticos. Já para o grupo hidrofílico destacam-se os grupos funcionais descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Principais grupos funcionais hidrofílicos presentes nos surfactantes.

Grupos funcionais	Fórmulas
Hidroxilas	- OH
Aminas	- NH ₂
Carboxilas	- COOH
Sulfônicos	- SO ₃ H
Sulfatos	- OSO ₃ ⁻
Alcoxilados	- (OCH ₂ CH ₂) _n -OH

Fonte: (SILVA *et al.*, 2003)

Inicialmente, os detergentes não eram compostos biodegradáveis e permaneciam durante muito tempo no meio ambiente. Os surfactantes utilizados eram de cadeia ramificada, produzidos a partir da sulfonação do tetrâmero de propileno e do benzeno, dificultando a ação microbiana. Além de possuírem problemas com a degradabilidade, estavam relacionados à grande geração de espumas nas superfícies aquáticas. Com o passar do tempo e com a pressão de ambientalistas e da legislação, os surfactantes passaram a conter uma fórmula estrutural com cadeia carbônica linear, uma estrutura que possui maior probabilidade de ser biodegradada (METCALF *et al.*, 2003 apud COSTA *et al.*, 2007).

Outro tipo de surfactante muito comercializado no país é o nonilfenol (NP) – pertencente à classe dos alquilfenóis etoxilados (APE) – sendo formado pela alquilação do fenol com uma mistura de isômeros do nonano (ou noneno, por exemplo) em presença de catalisador ácido (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

Vale lembrar que os seres humanos estão amplamente expostos aos AP (alquilfenóis) pela ingestão de água contaminada, alimentos contaminados e até pela água potável. Tanto o NP quanto o OP (octilfenol) foram detectados em diferentes alimentos (LU *et al.*, 2007) e tem sido sugerido

que esses compostos, quando presentes em recipientes de plástico, podem migrar para os alimentos e para os líquidos (LOYO-ROSALES *et al.*, 2004).

Em relação à toxicidade do LAS, tem sido relatado que mesmo a concentração de $0,2 \text{ mgL}^{-1}$ pode ter efeito tóxico crônico sobre a biota aquática (HOFER *et al.*, 1995), influenciando negativamente a homeostase microbiana, já que podem causar a desnaturação de enzimas e o rompimento das membranas celulares, dificultando a excreção de metabólitos tóxicos (CSERHÁTI, 2002).

Ainda que seja biodegradado no meio ambiente, a parcela do surfactante aniônico presente em lodos, após tratamento, ou em materiais particulados e suspensos, muitas vezes são encontrados no solo devido à disposição final do material, bem como, reutilização da água na agricultura (BOLUDA-BOTELLA *et al.*, 2010).

Conforme PENTEADO *et al.* (2006), o reaproveitamento do lodo de estações de tratamento na agricultura exige critérios cuidadosos, pois, o LAS pode estar presente em altas concentrações, sendo $0,5 \text{ g.kg}^{-1}$ em lodos aeróbicos e 1 a 30 g.kg^{-1} em lodos anaeróbicos. O processo de biodegradação é uma importante ferramenta para tratar esgotos contaminados com surfactantes, em estações de tratamentos e nos ambientes naturais, reduzindo o impacto ocasionado na biota. Os micro-organismos podem utilizar esses poluentes como fonte de nutrientes ou co-metabolizá-los por meio de suas vias catabólicas (MUNGRAY *et al.*, 2009).

4. PESQUISA DE MERCADO

Há vários anos o uso de detergente de comercial (cozinha) vêm sendo analisados rigorosamente mais precisamente desde a década de 1960, quando os EUA proibiram pela primeira vez a produção de alguns desses produtos por serem altamente poluentes e de difícil degradação, chamados de alquil benzeno sulfonato de sódio (NETO & DEL PINO, 2001).

Os perigos desses detergentes não biodegradáveis quando lançados em rios ou coletados pelas estações de tratamento de esgoto (ETE), são responsáveis pela poluição chamada de “cisnes-de-detergentes”, devido à ação do produto na água, formando uma camada de espuma esbranquiçada e densa, que impede a dissolução do oxigênio na água, afetando diretamente a ação dos micro-organismos aeróbicos aquáticos.

Uma solução foram os sabões e detergentes biodegradáveis. Basicamente, eles diferem dos normais por possuírem uma cadeia carbônica linear, que é facilmente degradável pelas enzimas produzidas pelos micro-organismos presentes na água. Depois da decomposição feita por esses micro-organismos, as moléculas que os compunham não são mais nocivas ao ambiente.

A pesquisa foi realizada em quatro diferentes supermercados da cidade de Ouro Branco / MG, por questões éticas manteve as informações coletadas relacionadas ao preço, visibilidade da característica de biodegradabilidade, preferência dos consumidores, motivo de suas compras, além do conhecimento do termo biodegradável em sigilo. Embora os clientes não possuem informações sobre biodegradação e os riscos dos mesmos, coincidentemente as marcas mais vendidas são consideradas biodegradáveis.

5. CONTEXTO SUSTENTÁVEL

Durante o século XX, os impactos ambientais provenientes do setor industrial, das forças de mercado sobre o ambiente natural, da concentração de capital nas mãos de poucos e do crescimento populacional deflagraram crises extremamente complexas de serem resolvidas (MAIA *et al.*, 2011). A intensificação de crises ambientais estimulou a produção científica no âmbito da sustentabilidade (JACOBI *et al.*, 2011).

Nesse contexto, o uso de fungos como uma tecnologia para o tratamento de efluentes visando a remoção surfactantes, principalmente, pela grande variedade de enzimas produzidas por eles por meio de seu metabolismo, dentre elas, destacam-se as peroxidases (lignina peroxidase e manganês peroxidase) e lacases. Por apresentarem baixa especificidade para o substrato, essas enzimas podem atuar em diversos componentes orgânicos, incluindo os surfactantes, garantindo também a sobrevivência desses eucariotos em ambientes contaminados com substâncias recalcitrantes (COSTA 2016).

Visto que os surfactantes figuram entre os contaminantes emergentes, sendo encontrados em cursos d'água e bioacumulados em seres vivos, o tratamento biológico traz uma alternativa sustentável, renovável e de baixo custo para a retirada desses compostos orgânicos e outros contaminantes dos efluentes. Além de contemplar o setor econômico e ser promissor no tópico ambiental, o projeto se insere no contexto social por meio da promoção de uma água de melhor qualidade para a sociedade, desta forma, melhorando a qualidade de vida e bem-estar da população (COSTA, 2016).

