

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

EFETIVIDADE DE BACTÉRIAS LIPOLÍTICAS NO PRÉ-TRATAMENTO
ENZIMÁTICO DE EFLUENTE DE ABATEDOURO DE PEIXES

Thais Rannov

PALOTINA

2021

Resumo

Devido ao aumento do volume de efluentes gerados por abatedouros de peixes, é fundamental a busca por tratamentos mais eficientes, visto que em sua grande maioria estes resíduos são descartados em corpos hídricos. Tratamentos alternativos se apresentam como forma de minimizar esse impacto como, por exemplo, o uso de bactérias lipolíticas no pré-tratamento de efluentes que apresentam elevadas concentrações de gordura. Sua aplicação é de grande interesse, visto que as enzimas lipolíticas, produzidas por bactérias, realizam a catálise das reações químicas na quebra de gorduras. Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar o pré-tratamento de efluente de abatedouro de peixes, por meio de bactérias produtoras de lipases. Foram utilizados seis tratamentos contendo uma bactéria isolada do efluente e as bactérias *Bacillus megaterium* e *Staphylococcus warneri*, além da combinação destas. Após 72 h de tratamento, com 10% de inóculo, foram avaliados os parâmetros de: Óleos e Graxas (O&G), Demanda Química de Oxigênio (DQO) e pH. Para remoção de O&G, o tratamento mais eficiente, foi o contendo *Bacillus megaterium*, com 87,44% de remoção, enquanto, a menor eficiência foi do tratamento contendo *Bacillus megaterium* e *Staphylococcus warneri* (50%). Quanto ao parâmetro de DQO, o melhor tratamento foi o contendo *Bacillus megaterium*, com 72,72% de eficiência, e a menor remoção foi do tratamento contendo a bactéria isolada do efluente (25,25%). Quanto ao pH, houve baixas variações nos tratamentos. Com base nos resultados obtidos, constata-se que o efluente de abatedouro de peixes é uma excelente fonte para a obtenção de microrganismos produtores de lipase e que a utilização de enzimas, como as lipases bacterianas em seu tratamento, se mostra uma ótima alternativa.

Palavras- chave: *Bacillus megaterium*. *Staphylococcus warneri*. Enzimas

Abstract

EFFECTIVENESS OF LIPOLYTIC BACTERIA IN THE ENZYMATIC PRE-TREATMENT OF FISH SLAUGHTER EFFLUENT

Due to the increase in the volume of effluents generated by fish abattoirs, it is essential to search for more efficient treatments, since the vast majority of these residues are discarded in water bodies. Alternative treatments are presented as a way to minimize this impact, such as the use of lipolytic bacteria in the pre-treatment of effluents with high fat concentrations. Its application is of great interest, since lipolytic enzymes, produced by bacteria, catalyze chemical reactions in the breakdown of fats. Therefore, the objective of this study was to evaluate the pre-treatment of fish slaughterhouse effluent using lipase-producing bacteria.

Six treatments were used, containing a bacterium isolated from the effluent and the bacteria *Bacillus megaterium* and *Staphylococcus warneri*, in addition to a combination of these. After 72 h of treatment, with 10% inoculum, the following parameters were evaluated: Oils and Grease (O&G), Chemical Oxygen Demand (COD) and pH. For O&G removal, the most efficient treatment was the one containing *Bacillus megaterium*, with 87.44% of removal, while the lowest efficiency was the treatment containing *Bacillus megaterium* and *Staphylococcus warneri* (50%). As for the COD parameter, the best treatment was the one containing *Bacillus megaterium*, with 72.72% efficiency, and the smallest removal was the treatment containing the bacteria isolated from the effluent (25.25%). As for pH, there were low variations in treatments. Based on the results obtained, it appears that fish slaughterhouse effluent is an excellent source for obtaining lipase-producing microorganisms and that the use of enzymes, such as bacterial lipases in its treatment, is an excellent alternative.

Keywords: *Bacillus megaterium*. *Staphylococcus warneri*. Enzyme.

1 INTRODUÇÃO

O aumento da procura, por alimentos proteicos provenientes da piscicultura, desencadeou o aumento da produção e do processamento do pescado. A produção de tilápia se destaca, agregando 60% da produção total da piscicultura no Brasil, sendo considerada uma atividade de alta intensidade tecnológica (PEDROZA et al., 2020). O Oeste do Paraná, é considerado um dos principais pólos de produção de tilápia no Brasil, apresentando diversos criadores de formas jovens da tilápia, assim como, a presença de indústrias de beneficiamento e fábricas de ração para o processamento desta produção (PEDROZA et al., 2020).

A expansão da produtividade de tilápia no Brasil, gerou a criação de novos locais de abate, com águas residuárias carregadas de matéria orgânica, proveniente dos processos da indústria. Os resíduos sólidos são transformados em subprodutos como farinha, óleo de pescado, ração animal, entre outros (AGUIAR; LIMBERGER; SILVEIRA, 2014). E todo efluente líquido, deve ser tratado de forma adequada e lançado em corpos hídricos respeitando a legislação vigente, minimizando os impactos ao meio ambiente.

Por conta dos altos volumes de efluentes líquidos gerados, a questão ambiental vem ganhando cada vez mais espaço junto a essa atividade. Devido principalmente a composição do efluente, que apresenta elevada carga de gordura. Por conta disso, a legislação em vigor apresenta diversos limites para os parâmetros do efluente tratado, havendo a necessidade do envio de laudos técnicos, atestando a qualidade do tratamento, assim como, à renovação de licenças ambientais por parte da empresa.

Com a necessária preocupação ambiental, e para reduzir os impactos da expansão industrial das últimas décadas, existem diversos tratamentos alternativos, visando uma melhora na qualidade dos tratamentos. Nesse sentido, o uso de enzimas possibilita aumentar a eficiência dos tratamentos e minimizar os riscos de impacto ambiental, pois sua função é aumentar a velocidade das reações químicas relacionadas a quebra das moléculas de lipídios. Segundo Valente et al. (2010) o pré-tratamento enzimático de efluentes, promove a remoção de filmes de gordura em tubulações, reduz sólidos suspensos, garantindo condições melhores para os tratamentos subsequentes e facilitando a ação dos microrganismos nos tratamentos biológicos aplicados.

As bactérias lipolíticas se apresentam como ótima opção para a produção das enzimas lípases, sendo que as de origem microbiana, podem ser produzidas em abundância por fermentação, são facilmente manipuladas geneticamente e são mais estáveis, tornando sua produção conveniente e segura (FURINI, 2017). Estudos sobre diferentes substratos e microrganismos na atuação de quebra de moléculas de gordura em efluentes, podem contribuir para a diminuição de cargas orgânicas lançadas em rios e riachos. Além da obtenção de novas fontes produtoras de lípase. Com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar o pré-tratamento de efluente de abatedouro de peixes, utilizando diferentes bactérias produtoras de lípase, além de caracterizar o efluente utilizado e isolar uma bactéria lipolítica do efluente.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Panorama da produção de pescado no Brasil

O aumento do consumo de carne de peixe no Brasil se deve à procura por alimentos mais saudáveis. A ampliação de seu consumo está associada à busca por uma alimentação mais equilibrada e de maior valor nutricional (BRASIL, 2021). Esse aumento no consumo da carne branca, fez com que novas indústrias alimentícias entrassem na cadeia produtiva brasileira, buscando aliar retorno monetário e responsabilidade socioambiental.

O Brasil apresenta diversas características que influenciam no crescimento da aquicultura. Para Zenatti (2017), o potencial brasileiro tem se firmado devido a vários fatores como, a abundância de água, o baixo custo e a extensão territorial. Segundo Hundley et al. (2013) o alto potencial do Brasil na aquicultura aliado a uma produção sustentável, reflete a necessidade da organização da produção, dentro de uma perspectiva ecoeficiente.

A produção de peixe de cultivo no Brasil, teve um aumento de 5,93%, atingindo 802.930 toneladas em 2020, com receita de cerca de 8 bilhões, sendo a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) a principal espécie cultivada, representando 60,6% da piscicultura brasileira (PEIXE BR, 2021). A região Sul se destaca na produção da tilápia, gerando quase 50% do total brasileiro, sendo o estado do Paraná, o maior produtor da região (80%), e o maior produtor nacional, com cerca de 37% do total (BRASIL, 2020). Ghany et al. (2020) ressaltam que atualmente a tilápia (*Oreochromis* sp.) é considerada uma das espécies mais importantes da aquicultura global.

2.2 Resíduos gerados e legislação vigente

O crescimento na cadeia produtiva do pescado reflete na extração de recursos naturais, assim como, no lançamento de efluentes residuais da produção. A produção média de efluentes líquidos gerados em abatedouros de tilápia, é de aproximadamente 20 m³ por tonelada de peixe processado (CAMPOS, 2020). O efluente de abatedouro de peixes é

caracterizado principalmente pelo alto teor de matéria orgânica, sendo constituído de água, escamas, gordura, sangue, fluidos viscerais e pequenos descartes do peixe (COSMANN, 2009).

As indústrias de processamento de pescado utilizam elevado volume de água potável, em todas as etapas do processo e para a higienização da indústria (MURAKAMI, 2018). Dessa forma, todo efluente gerado deve ser tratado, buscando a eficiência de todas as etapas do tratamento, atingindo os parâmetros legais para seu posterior lançamento em corpos hídricos. No âmbito nacional, a legislação e as normas relacionadas aos recursos hídricos estão descritas na Lei nº 9.433/97 da Política Nacional de Recursos Hídricos (BRASIL, 1997), e a Resolução CONAMA nº 430/11. Esta última, dispõe sobre condições, parâmetros, padrões e diretrizes para o lançamento de efluentes em corpos de água, determinando que o gerador de efluente só poderá lançá-lo após o devido tratamento (BRASIL, 2021).

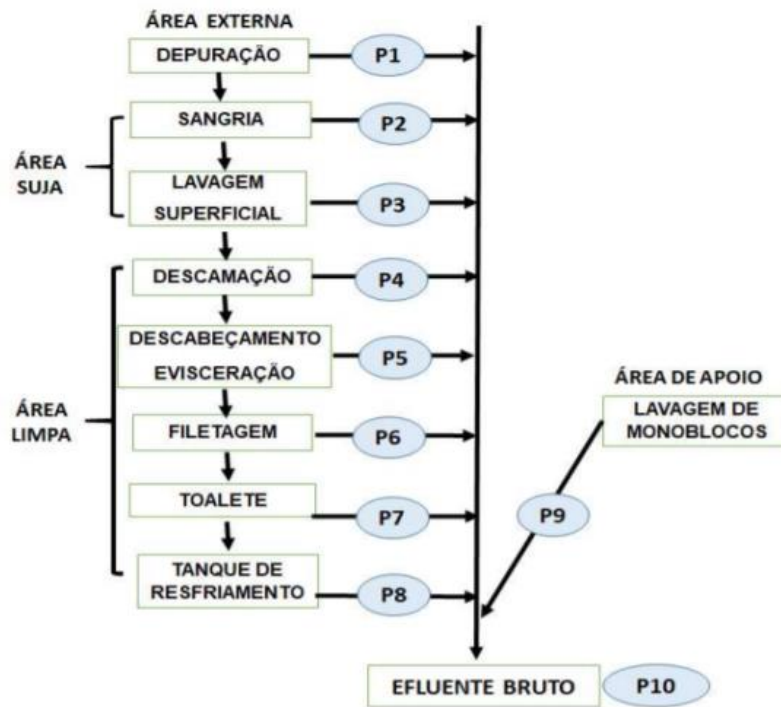
Diversos parâmetros são exigidos, para que o efluente final tratado possa ser lançado legalmente em corpos hídricos, como: temperatura, materiais sedimentáveis, óleos e graxas, óleos minerais, óleos vegetais, gorduras animais, demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e pH. Com valores exigidos para pH entre 5 a 9; materiais sedimentáveis de até 1 mL/L em teste de 1 h em cone Imhoff, óleos minerais de até 20mg L⁻¹, óleos vegetais e gorduras animais de até 50 mg L⁻¹ e DBO com remoção mínima de 60% (BRASIL, 2021).