6. METODOLOGIA

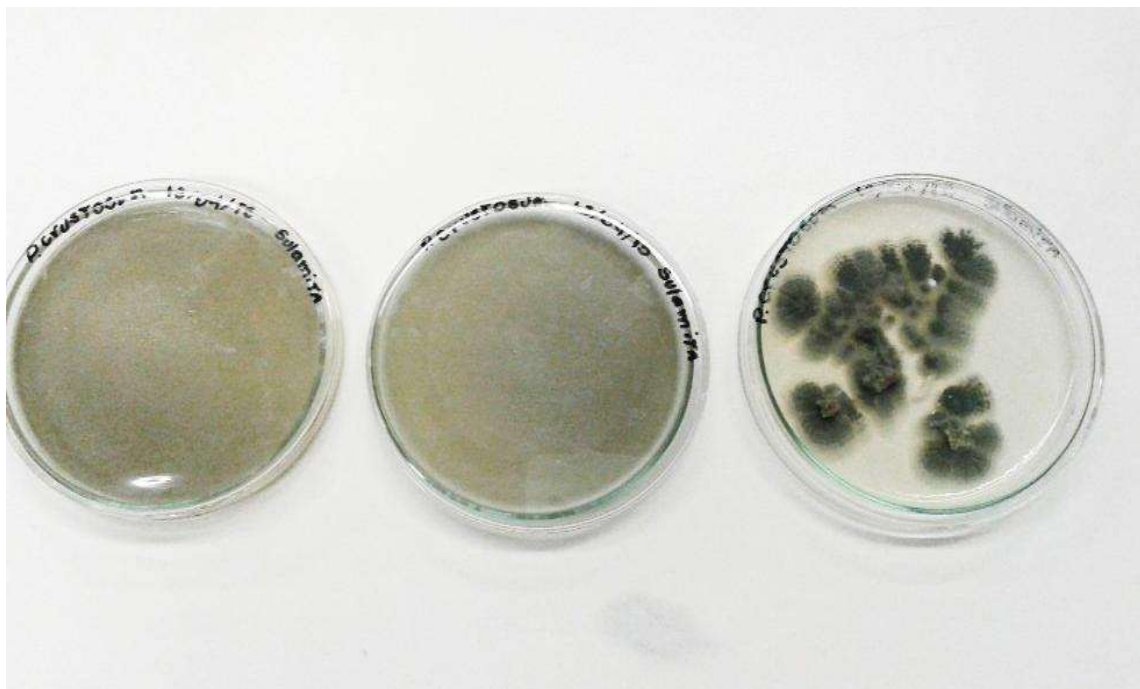
6.1. Reativação dos fungos

Para reativação, foi preparado meio de cultura Batata dextrose ágar 39 g/L. E em um béquer adicionou-se 5,85 g do meio em 150 mL de água destilada. A solução foi adicionada a um

Erlenmeyer de 250 mL. Em seguida, o meio de cultura juntamente com as placas de Petri foram autoclavados.

Utilizou-se o fluxo laminar onde preparou-se 3 placas de Petri para o fungo *P. crustosum* em análise. Pequenos pedaços de ágar contendo os fungos foram retirados dos recipientes de óleo mineral, nos quais os micro-organismos encontravam-se inativos, e inseridos nas respectivas placas de Petri previamente preparadas. Posteriormente as placas de Petri foram deixadas em temperatura ambiente por cinco dias, como mostra a Figura 9.

Figura 9: *P. crustosum*



Fonte: Autora.

6.2. Coleta dos esporos

Preparou-se a solução salina 0,85% (m/v), utilizando 0,85 g de cloreto de sódio em 100 mL de água destilada. Esta solução juntamente com os tubos Falcon, funil de vidro e gase foram autoclavados.

A solução salina foi adicionada na placa de Petri para retirada dos esporos. Com o uso da alça de Drigalski, os micélios e esporos fúngicos foram moderadamente raspados para que os mesmos se soltassem. Após se desprenderem a solução foi vertida em um funil de vidro com gase, apoiado em um *Erlenmeyer*, promovendo assim a passagem da solução contendo os esporos e retenção de hifas e pedaços de ágar. A solução salina contendo os esporos foi armazenada em tubos

do tipo Falcon de 50 mL, os quais foram incubados a 4°C. Este procedimento foi realizado em capela de fluxo laminar de acordo com a Figura 10.

Figura 10: coleta de esporo no fluxo laminar



Fonte: Autora.

6.3. Contagem de esporos

A solução de esporos foi diluída 10 vezes em água destilada. Em seguida utilizou-se uma Câmara de *Neubauer* para contagem dos esporos, na qual foi vertida uma gota da solução diluída, aproximadamente 10 μ L.

Após a contagem dos esporos presentes em cada uma das cinco áreas de 0,04 mm², calculou-se a média dos valores encontrados. Para o cálculo do volume foi considerada a altura de 0,1 mm indicada na lâmina. Sendo assim foi possível calcular o número de células presentes em 1 mL.

6.4. Curva de crescimento

O meio mínimo para o crescimento dos micro-organismos foi preparado de acordo com as concentrações apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Composição do meio mínimo para crescimento dos micro-organismos.

Componente	C ₆ H ₁₂ O ₆	MgSO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄	KH ₂ PO ₄	K ₂ HPO ₄	CuSO ₄
1L	10g	1,1g	1,0g	5,44g	6,98g	0,01g
0,4L	4g	0,44g	0,4g	2,176g	2,792g	0,004g

Fonte: COSTA(2014)

O meio mínimo foi autoclavado com os demais materiais necessários para o procedimento, 15 tubos Falcon e uma pipeta de 10 mL. Após esfriar, foi colocado 10 mL de meio de cultura em cada tubo. Posteriormente adicionou-se em cada tubo Falcon 20 µL da solução de esporos. Os tubos foram nomeados e incubados no *shaker* a 25°C e 180 rpm. Desta forma o crescimento dos fungos foi determinado seguindo o método da massa seca. Para isto 15 filtros foram previamente secos em estufas a 40°C, pesados e tarados para posterior secagem e pesagem das massas obtidas a cada dia de análise.

6.5. Cultivo do fungo

Para preparação do meio de cultivo utilizou o planejamento experimental axial variando as concentrações de LAS e glicose observados na Tabela 4. Os demais componentes do meio de cultura foram empregados nas concentrações indicadas na Tabela 4. Todos os ensaios foram preparados em amostras com volume total de 70 mL em 12 *Erlenmeyers* respectivamente, sendo o ensaio 12 utilizado como controle, isto é, sem adição de micro-organismos.

As amostras listadas na Tabela 4 foram autoclavadas e após resfriamento foram inoculados 100µL da solução de esporos do fungo *P. crustosum*. Em seguida os *Erlemmeyers* foram incubados em *shaker* a 25°C e 180 rpm durante um período de cinco dias.

Tabela 4 – Planejamento experimental variando as concentrações de LAS como fonte de carbono e sulfato de amônio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ como fonte de nitrogênio.

Ensaio	Detergente (g/L)	Volume de detergente da solução estoque (mL)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (g/L)
1	-1 (0,0063)	0,34	-1 (1,6)
2	-1 (0, 0063)	0,34	+1 (4,4)
3	+1 (0,0177)	0,96	-1 (1,6)
4	+1 (0,0177)	0,96	+1 (4,4)
5	-1,41 (0,004)	0,21	0 (3,0)
6	+1,41 (0,020)	1,10	0 (3,0)
7	0 (0,012)	0,65	-1,41 (1,0)
8	0 (0,012)	0,65	+1,41 (5,0)
9*	0 (0,012)	0,65	0 (3,0)
10*	0 (0,012)	0,65	0 (3,0)
11*	0 (0,012)	0,65	0 (3,0)