No Paraná, segundo a Resolução da Secretaria Estadual do Meio Ambiente (SEMA) (2009), que trata de condições e padrões de lançamento de efluentes líquidos industriais, empreendimentos do tipo frigorífico devem seguir alguns parâmetros máximos estabelecidos: DBO: 60 mg L⁻¹; demanda química de oxigênio (DQO): 200mg L⁻¹; óleos e graxas (O&G): até 50mg L⁻¹.

2.3 Características dos abatedouros de peixes e efluentes gerados

Abatedouros de peixes possuem diversas áreas para o processamento total do pescado. Murakami (2018) representou sua estrutura, a partir da área externa até a saída do efluente bruto (FIGURA 1).

FIGURA1. Fluxograma do processo produtivo de um abatedouro de peixes



FONTE: Murakami (2018)

A caracterização do efluente gerado é uma tarefa básica, pois será nessa etapa que serão obtidas informações quanto à composição e vazão da água residuária. Com base nessas informações, podem ser adotados métodos físicos, químicos ou biológicos no tratamento do efluente (MENDES, et al., 2005). A avaliação da composição do efluente, ocorre através de diversos parâmetros, como: alcalinidade total, cloretos, coliformes totais, DBO, DQO, nitrato, nitrito, nitrogênio amoniacal, óleos e graxas, pH, sólidos totais, turbidez, entre outros (MURAKAMI, 2018).

As características do efluente de pescado dificultam seu tratamento, pois contém elevados índices de DBO, sólidos, e altos níveis de gorduras e proteínas (SOUZA; MEIRE & NETO, 2008), conforme Tabela 1.

TABELA 1. Características físico-químicas de efluente-bruto proveniente de abatedouros de tilápias.

Parâmetros	Murakami (2018)	Campos (2020)	Pires (2017)
DBO (mg L ⁻¹)	1.637,57	455	-
DQO (mg L ⁻¹)	5.225,92	907	1.854,70
Sólidos Totais (mg L ⁻¹)	2.733,83	845	3,99
O&G (mg L ⁻¹)	516	799	0,46
pH	7,82	6,50	7,27
Nitrogênio Amoniacal (mg L ⁻¹)	3,27	88	-

FONTE: O autor (2021)

A variação da composição dos efluentes se deve a capacidade de produção de cada local amostrado, entretanto, pode-se observar parâmetros que comprovam a elevada concentração de matéria orgânica no efluente proveniente de abatedouros de tilápias. Com isso, diversas etapas são empregadas para o seu devido tratamento. Metcalf e Eddy (2015) definem que o tratamento convencional segue as seguintes etapas:

- Tratamento preliminar: remoção de constituintes sólidos removíveis por operações como gradeamento, além de remoção de areia e demais constituintes que possam prejudicar os tratamentos subsequentes;
- Tratamento primário (tratamento físico-químico): remoção de sólidos suspensos e matéria orgânica;
- Tratamento secundário (tratamento biológico): remoção de matéria orgânica biodegradável, nutrientes (nitrogênio e/ou fósforo) e sólidos suspensos, seguida ou não por desinfecção;
- Tratamento terciário: remoção de constituintes residuais de sólidos suspensos e nutrientes seguida ou não por desinfecção;

- Tratamento avançado: remoção de constituintes (suspensos ou dissolvidos) que permanecem mesmo após o tratamento biológico, por exemplo, compostos orgânicos persistentes ou recalcitrantes.

2.4 Tratamento enzimático de efluentes

Neste contexto, processos alternativos envolvendo enzimas vêm sendo desenvolvidos, buscando a otimização e eficiência dos tratamentos convencionais, assim como, a preservação dos recursos naturais e a possível reutilização do resíduo em outras atividades. Atualmente podemos encontrar o uso de enzimas em diversas áreas como, indústrias farmacêuticas, de alimentos, bebidas, detergentes e de biocombustíveis, utilizando a catálise enzimática em aplicações de escala comercial (CHAPMAN; ISMAIL; DINU, 2018).

No campo de tratamentos de efluentes, podemos encontrar diversos trabalhos demonstrando a eficiência do uso de várias enzimas. Silva et al. (2012) demonstraram remoção da coloração de efluente têxtil, utilizando tratamentos enzimáticos. Tang et al. (2018) obtiveram redução significativa das taxas de DQO e O&G, utilizando um composto enzimático em lagoas de tratamento de água, proveniente do escoamento urbano e águas residuais domésticas e industriais. Ghany et al. (2020) utilizaram suplementação em coquetéis de enzimas e probióticos na alimentação de tilápias e obtiveram resultados positivos quanto ao crescimento, a alimentação e morfologia intestinal dos peixes, o que promoveu uma diminuição na contagem microbiana no efluente dos tanques.

As enzimas possuem estrutura molecular complexa, e podem ser divididas em seis classes: oxidoredutases; transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases (ORLANDELLI et al. 2012). Dos seis grupos de enzimas, as mais utilizadas em tratamento de águas residuais são as hidrolases e oxirredutases, podendo ser biocatalisador de vários poluentes, devido sua atuação em diversos substratos (FENG et al. 2021). As hidrolases catalisam a clivagem de reações em meio aquoso, e compreende um grupo grande de enzimas, englobando as proteases, amilases, xilanases, oxirredutases, ligases, esterases e lipases (CARVALHO, 2015).

2.5 Aplicações das lipases e sua utilização no tratamento de efluentes

As lipases fazem parte de uma gama de enzimas que podem ser utilizadas para fins industriais. Com o desenvolvimento biotecnológico, os avanços na produção industrial das lipases vêm proporcionando sua aplicação em diferentes segmentos (PADILHA, 2011). Atuam em diversas áreas, como: indústria têxtil; indústria de detergentes; produtos de panificação, confeitaria e aromatizantes de queijo; aplicações médicas; como biossensores; tratamento de resíduos/efluentes/esgoto; biodegradação de óleo, produção de biodiesel, entre outros (RIGO et al., 2021).

Farias (2017) destaca que esse grupo de enzimas possui diversas aplicações industriais, através de sua utilização na produção de alimentos, cosméticos (remoção de lipídeos), tratamento de efluentes (decomposição e remoção de substâncias oleosas). Em função de suas características, vêm sendo muito utilizadas em tratamentos de efluentes, devido à sua estabilidade, seletividade e ampla especificidade de substratos (HACHEMI; BENATTOUCHE; BELGHERRAS 2017). Conforme Hitch e Clavel (2019) as lipases são as enzimas mais comuns aplicadas no tratamento de efluentes com elevada concentração de óleos e graxas. Portanto, de grande interesse para serem utilizadas no tratamento de efluente de abatedouro de peixes.

Desse modo, as lipases que são enzimas catalisadoras naturais, convertem triacilgliceróis para formas mais polares como, diacilgliceróis, monoacilgliceróis, ácidos graxos livre e glicerol, apresentando importância particular, pois hidrolisam especificamente óleos e graxas, sendo de grande interesse para o tratamento de efluentes com elevada concentração de gorduras (MENDES, et al., 2005; CARVALHO, 2015). São encontradas na natureza e produzidas por diversos organismos, como plantas, animais e microrganismos, tendo como uma das principais fontes de enzimas lipolíticas as bactérias. Sarace e Ugur (2015) testaram a atividade lipolítica de enzimas produzidas por bactérias, obtendo resultados positivos para o tratamento de efluentes com elevada carga de óleos e graxas, sendo efetiva na degradação de lipídios.

As lipases possuem função hidrolítica, pois fazem a quebra de compostos mais complexos (carboidratos, lipídios e proteínas) em substâncias orgânicas solúveis (LIEW et

al., 2020). Dessa forma, o tratamento lipolítico deve ser empregado na etapa de pré-tratamento do efluente, nesse momento ocorrerá a hidrólise dos óleos e graxas, melhorando a eficiência dos tratamentos subsequentes (CHENG et al., 2020). Jesus (2016) avaliou a eficiência no pré-tratamento com lipases, de um efluente simulado de indústria de laticínios e obteve como resultado uma redução de aproximadamente 50% de O&G. Alexandre et al. (2011) demonstraram que o pré-tratamento de efluente de pescado, com enzimas lipolíticas, resulta em maior eficiência na remoção de DQO, assim como, melhora na qualidade do efluente final e redução de problemas operacionais, relacionada ao acúmulo de gordura. Valente et al. (2010) avaliaram a eficiência de um preparado enzimático sólido, rico em lipases, na hidrólise de gorduras de efluente de pescado, e obtiveram resultados promissores no tratamento (hidrólise e tratamento anaeróbio), com remoção de 98% de O&G.

Frente ao exposto, uma das principais problemáticas da indústria do pescado está relacionado ao alto volume de efluentes gerados e sua composição, contendo elevados valores de DQO, DBO, sólidos totais, O&G, entre outros. Isso demonstra que um tratamento adequado deve ser empregado, buscando métodos alternativos para alcançar a máxima eficiência na remoção da matéria orgânica, para que seu lançamento em corpos hídricos atinja os parâmetros legais, evitando danos ao meio ambiente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta e caracterização do efluente de abatedouro de peixes

O efluente em estudo foi coletado em um abatedouro de peixes localizado na região Oeste do Paraná. Na indústria, existem três plantas de produção, entre elas o abatedouro de peixes. A coleta do efluente bruto foi realizada antes do tanque de equalização de efluentes da indústria, que recebe resíduos líquidos de outras duas plantas (aves e industrializados), onde ocorre sua mistura, para seguir as próximas etapas do tratamento. Até o momento de uso, os galões foram armazenados sob refrigeração, a -20 °C.

No dia da coleta, o efluente foi caracterizado, quanto aos parâmetros de pH, DQO e O&G, seguindo as metodologias descritas na Tabela 2. As análises de DQO e O&G foram realizadas em triplicata.

TABELA 2. Parâmetros e metodologias utilizadas nas análises

Parâmetro	Metodologia	Referência
pH	Potenciometria	APHA (2005)
DQO Total	Espectrofotometria	APHA (2005)
O&G	Gravimetria	Suehara et al. (2005)

FONTE: o autor (2021)

3.1.1 pH

O pH foi determinado utilizando um pHmêtro da marca MS TECNOPON, modelo mPA 220, devidamente calibrado.

3.1.2 DQO Total

Para determinar a DQO total, foram utilizadas amostras do efluente bruto, de 2,5 mL (concentrada ou diluída), sendo adicionadas em tubos de borossilicato com tampas rosqueáveis, e 2,5 mL de água destilada (para o branco), ou das soluções de padrão preparadas para a curva de calibração.

Em seguida, adicionou-se 1,5 mL da solução de dicromato de potássio e, vagarosamente, 3,50 mL da solução de sulfato de prata em ácido sulfúrico. Sendo os frascos fechado e agitados. Em seguida, os tubos foram colocados no termo reator, previamente aquecido à temperatura de 150 °C, e mantendo-os durante 2 h.