*PONTOS CENTRAIS DO PLANEJAMENTO

Fonte: Autora

6.6. Análise do surfactante total

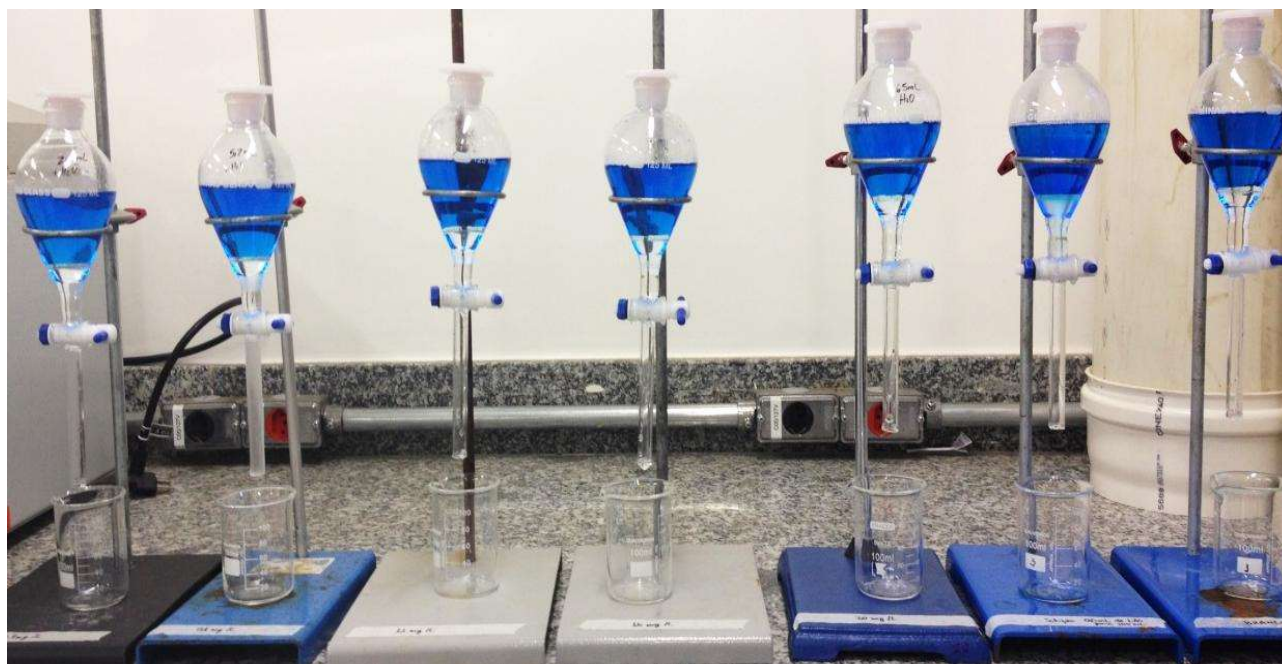
A análise de surfactantes totais realizada em laboratórios químicos especializados para análise de água, se baseia no método de azul de metileno, conhecido como método de MBAS (APHA, 1998). Neste método o efluente é analisado por meio de um sistema aquoso de duas fases, sendo uma fase polar, composta pela amostra e azul de metileno, e outra apolar, o solvente (clorofórmio). A Figura 11 ilustra o sistema composto pelas duas fases.

Inicialmente, a curva analítica para quantificação foi construída e as concentrações estipuladas em $0,4 \text{ mgL}^{-1}$; $0,8 \text{ mgL}^{-1}$; $1,2 \text{ mgL}^{-1}$; $1,6 \text{ mgL}^{-1}$ e $2,0 \text{ mgL}^{-1}$, sendo o branco da curva constituído por uma amostra de clorofórmio. Todo procedimento para a realização das análises foi retirado do “*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*” (APHA, 1998).

Ressalta-se que o detergente, objeto de estudo, é extraído com a ajuda do clorofórmio durante o processo da seguinte forma: um complexo é formado entre o azul de metileno (catiônico) e o surfactante (aniônico), pelo fato de o azul de metileno ser sensível a compostos aniônicos que

contenham uma parte hidrofóbica na sua constituição. Em consequência dessa interação, o par surfactante azul de metileno migra para a fase orgânica e é facilmente extraído no clorofórmio (fase orgânica). O corante não associado tem uma solubilidade em clorofórmio extremamente pequena.

Figura 11: Método de MBAS realizado em laboratório.



Fonte: COSTA, 2014.

As soluções empregadas no presente trabalho para o método de MBAS tiveram seus volumes reduzidos em 50% por se tratarem de substâncias nocivas à biota do ambiente (Tabela 5).

Tabela 5: Soluções empregadas no método.

Solução	Volume (mL)	Volume empregado (mL)
Amostra	100	50,0
Azul de metileno	25	12,5
Clorofórmio ($0,03 \text{ mgL}^{-1}$)	30	15
Álcool Isopropílico*	5	2,5
Lavagem	50	25

*Adicionado caso necessário, para que evite a formação de emulsão.

Fonte: APHA, 1998.

Para a quantificação do surfactante após a reação de biodegradação, a amostra foi inserida juntamente com o azul de metileno e o clorofórmio em um funil de separação. A mistura foi vigorosamente agitada por 30 vezes para homogeneização. Após a separação das fases retirou-se a mais densa. Este procedimento foi realizado três vezes (COSTA, 2014).

Depois do processo a porção orgânica extraída passou para a última etapa exigida pelo método e o restante da mistura contida no funil de separação foi armazenada para descarte correto. A porção extraída foi vertida no funil juntamente com uma solução de lavagem, e a mistura foi novamente agitada. Essa etapa é empregada para a retirada da fase polar, que por ventura tenha sido extraída juntamente com o solvente (COSTA, 2014).

Após o repouso e separação das fases, retirou-se a fase mais densa, a qual foi levada análise espectrofotométrica a 652 nm (espectrofotômetro “Biospectro” SP-220), sendo o branco da metodologia composto pelo solvente clorofórmio (COSTA, 2014).

O método de análise MBAS propõe a utilização de álcool isopropílico (conforme mencionado na metodologia), todavia, o composto não foi utilizado para que se evitasse a formação de efluentes ainda mais tóxicos (COSTA, 2014).

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1. Contagem dos esporos

Após o período de incubação de cinco dias do *P. crustosum*, o mesmo havia produzido esporos e apresentava uma coloração “esbranquiçada”, ou seja, não apresentava contaminação. Assim os esporos foram armazenados em solução salina para evitar que ocorresse o processo de osmose e, conseqüentemente, rompimento dos mesmos, apesar da estrutura e resistência da parede dos esporos. A osmose pode acontecer devido a diferença de íons entre o meio interno do esporo e o meio externo, caso não fosse utilizada a solução salina (SILVA, 2014).

Os esporos do fungo *P. crustosum* apresentou 17,6 esporos em 0,04 mm². A câmara possuía profundidade equivalente a 0,1 mm, logo seu volume é equivalente a 0,004 mm³. Desta forma é possível encontrar a quantidade de esporos presentes em um mL de solução.

$$\frac{17,6 \text{ esporos}}{0,004 \text{ mm}^3} = \frac{17,6 \text{ esporos}}{0,004 \times 10^{-9} \text{ m}^3} = \left(\frac{17,6 \times 10^9 \text{ esporos}}{0,004 \text{ m}^3} \right) \times \left(\frac{1 \text{ m}^3}{10^6 \text{ mL}} \right) = \frac{4,40 \times 10^6 \text{ esporos}}{\text{mL}}$$

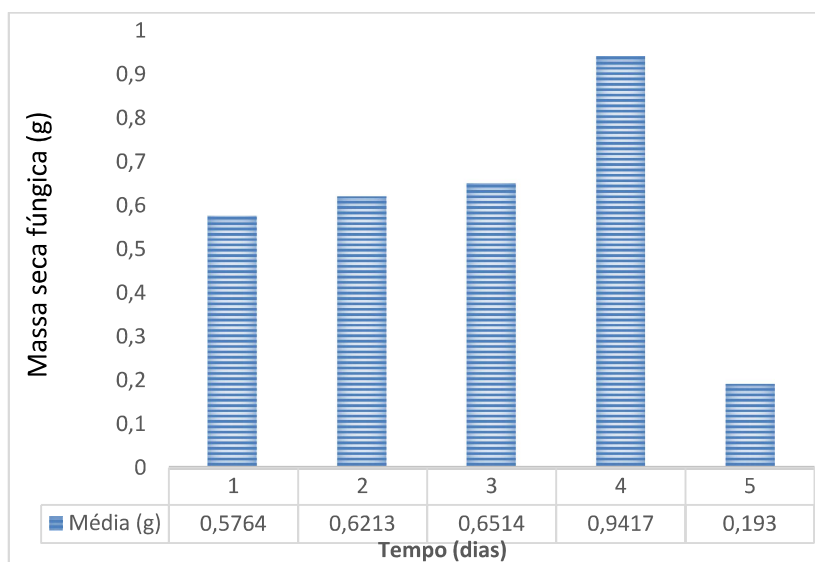
Considerando o fator de diluição, tem-se:

$$\left(\frac{4,40 \times 10^6 \text{ esporos}}{\text{mL}} \right) \times 10 = \frac{4,40 \times 10^7 \text{ esporos}}{\text{mL}}$$

7.2. Curva de crescimento

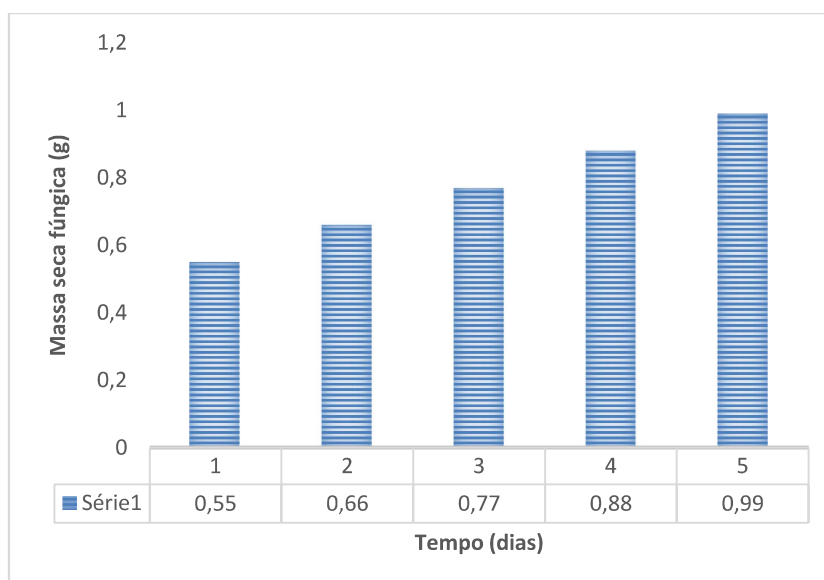
O comportamento do crescimento foi avaliado por meio da produção de massa seca em presença de glicose como fonte de carbono para o metabolismo e em presença de sulfato de amônio e detergente, estando esse último disponível como fonte alternativa para crescimento e a permanência das atividades celulares.

Figura 12: Curva de crescimento do *P. crustosum* durante cinco dias na presença do Detergente A.



Fonte: STATISTIC Spreadsheet

Figura 13. Curva de crescimento do *P. crustosum* durante cinco dias na presença do detergente B.



Fonte: STATISTIC Spreadsheet

Por meio das figuras 12 e 13 observa-se como acontece o crescimento nutricional, porém entre as quatro fases, que consideramos fase de “lag”, onde nesta fase os microrganismos não revelam um aumento de número em determinações de massa. Percebe-se que em ambos os casos os microrganismos nos dias 1, obtiveram um menor crescimento devido a fase de adaptação ao meio nutricional.

Na figura 13 a fase de crescimento “exponencial” os microrganismos se encontram na plenitude de suas capacidades, num meio cujos suprimentos de nutrientes são superiores às necessidades do microrganismo, o que resultou crescimento até o quinto dia. Em contrapartida na figura 12, o crescimento ocorreu até o quarto dia e o segundo gráfico obteve um crescimento linear.

A “fase estacionária” ocorreu apenas na figura 12, pois, a velocidade de crescimento dos microrganismos foi diminuindo até atingir a fase em que o número de novos microrganismos é próximo ou igual ao número de microrganismos (quarto dia) e após a fase de declínio (morte). As causas dessa parada de crescimento podem ser devido ao acúmulo de metabólitos tóxicos, o esgotamento de nutrientes e o esgotamento de O₂. Na Figura 13 houve um crescimento exponencial e a fase de declínio só ocorreu na Figura 12 onde, a quantidade de microrganismos que morre torna-se progressivamente superior àquela dos que surgem.

Nesse contexto, a presença da glicose como fonte rápida de carbono pode ter sido um dos fatores que ocasionou altas taxas de biodegradação do tensoativo pelo fungo *P. crustosum*, embora, não explique a diferença entre a eficiência dos gêneros.

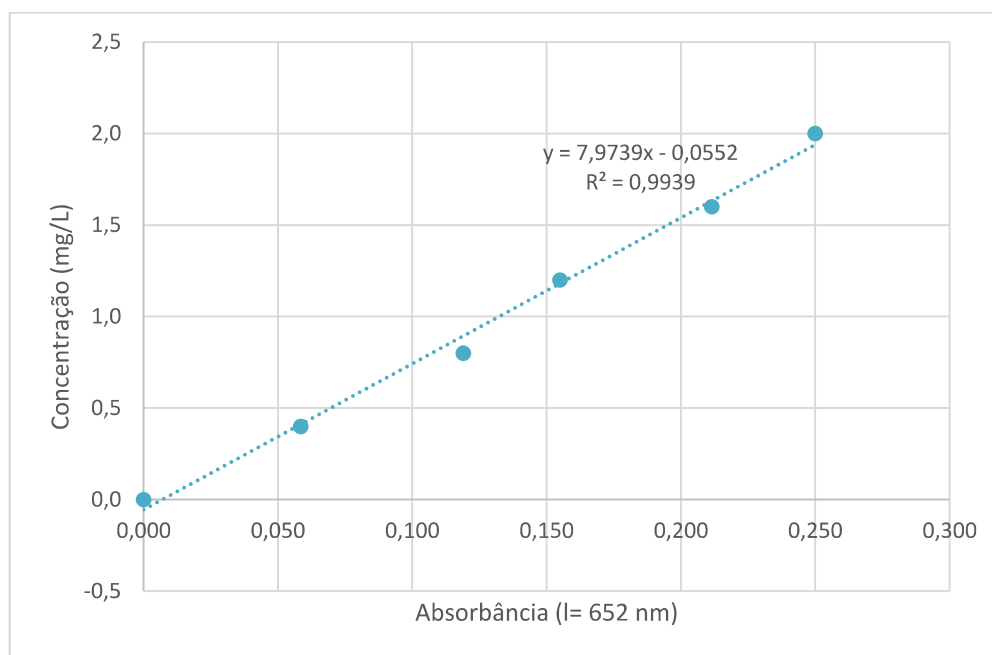
Como forma de estudar o consumo de diversos tipos de substratos paralelamente, LENDENMANN *et al.* (1996) avaliaram o consumo de seis tipos de açúcares utilizando *Escherichia coli* como organismo teste. Como resultado, obtiveram que o micro-organismo consumiu simultaneamente todos os carboidratos independentemente da composição da mistura. Concluindo que, o crescimento relativamente rápido de organismos heterotróficos é permitido em condições de múltiplos substratos.

7.3. Curva de calibração do método MBAS

A curva de calibração é fundamental para determinar a concentração final do surfactante após os processos de cultivo e extração, uma vez que ela fornece a equação linear para a realização do cálculo (SILVA, 2014).

A metodologia utilizada para construção da curva requer o uso de reagentes tóxicos, desta forma a fim de reduzir o volume de efluentes contaminantes foi empregada a curva de calibração do método determinada em estudos anteriores, a qual apresenta alto grau de confiança ($R^2 = 0,9939$). A curva é exibida na Figura 14.

Figura 14: Curva de calibração do método MBAS aplicada na análise da biodegradação de surfactantes.



Fonte: SILVA, 2014.

7.4. Cultivo do fungo *P. crustosum*

O resultado do cultivo do fungo nos detergentes A e B utilizando o fungo *P. crustosum* foi empregado no planejamento experimental, demonstrado na Tabela 4. Pode-se notar que houve crescimento dos fungos nas 11 amostras, o crescimento foi variado de acordo com o meio. Em algumas amostras os fungos obtiveram um maior desenvolvimento do que em outros. Isso pode ser devido a variação de sulfato de amônio, que foi adicionada em cada meio de acordo com o planejamento apresentado. Na amostra 12 não houve nenhum crescimento devido não ter sido inoculado o fungo, tendo sido esta amostra um controle para avaliar a possível degradação do surfactante sem a presença de fungo.

Analisando a Tabela 6, é notório que o índice de remoção do detergente B foi maior que o detergente A, uma vez que o A possui um teor de remoção do surfactante que variam entre 69,44-96,11 e o B nas mesmas condições obteve uma variância de redução entre 77,34-99,97. O segundo (B) se destacou na biodegradação do LAS principalmente nos pontos centrais do planejamento (experimentos 9, 10 e 11), alcançando quase 100% de remoção do meio. Os detergente A, embora em condições diferentes, possuíram seus valores máximos em torno de 96,0%, para *P. crustosum*.