Após o resfriamento dos tubos, foi realizada a leitura das amostras em espectrofotômetro da marca Femto, modelo 600 s com comprimento de onda em 620 nm, zerando o equipamento com o branco. Para obtenção da curva de calibração, plotou-se as

absorbâncias das soluções do padrão no eixo Y contra os valores de DQO em mg L^{-1} das soluções de biftalato ácido de potássio no eixo X e determinou se a equação da reta obtida.

3.1.3 Óleos e graxas

Para a determinação de O&G foi utilizada a metodologia proposta por Suehara et al. (2005), no qual foi adicionado em um tubo cônico uma alíquota de 15 mL do efluente, e esta foi acidificada com 0,18 mL de HCl 2N, previamente preparada.

Foram adicionados 1,5 mL de éter e centrifugado em centrífuga da marca NOVA instruments, modelo NI1812 a 3.000 rpm por 5 min. Após centrifugada, o sobrenadante foi retirado, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, e este foi colocado em um becker, previamente pesado (M1). O procedimento de acidificar, adicionar o éter e centrifugar foi repetido 3 vezes. O becker foi levado a estufa por 24 h, a 80 °C, sendo posteriormente colocado em dessecador para alcançar a temperatura ambiente e em seguida foi pesado para obter (M2). Os dados obtidos foram substituídos na Equação 1.

$$O\&G \text{ (mgL}^{-1}\text{)} = \frac{(M2-M1) \times 1000}{V1 \text{ (mL)}} \text{ Eq. (1)}$$

Em que:

M1= Massa do béquer vazio

M2= Massa do béquer e amostra retirados da estufa

V1= Volume do efluente inserido no tubo (mL)

X 1000= transformar de gramas para miligramas.

3.2 Microrganismos aplicados no pré-tratamento do efluente de abatedouro de peixes

Para os testes de degradação do efluente, foram selecionadas duas bactérias conhecidas, *Bacillus megaterium* (BM) e *Staphylococcus warneri* (SW), além de uma bactéria isolada do próprio efluente (E).

Conforme resultados obtidos por Festus e Phebe (2017), *Bacillus megaterium*, apresenta produção de lípase, em condições ótimas de pH 7,0, temperatura de 35 °C e período de incubação de 72 h. Suci, Arbianti e Hermansyah (2018) avaliaram a atividade lipolítica de *Bacillus megaterium* e obtiveram atividade de 3,30 U mL⁻¹, na temperatura de 35 °C. A bactéria *Staphylococcus warneri* possui atividade lipolítica, com uma combinação única de termoestabilidade e tolerância a solventes, havendo grandes chances de sua utilização a nível industrial (YELE e DESAI, 2015). Volpato et al. (2010) descreveram formas de separar e purificar lipases a partir da *Staphylococcus warneri*, com potencial de aplicação biotecnológica.

A seleção da bactéria do efluente, foi realizada inoculando uma alçada da amostra, por espalhamento em placas de Petri, contendo meio de cultura seletivo (Sierra, 1957), (Tabela 3), esterilizando o Tween separadamente dos demais reagentes. As placas foram incubadas por 72 h a 37 °C para o crescimento dos microrganismos. A bactéria que apresentou halo de degradação no meio, foi isolada em outra placa, contendo ágar nutriente através do método *Streak-Plate*(esgotamento)(BECKER; CALDWELL; ZACHGO, 1996) e mantidas em BOD a 30 °C.

TABELA 3. Composição do meio de cultura para seleção e determinação do índice enzimático dos microrganismos.

Reagente	Quantidade (g L ⁻¹)
Peptona	10
Cloreto de Sódio (NaCl)	5
Cloreto de Cálcio (CaCl ₂ .2H ₂ O)	0,1
Ágar	18
Tween 20	1% (v/v)

FONTE: o autor (2021)

3.3 Pré-Tratamento enzimático do efluente de abatedouro de peixes

3.3.1 Preparo do inóculo

A bactéria do efluente que apresentou halo de degradação, bem como as bactérias *Bacillus megaterium* e a *Staphylococcus warneri*, além da combinação destas, foram utilizadas para o preparo do inóculo. Primeiramente fez-se a ativação das bactérias lipolíticas selecionadas, adicionando-se em erlenmeyers de 250 ml, duas alçadas de colônias em 100 mL de meio de cultivo esterilizado contendo: extrato de levedura (2 g L^{-1}), peptona (5 g L^{-1}), KH_2PO_4 ($3,0 \text{ g L}^{-1}$), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($0,2 \text{ g L}^{-1}$) e 1% (v/v) de óleo de soja. Os erlenmeyers foram inseridos em agitador incubadora shaker da marca CIENLAB, modelo CE-725/R150 rpm, a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h (BUENO et al.,2014; LIMA, 2015).

Após 24 h de agitação, a suspensão de células obtida foi inoculada em outro erlenmeyer de 250 mL, contendo 90 mL do efluente em estudo (efluente de abatedouro de peixe) esterilizado. A inoculação foi realizada na proporção de 10% (v/v) e incubada nas mesmas condições anteriormente descritas, por mais 24 h. Posteriormente, a suspensão obtida foi padronizada por densidade óptica, ajustando-se a absorbância do inóculo em espectrofotômetro a 600 nm de comprimento de onda, pela adição de suspensão celular em solução salina 0,8%, até alcançar a absorbância de 1,0.

3.3.2 Delineamento experimental

Para realização do pré-tratamento do efluente em estudo, foram realizados 6 tratamentos contendo a bactéria isolada do efluente (E) e as bactérias *Bacillus megaterium* (BM) e a *Staphylococcus warneri* (SW), além da combinação destas (Tabela 4). Os experimentos foram realizados a temperatura de $37 \text{ }^\circ\text{C}$, pH 7 e concentração de inóculo de 10%. Os valores de referência das variáveis estudadas foram baseados em dados encontrados na literatura (VALLADÃO, FREIRE e CAMMAROTA, 2007; RIGO et al., 2008; VALENTE et al., 2010; ROCHA et al., 2013; MAZZUCOTELLI et al., 2014; AFFANDI et al., 2014; LIMA, 2015; SONUNE e GARODE, 2018).