Tabela 6- Resultado da remoção dos detergentes (A e B) de acordo com planejamento experimental.

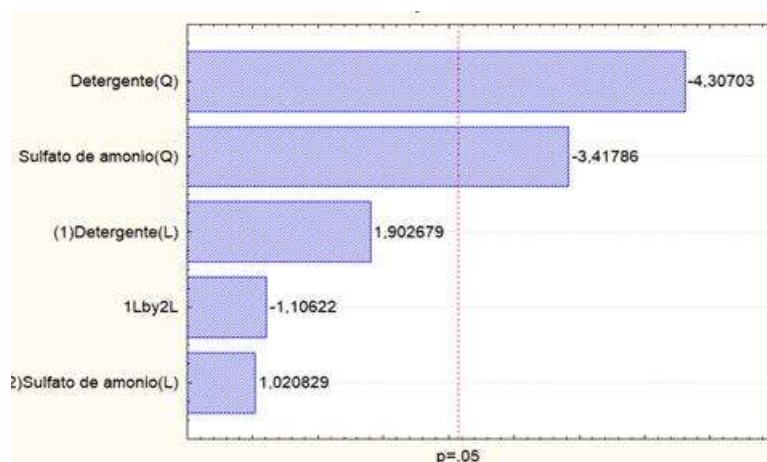
<i>Ensaio</i>	<i>Detergente A (%)</i>	<i>Detergente B (%)</i>
<i>Amostra 1</i>	69,449028	79,968248
<i>Amostra 2</i>	71,056246	81,35909
<i>Amostra 3</i>	89,68584	90,805316
<i>Amostra 4</i>	89,559346	82,078636
<i>Amostra 5</i>	67,595145	76,571261
<i>Amostra 6</i>	93,427237	85,80152
<i>Amostra 7</i>	82,89856	77,34673
<i>Amostra 8</i>	87,102054	91,870519
<i>Amostra 9</i>	92,706712	96,458274
<i>Amostra 10</i>	96,119829	99,978405
<i>Amostra 11</i>	92,706712	97,835939
<i>Amostra 12</i>	0	0

Fonte: STATISTIC Spreadsheet.

Ambos detergentes foram submetidos ao mesmo planejamento experimental, assim pode-se inferir que, os micro-organismos apresentam diferentes condições favoráveis à biodegradação dos detergentes, mas o fato das marcas dos detergentes serem diferentes, acredita-se que substâncias não avaliadas no presente trabalho pode ter influenciado no resultado.

Por meio do diagrama de Pareto (Figura 15) e da ANOVA (Tabela 7), avaliou-se o comportamento da porcentagem de remoção do meio em relação à concentração de LAS e de fonte de nitrogênio, sendo possível observar que para o Detergente A. A concentração de LAS (tanto para parâmetro linear quanto para o quadrático) e de fonte de nitrogênio apresentaram valores estatisticamente significativos ($p < 0,05$) nos ensaios realizados com o fungo *P. crustosum* (Figura 15). Os parâmetros lineares do sulfato de amônio, bem como a interação entre eles, são significativos nas condições estudadas.

Figura 15: Diagrama de Pareto para a remoção do LAS para o *P. crustosum*



Fonte: Fonte: STATISTIC Spreadsheet.

Tabela 7: ANOVA para a biodegradação do LAS do *P. crustosum*

	Soma dos quadrados (SQ)	Grau de liberdade (GL)	Quadrado médio (QM)	F _{cal}
Regressão	1,171.11	5	161,9415	
Resíduo	26,750	5	5,35	30,2694
TOTAL	1103,563	10		

Fonte: STATISTIC Spreadsheet.

Por meio da tabela ANOVA o valor de $F_{cal} 30,2694$ foi obtido, sendo maior que o valor tabelado de 5,05. Desta forma, o modelo matemático é estatisticamente significativo e preditivo, a partir disso, a Equação 2 pôde ser gerada pelo software.

$$\% \text{ Remoção} = 93,844 + 9,409x_1 - 7,37x_1^2 + 0,9281x_2 - 5,1265x_2^2 - 0,433x_2$$

(Equação 2)

Onde x_1 é a concentração do detergente e x_2 é concentração de $(NH_4)_2SO_4$ (fonte de nitrogênio). A confiabilidade da equação pode ser posta a prova substituindo os parâmetros normalizados de qualquer um dos ensaios. Utilizando ensaio 1 tem-se:

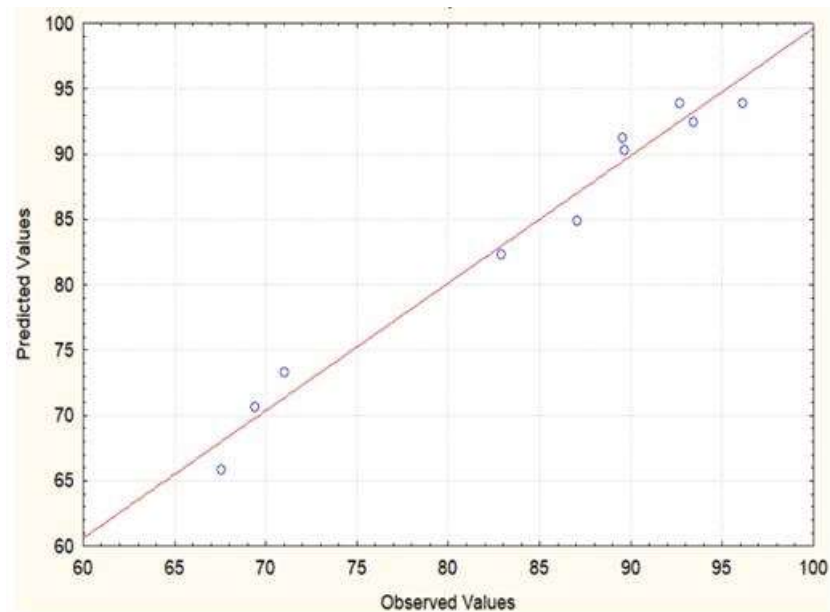
$$\% \text{ Remoção} = 93,84 + 9,40(-1) - 7,37(-1)^2 + 0,92(-1) - 5,12(-1)^2 - 0,43(-1)(-1)$$

$$\% \text{ Remoção} = 71,41$$

Ao relacionar o valor predito (71,46%) com o valor observado (69,44%), percebe-se a diferença mínima (2,02%). Desta forma, tem-se um modelo estatisticamente confiável. Na Figura

15, pode-se ver a correlação entre os valores preditos e os observados, onde percebe-se que os valores experimentais se encontram próximos à reta dos valores preditos pelo modelo matemático.

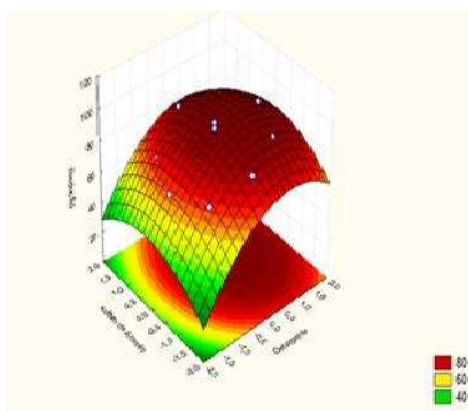
Figura 15: Valores preditos versus valores observados em relação à variável biodegradação para o *P. crustosum*.



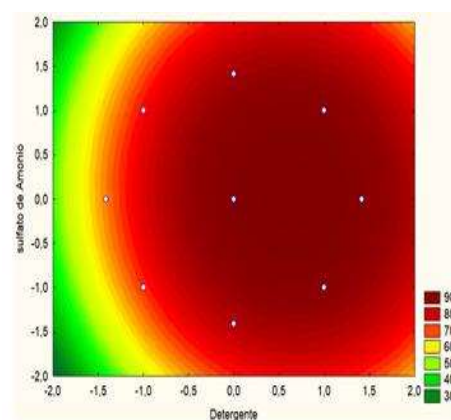
Fonte: STATISTIC Spreadsheet.

Na Figura 16, são apresentadas as curvas de contorno e superfície de resposta relacionadas ao *P. crustosum*, em relação ao **Detergente A**.

Figura 16: Superfície de resposta (A) e curva de contorno (B) respectivamente para a redução (%) em função das concentrações de sulfato de amônio (g/L) e Detergente (A) (mg/L) para o micro-organismo *P. crustosum*.



A



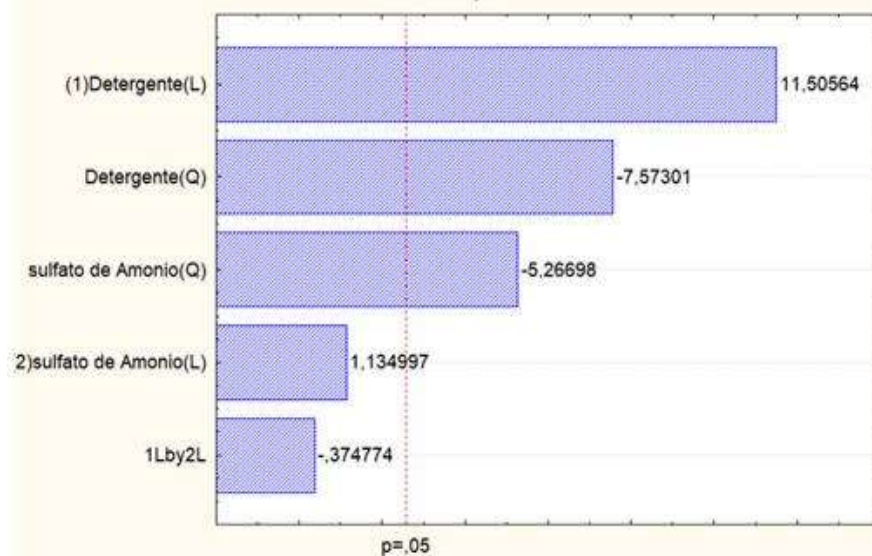
B

Fonte: STATISTIC Spreadsheet.

Na Figura 16, pode-se inferir que as condições estudadas propiciaram bons resultados, principalmente em relação aos pontos centrais, sendo os ensaios onde se obtiveram as maiores porcentagens de remoção do LAS, estando em acordo com os valores mostrados pela Tabela 6.

É possível observar que as variáveis do detergente (L) e detergente (Q) e sulfonato de amônio (Q) possuem valores estatisticamente significativos de acordo com o diagrama de Pareto apresentado na Figura 17.

Figura 17: Diagrama de Pareto para a remoção do LAS para o *P. crustosum*.



Fonte: STATISTIC Spreadsheet.

Tabela 8: ANOVA para a biodegradação do detergente do *P. Crustosum*.

	Soma dos quadrados (SQ)	Grau de liberdade (GL)	Quadrado médio (QM)	F _{cal}
Regressão	755,32284	5	123,3923	
Resíduo	104,5631	5	20,91262	5,900376
TOTAL	721,5247	10		

Fonte: STATISTIC Spreadsheet.

Por meio da tabela ANOVA o valor de F_{cal} foi obtido, sendo maior que o valor tabelado. Desta forma, o modelo matemático é estatisticamente significativo e preditivo, a partir disso, a Equação 2 (mostrada abaixo) pôde ser gerada pelo software.

$$\% \text{ Remoção} = 98,0909 + 6,1525x_1 - 16,5768x_1^2 + 3,3010x_2 - 13,1546x_2^2 - 5,0588x_1x_2$$

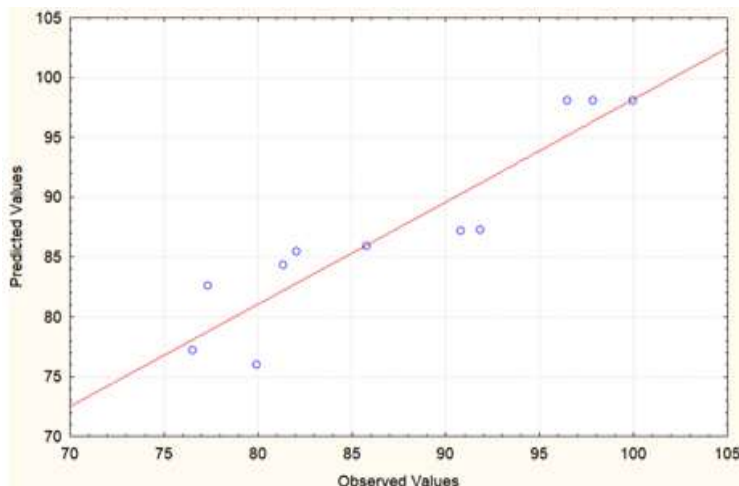
(Equação 2)

Onde x_1 é a concentração do detergente e x_2 é concentração de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (fonte de nitrogênio). A confiabilidade da equação pode ser posta a prova substituindo os parâmetros normalizados de qualquer um dos ensaios. Utilizando ensaio 1 tem-se:

$$\begin{aligned}\% \text{ Remoção} &= 98,0909 + 6,1525(-1) - 16,5768(-1)^2 + 3,3010(-1) - 13,1546(-1)^2 \\ &\quad - 5,0588(-1)(-1) \\ \% \text{ Remoção} &= 80,1564\end{aligned}$$

Ao relacionar o valor predito (80,1564%) com o valor observado (79,9682%), percebe-se a diferença mínima (0,188%). Desta forma, tem-se um modelo estatisticamente confiável. Na Figura 18, pode-se ver a correlação entre os valores preditos e os observados, onde percebe-se que os valores experimentais se encontram próximos à reta dos valores preditos pelo modelo matemático.

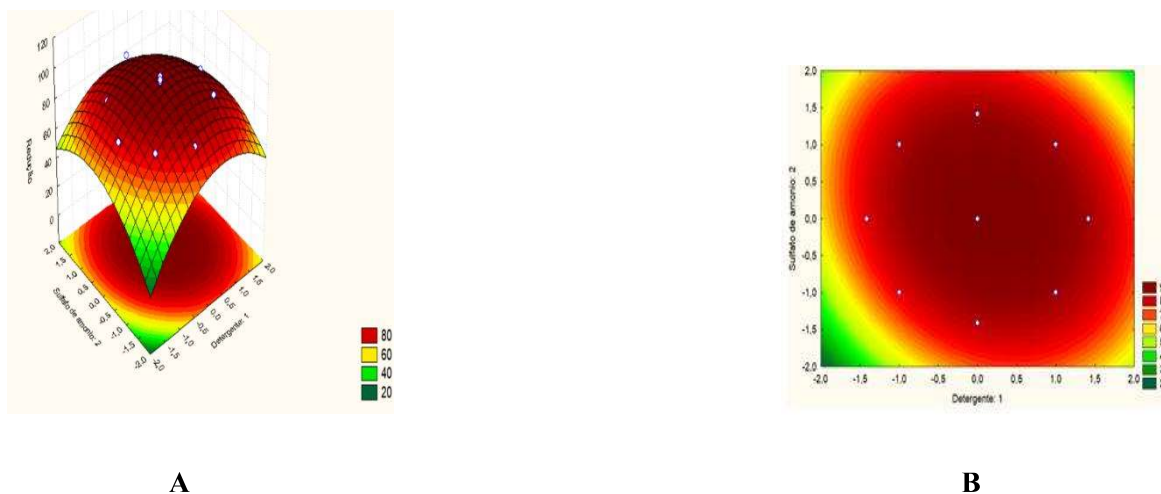
Figura 18: Gráfico de valores preditos por valores observados em relação à variável biodegradação para o *P. crustosum*.