TABELA 4. Composição dos tratamentos aplicados.

Tratamento	Microrganismo(s)
1	SW+E
2	E
3	BM
4	BM+ SW
5	SW
6	BM+E

FONTE: O autor (2021).

Após 72 h de tratamento foram avaliadas as variáveis: DQO e O&G, em triplicata e pH. O pH inicial (0 h) foi ajustado para 7, para manter o meio neutro e favorecer a atividade dos microrganismos. As eficiências de remoção de DQO e O&G foram calculadas através da Equação 2.

$$E = \frac{c1-c2}{c1} * 100 \quad \text{Eq. (2)}$$

Em que:

C1 = concentração inicial

C2 = concentração final

3.3.3 Atividade lipolítica

Após 72 h de cultivo do inóculo, foi avaliada a atividade lipolítica dos tratamentos, pelo método titulométrico segundo Dellamora-Ortiz et al. (1997), com modificações. Utilizou-se 5mL de emulsão de óleo de oliva 20% (v/v) em goma arábica 5% (p/v) e 2 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,0. O ensaio foi realizado em shaker marca CIENLAB, modelo CE-725/R com agitação de 180we rpm, a 37 °C, sendo iniciado pela adição de 3 mL da preparação enzimática e após 20 minutos de incubação, a reação foi paralisada para adição de 10 mL de uma mistura etanol e acetona (1:1). Os ácidos graxos formados pela hidrólise dos triacilgliceróis presentes na emulsão foram quantificados pela

titulação com NaOH 0,05 N, aplicando-se fenolftaleína como indicador. Também foi utilizado um branco, contendo 3 mL do tampão fosfato de sódio. A atividade lipolítica foi calculada utilizando-se a Equação 3 e expressa em micromoles de ácidos graxos liberados, por minuto de reação, por mililitro de amostra.

$$A \text{ (U. mL}^{-1}\text{)} = \frac{V_1 - V_2 * N * 1000}{V_3 * T} \text{ Eq. (3)}$$

Em que:

A = atividade enzimática;

V1 = volume de NaOH gasta na titulação da amostra;

V2 = volume de NaOH gasta na titulação do branco;

N = normalidade corrigida do NaOH utilizado;

V3 = volume utilizado do preparo enzimático;

T = tempo de reação (min.).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização inicial do efluente de abatedouro de peixes

Logo após sua coleta, o efluente foi caracterizado quanto aos parâmetros de DQO, O&G e pH. Os valores iniciais, e os encontrados na literatura estão descritos na Tabela 5.

TABELA 5. Caracterização inicial do efluente de abatedouro de peixes e comparação com a literatura

Parâmetros	Neste estudo	Campos (2020)	João (2018)	Murakami (2018)
DQO (mg L ⁻¹)	3.412,5± 339,78	907	3.372	5.335,92
O&G(mg L ⁻¹)	2.746,67± 147,27	799	113	516
pH	4,46	6,45	6,5	7,82

FONTE: O autor (2021)

A variação dos valores encontrados na literatura está relacionada com a capacidade de produção dos locais amostrados, as etapas do processo da indústria, entre outros fatores. Contudo, podemos observar elevados teores de DQO e O&G nos efluentes, demonstrando conter elevada carga orgânica, reforçando a necessidade de tratamento adequado e eficaz para seu lançamento em corpos hídricos.

A DQO indica a quantidade de oxigênio necessária, para oxidação química da matéria orgânica e inorgânica presente no efluente. Devido sua composição, esse tipo de efluente apresenta altos teores de DQO, contendo alta carga de gordura e matéria orgânica, provinda dos resíduos da produção e da higienização do abatedouro. João (2018) caracterizou efluente proveniente de abatedouro de peixe, e obteve resultados de DQO com valores próximos aos do presente estudo. Murakami (2018) caracterizou efluente bruto de abatedouro de peixe, e obteve resultados ainda mais elevados quanto a DQO.

O parâmetro de O&G indica o residual de gordura no efluente. Seu excesso reduz o oxigênio dissolvido e eleva a DQO, sendo um dos parâmetros utilizados pelas indústrias para controle de possíveis danos a tubulações e equipamentos, pela incrustação da gordura. O efluente do estudo foi coletado, em uma indústria com mais de 100 mil tilápias abatidas por dia, devido essa capacidade, o teor de O&G tende a ser mais elevado. Efluentes provenientes de indústria de alimentos, em geral apresentam teores significativos de O&G. Quanto aos parâmetros de O&G, Murakami (2018) descreveu 516 mg L^{-1} , presente em efluente bruto de pescado. Campos (2020) também encontrou valores elevados de O&G em efluente proveniente de abatedouro de peixes, atingindo 799 mg L^{-1} .

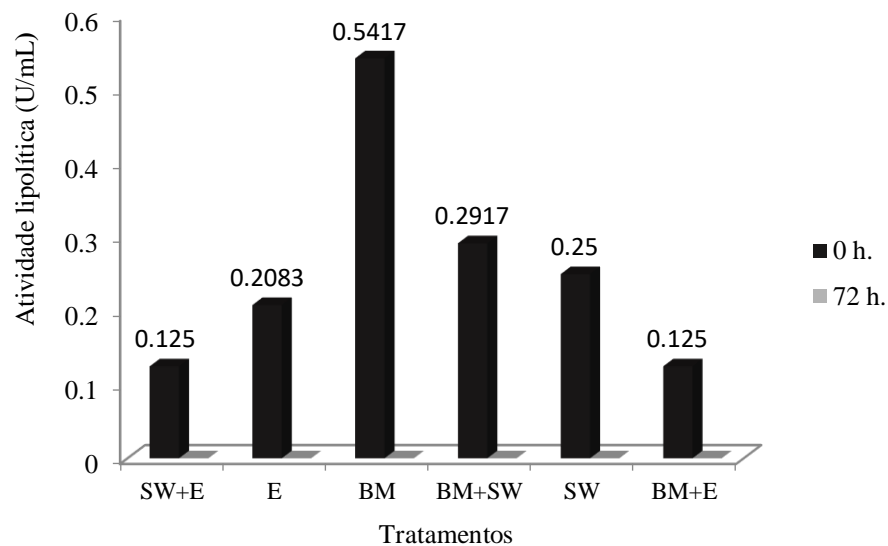
O pH é um dos parâmetros que afeta o tratamento de efluentes, pois os microrganismos tendem a atingir máxima eficiência de seu metabolismo em pH próximo a neutralidade. Por conta disso, o pH do efluente do estudo, foi ajustado a 7, para realização do pré-tratamento. Caso o pH inicial do efluente permanecesse 4,46, comprometeria a atuação das enzimas nos tratamentos. Alguns autores relatam trabalhos envolvendo efluente de abatedouro de peixe, com pH variados e próximos a neutralidade: Pires (2017) com pH de 7,27, Murakami (2018) com pH de 7,82 e Campos (2020) com pH de 6,45.

4.2 Pré- tratamento enzimático do efluente de abatedouro de peixes

4.2.1 Atividade Lipolítica

Em teste no tempo zero, pode-se observar a atividade lipolítica nos tratamentos (Figura 2). Após 72 h, os tratamentos do estudo não atingiram valores de atividade lipolítica esperada, que pode ter ocorrido por alguns fatores. O principal deles é o tempo, onde as bactérias podem ter atingido seu máximo de produção de lípases, horas antes, e decaído no momento avaliado. Dias et al. (2021) relataram em seu trabalho atividade lipolítica elevada em 12 h de tratamento. Já Bueno (2012) relatou elevada atividade enzimática em 24 h de tratamento, demonstrando que as bactérias possuem diferentes e variados momentos de pico de produção da lípase.

FIGURA 2. Atividade lipolítica nos tratamentos aplicados



FONTE: O autor (2021)

4.2.2 Remoção de O&G

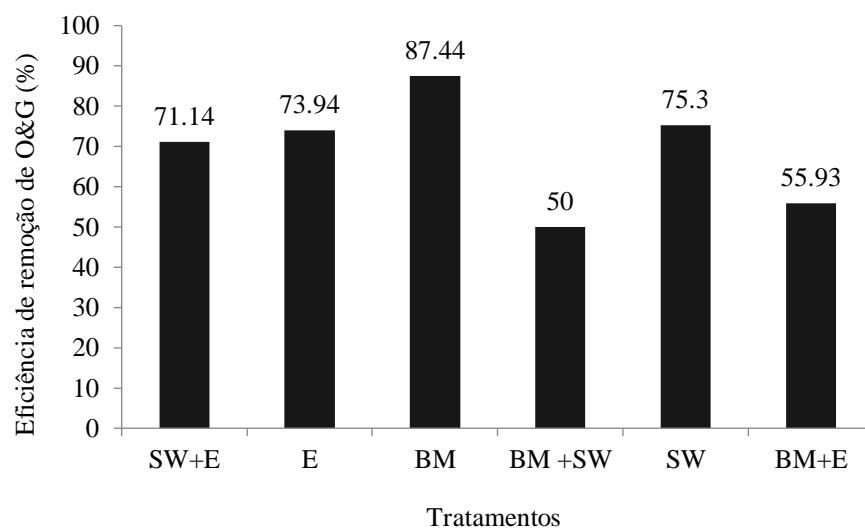
As concentrações iniciais e finais de O&G estão descritas na Tabela 6. Como observado, foram obtidos valores elevados de O&G em zero hora, assim como, consideráveis reduções das concentrações finais. Na Figura 3 pode-se observar as porcentagens de remoção de todos os tratamentos aplicados.

TABELA 6. Concentrações iniciais e finais de O&G nos tratamentos aplicados

Tratamento	O&G (mg L ⁻¹) – 0 h	O&G (mg L ⁻¹) – 72 h
SW + E	993,33±111,20	286,67± 152,54
E	1.893,33± 484,91	493,33± 87,09
BM	1.326,67± 273,46	166,67± 181,18
BM+SW	706,67± 927,09	353,33± 147,002
SW	1.106,67± 158,63	273,33± 172,93
BM+E	786,67± 138,56	346,67± 39,25

FONTE: O autor (2021)

FIGURA 3. Eficiência de remoção de O&G nos tratamentos aplicados.



FONTE: O autor (2021)

Na Figura 3 pode-se observar a maior porcentagem de remoção de O&G no tratamento BM, contendo a bactéria *Bacillus megaterium* (87,44%), demonstrando ser uma bactéria com potencial na produção da enzima lípase. O tratamento SW, contendo *Staphylococcus warneri* obteve uma eficiência considerável na remoção de O&G (75,3 %). A bactéria lipolítica isolada do próprio efluente (E) também apresentou bons resultados quanto a remoção de O&G, com eficiência de 73,94%, demonstrando ser viável sua identificação, para futuros estudos envolvendo remoção de O&G em efluentes. Os tratamentos restantes, utilizando a combinação das bactérias, também obtiveram eficiências significativas, entretanto menores.

Lima, Prates e Fazolo (2019), avaliaram a remoção de O&G em efluente de curtume, utilizando produto comercial contendo duas bactérias do gênero bacilos, e obtiveram 50% de remoção de DQO, após 72h de pré-tratamento com 1% de inóculo. Moura et al. (2020), da mesma forma, atingiram resultados positivos quanto a remoção de O&G, em efluentes de laticínio, utilizando fungo com atividade lipolítica, com 91,63% de remoção de O&G no experimento.