Fonte: STATISTIC Spreadsheet.

Na Figura 19, são apresentadas as curvas de contorno e superfície de resposta relacionadas ao *P. crustosum*, em relação ao **Detergente**.

Figura 19: Superfície de resposta (A) e curva de contorno (B) respectivamente para a redução (%) em função das concentrações de sulfato de amônio (g/L) e Detergente (B) (mg/L) para o micro-organismo *P. crustosum*.



Fonte: STATISTIC Spreadsheet.

Pode-se notar que a máxima degradação do detergente foi obtida no ponto central do planejamento, cuja redução média foi de 93,85% para o detergente A, já o detergente B, obteve-se uma média no ponto central de 98,10%, sendo este o mesmo a atingir o ponto ótimo de redução.

Visto que o presente experimento é uma otimização de outros trabalhos utilizando fungos filamentosos, onde se pôde obter redução de até 96%. O experimento apresentado mostrou-se satisfatório uma vez que os resultados apresentaram redução de até 98%, superando os valores anteriores e comprovando a eficiência dos paramentos utilizados. Ressalta-se que nos trabalhos anteriores foi utilizado o LAS na integra, já no presente trabalho o LAS estava inserido ao produto (detergente) que possivelmente continham outras substâncias capazes de influenciar o resultado, e mesmo com possíveis substâncias observa-se uma ótima remoção (LAS) nos produtos (A e B), confirmando a eficácia do método utilizado.

7.5- Crescimento fúngico

Os dados em vermelho, destacados na Tabela 11, correspondem aos ensaios onde a máxima biodegradação ocorreu conforme a Tabela 6, não obstante, esses valores não coincidem com os de maior produção de massa seca (destacados em azul).

Para melhor compreensão dos resultados envolvendo a massa seca e o nível de remoção vários estudos foram feitos para testar a eficiência de diferentes fungos filamentosos. Ao saber que ambos os fungos foram eficientes no processo de biodegradação de surfactantes, o presente trabalho testou os surfactante contidos em dois detergentes A e B, e pode comprovar que os resultados foram

muitos parecidos com os dos trabalhos onde o enfoque era o melhor fungo, e utilizamos o *P. crustosum*, embora os resultados com maior redução foram com *P. chrysogenum*.

Tabela 11: Valores aproximados para o crescimento em massa dos fungos conforme os ensaios do planejamento DCCR

Experimento	Detergente A	Detergente B
1	0,3736	0,6185
2	0,3739	0,6346
3	0,3683	0,5973
4	0,3683	0,6882
5	0,3802	0,6287
6	0,3719	0,7050
7	0,3682	0,6557
8	0,3943	0,6386
9	0,3751	0,5791
10	0,3717	0,7053
11	0,3841	0,7211

Fonte: STATISTIC Spreadsheet.

Segundo SILVA (2014) ao analisar isoladamente o *P. crustosum*, dentro dos mesmos parâmetros do presente trabalho, percebe-se que este micro-organismo cresceu dentro de toda faixa de glicose estuda (5 g/L a 15 g/L). No entanto o crescimento foi significativo apenas em baixas concentrações de LAS, entre 2 mg/L e 4 mg/L. Consideravelmente relacionado à massa seca, a redução do surfactante mostrou-se eficiente (90 a 100%) dentro de toda faixa de glicose estipulada, contemplando também um intervalo maior de variação do LAS (2 mg/L a 8 mg/L).

De acordo com COSTA (2014) em um mesmo planejamento aplicado aos fungos *A. aculeatus*, *P. crustosum* e *P. chrysogenum*, dentro das situações contempladas, o que mais se mostrou apto para o tratamento do efluente sintético contaminado com o surfactante alquilbenzeno sulfonato de sódio foi o *P. chrysogenum*, alcançando até 99,5% de remoção de LAS do meio.

No estudo de Gontijo (2016) afirma que os fungos utilizados obtiveram ótimos resultados na biodegradação do Linear alquilbenzeno sulfonato de sódio. A partir do planejamento proposto, o fungo *P. crustosum* apresentou maiores porcentagens de biodegradação alcançando 98,75%, o micro-organismo *P. chrysogenum* também obteve bons resultados com uma porcentagem de biodegradação máxima de 96,02%, com uma diferença 2,73% de redução entre os fungos estudados. O micro-organismo *P. crustosum* apresentou um ótimo resultado para a redução, e uma

pequena produção de massa fungica em relação ao *P. chrysogenum*, sendo uma boa alternativa para a biodegradação de surfactantes como o LAS.

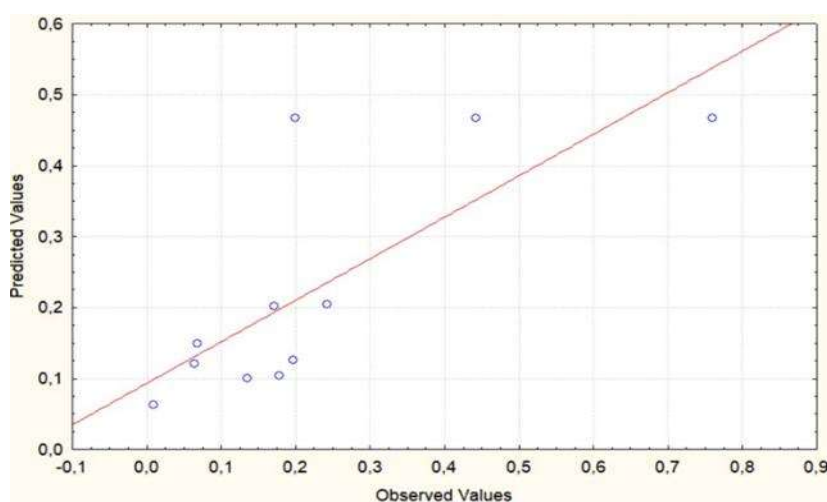
Tabela 12: ANOVA para produção de massa seca na presença do detergente A

	Soma dos quadrados (SQ)	Grau de liberdade (GL)	Quadrado médio (QM)	F_{cal}
Regressão	0,329759	5	0,052056	
Resíduo	0,184382	5	0,036876	1,411635
TOTAL	0,444662	10		

Fonte: STATISTIC Spreadsheet.

Sabendo-se que o valor do $F_{tabelado}$ é 5,05 e o valor do $F_{calculado}$ é igual a 1,411635. Pode-se dizer que o cálculo vai de encontro com o diagrama de Pareto demonstrada na Figura 20, e desta forma pode-se dizer que o modelo matemático não é estatisticamente significativo e preditivo em relação a massa seca.

Figura 20: Valor predito versus valor observado para a variável massa seca do *P. crustosum* gerado pelo software Statistica.



Fonte: STATISTIC Spreadsheet.

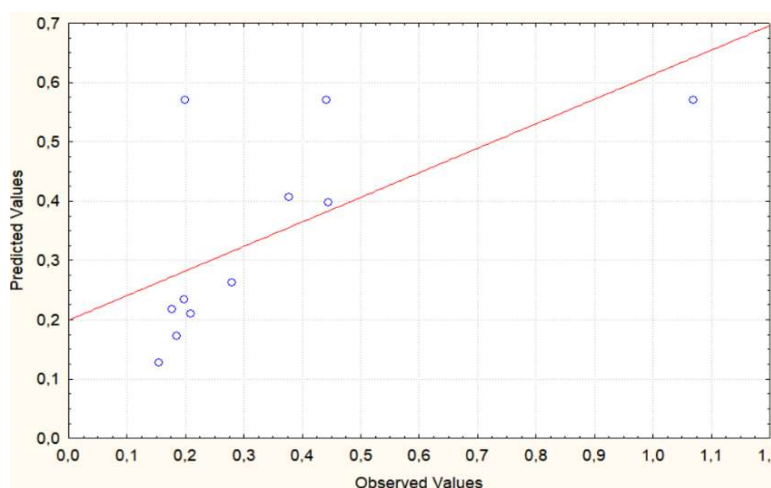
Tabela 13:ANOVA para produção de massa seca na presença do detergente B

	Soma dos quadrados (SQ)	Grau de liberdade (GL)	Quadrado médio (QM)	F_{cal}
Regressão	0,349091	5	0,057854	
Resíduo	0,409660	5	0,081932	0,706122
TOTAL	0,698930	10		

Fonte: STATISTIC Spreadsheet.

Sabendo-se que o valor do $F_{tabelado}$ é 5,05 e o valor do $F_{calculado}$ é igual a 0,706122. Pode-se dizer que o cálculo vai de encontro com o diagrama de Pareto demonstrada na Figura 21, e desta forma pode-se dizer que o modelo matemático não é estatisticamente significativo e preditivo em relação a massa seca.

Figura 21: Valor predito versus valor observado para a variável massa seca do *P. crustosum* gerado pelo software Statistica.



Fonte: STATISTIC Spreadsheet.

Visto que o presente experimento é uma otimização de outro trabalho utilizando fungos filamentosos onde se obteve uma redução de até 95%, os resultados do presente experimento foram muito bons, uma vez que os resultados apresentaram redução de até 99% superando os valores anteriores e comprovando a eficiência dos parâmetros utilizados.

Desta forma, o fungo filamentoso *Penicillium crustosum*, utilizado neste estudo mostrou-se capaz de biodegradar surfactantes aniônicos amplamente usados em ambos detergentes líquidos testados no presente trabalho e que são lançados diariamente nos esgotos domésticos e que apesar de serem biodegradáveis, os processos de tratamento anaeróbicos utilizados no Brasil removem até 70% de surfactantes.

8. CONCLUSÃO

O emprego de micro-organismos no tratamento de efluentes se mostra uma alternativa sustentável e eficiente. Os resultados deste estudo mostraram que o fungo *Penicillium crustosum* alcançou altos índices de biodegradação de surfactantes totais no detergente “A” chegando a 96% e no detergente “B” chegando a quase 100%, mostrando-se uma alternativa interessante na remoção de surfactantes em efluentes.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAPTISTA, N. M. de Q. *Produção das enzimas lignina peroxidase e lacase por fungos filamentosos*. Recife. Dissertação (Especialização em Micologia)– Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, 2011.

BONFIM, J. H. *Remoção de surfactantes (LAS) no tratamento anaeróbico de esgotos domésticos*. Recife, 2006. Dissertação (Tese de mestrado)– Departamento de Engenharia Civil, Universidade Federal de Pernambuco.

CAROSIA, M. F. *Caracterização microbiana e degradação de detergente de uso doméstico em reator anaeróbio de leito fluidificado*. Dissertação (Tese de mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2011.

COSTA, M. F. *Biodegradação do surfactante linear alquilbenzeno sulfonato de sódio utilizando fungos filamentosos*. Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal de São João del Rei – UFSJ, Ouro Branco, MG. 2014.

COSTA, M. J. C. et al . *Co- digestão anaeróbia de substâncias surfactantes, óleo e lodo de esgoto*. Engenharia Sanitária Ambiental. v. 12, nº 4, 11p. Rio de Janeiro, 2007.

DELFORNO, P.T. *Degradação de surfactante aniônico em reator EGSB sob condição metanogênica e ferro redutora com água residuária de lavanderia comercial*. Dissertação de mestrado apresentada à Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

DI CORCIA, A. Characterisation of surfactants and their biointermediates by liquid chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A, v. 794, p. 165-185. 1998.

ESTEVES, A. dos S. *Degradação de alquilbenzeno linear sulfonado em reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente*. Dissertação (Graduação) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2010.

FILHO, J.D.P. *Degradação de Alquilbenzeno linear Sulfonado em reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada em carvão vegetal*. Dissertação (Mestrado em

Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

GARCÍA, M.T.; CAMPOS, E.; RIBOSA, I.; LATORRE, A.; SÁNCHEZ-LEAL, L. Anaerobic digestion of linear alkyl benzene sulfonates: Biodegradation kinetics and metabolite analysis. *Chemosphere*, v. 60, p. 1636–1643, 2005.

GONTIJO, K. S. J. Biodegradação do surfactante linear alquilbenzeno sulfonato de sódio utilizando os fungos filamentosos *Penicillium chrysogenum* e *Penicillium crustosum* em um efluente sintético contendo ureia como fonte de nitrogênio. Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal de São João del Rei – UFSJ, Ouro Branco, MG. 2016.

LENDENMANN, U.; EGLI, T. Kinetic models for the growth of *Escherichia coli* with mixtures of sugars under carbon-limited conditions. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 59, p. 99-107. 1998.

LENDENMANN, U.; SNOZZI, M.; EGLI, T. Kinetics of the simultaneous utilization of sugar mixtures by *Escherichia coli* in continuous culture. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 62, n. 5, p. 1493-1499.

LENHARD, C.D. *Descoloração de corantes têxteis reativos por fungos ligninolíticos e por lacase*. Dissertação (Tese de mestrado) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá. Parana, 2006.

MELO, T. N. T. F. *Utilização dos tensoativos na indústria de petróleo*. Monografia apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Campus Angicos. UFRSA. Angicos, RN. 49 p. 2013.

MUNGRAY, A.K.; KUMAR, P. Fate of linear alkylbenzene sulfonates in the environment: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 63, p. 981–987. 2009.

ZAGO NETO, Odone Gino; DEL PINO, José Cláudio. *Trabalhando a Química dos Sabões*, 2002. Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRS - Instituto de Química.

OKADA, D. Y., et al. *Otimização de Linear alquilbenzenosulfonato (LAS) degradação em reatores UASB, variando biodisponibilidade de LAS, tempo de retenção hidráulica e taxa de carga orgânica específica*. *Bioresource Tecnologia*, 2013, vol. 128, p. 125-133.

PENTEADO, J.C.P.; SEOUD, O.A.; CARVALHO, E.L.R.F - *Alquilbenzeno sulfonato linear: uma abordagem ambiental e analítica*. Química Nova, v. 29, No. 5, p. 1038-1046, 2006.

RAIMUNDO, C. C. M. *Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia*. Dissertação (Tese de mestrado) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.Campinas, 2007.

RODRIGUES, K. A.; SAMPAIO, G. M. M. S.; ZAIAT, M.; SANTAELLA, S. T. Influência da glicose sobre o consumo de fenol por *Aspergillus niger* NA 400 em reatores em batelada. Engenharia Sanitária Ambiental, v. 12, n. 2, p. 222-228. 2007.

SILVA, A. C. A. A. *Otimização do processo de biodegradação do surfactante linear alquilbenzeno sulfonato de sódio utilizando fungos filamentosos*. Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal de São João del Rei – UFSJ, Ouro Branco, MG. 2014.

SILVA, K. C. da. *Estudo do potencial de degradação do corante reativo preto intenso por fungos filamentosos isolados de efluente industrial têxtil*. Dissertação (Tese de mestrado) – Biotecnologia, Universidade Federal de São João del Rei. Divinópolis, 2013.

SOARES, B. M. *Diversidade de fungos decompositores de madeira presentes em ecossistemas brasileiros: bioprospecção de espécies úteis em processo de biodegradação de poluentes aromáticos*. Belo Horizonte, 2013. Dissertação (Tese de mestrado) – Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais.

SOUZA, F.C.L. *Avaliação da degradação de alquilbenzeno linear sulfonado (LAS) em reatores anaeróbicos*. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e recursos Hídricos)- Departamento de Engenharia civil da Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco,2009.88p.

VICENTE, J. *Determinação de surfactantes aniônicos em efluentes de postos revendedores de combustíveis da região da Grande Florianópolis*. Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal de Santa Catarina. UFSC Florianopolis,SC. 27 p. 2004.