4.2.3 Remoção de DQO

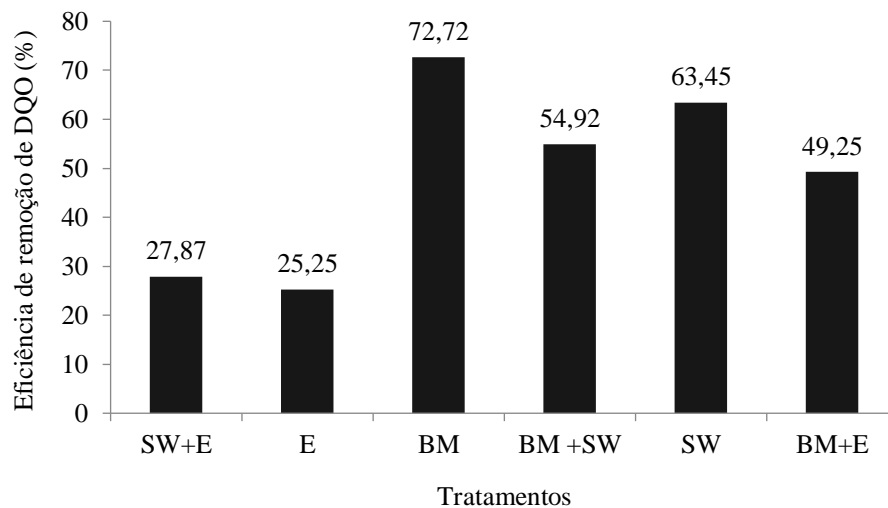
Os valores de DQO obtidos, após o pré-tratamento enzimático de 72 h, estão descritos na Tabela 7, indicando altos níveis de DQO e diminuição significativa após o tratamento. As porcentagens de remoção de DQO estão descritas na Figura 4.

TABELA 7. Concentrações iniciais e finais para a DQO nos tratamentos aplicados.

Tratamento	DQO (mg L ⁻¹) – 0 h	DQO (mg L ⁻¹) – 72 h
SW + E	2.256,25± 0	1.627,5± 35,35
E	3.381,25± 412,47	2.527,5± 58,92
BM	5.600±656,49	1.527,5± 62,36
BM+SW	3.693,75±500	1.665± 82,49
SW	4.350±849,32	1.590± 108,97
BM+E	3.256,25± 250	1.652,5± 147,19

FONTE: O autor (2021)

FIGURA 4. Eficiência de remoção de DQO nos tratamentos aplicados



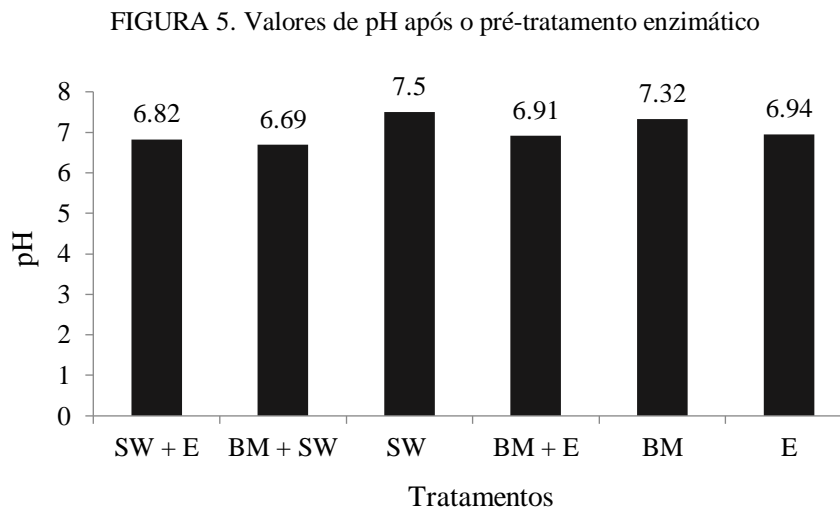
FONTE: O autor (2021)

Os tratamentos que apresentaram maiores remoções de DQO foram BM com 72,72% e SW com 63,45%. O tratamento BM+SW também apresentou considerável remoção de DQO. A menor eficiência pode ser observada no tratamento E, contendo a bactéria isolada do efluente (25,25%), demonstrando a importância de mais testes, em outras condições, ou na avaliação de remoção de outros parâmetros. Entretanto, o tratamento contendo a bactéria *Bacillus megaterium* com a bactéria do efluente, apresentou considerável remoção de DQO (50%), podendo ser explicada pela presença da BM ao meio em questão.

Lima, Prates e Fazolo (2019) observaram redução de 70% de DQO em ensaios com inóculo microbiano, nas primeiras 48 h de experimento, utilizando efluente de curtume, com altos índices de DQO. Affes et al. (2017) realizaram pré-tratamento enzimático com bactérias lipolíticas, em efluente bruto proveniente de abatedouro de aves, com DQO de 2.800 mg L^{-1} e obtiveram 72% de remoção de DQO, corroborando com valores encontrados no presente estudo. Quando utilizado o pré-tratamento com enzimas, o tratamento biológico subsequente é facilitado, devido a remoção de O&G do efluente. Entretanto, o presente estudo reforça a necessidade dos tratamentos subsequentes, pois apesar dos bons resultados na remoção tanto de DQO como de O&G, os valores após o pré-tratamento enzimático ainda se encontram elevados.

4.2.4 Valores de pH após o pré-tratamento enzimático do efluente de abatedouro de peixes

O pH inicial dos tratamentos foi ajustado para 7, e após 72 h, não apresentaram valores significativos diferentes (Figura 5).



FONTE: O autor (2021)

O pH afeta diretamente a atuação da enzima, visto que pode acarretar alteração na sua estrutura molecular e conseqüentemente perder a efetividade, sendo que as enzimas apresentam

atividade máxima geralmente próximo neutro ou alcalino (MOBARAK-QAMSARI et al., 2012; SAADATULLAH et al., 2018). Alves et al. (2018) compararam a atividade enzimática em diferentes valores de pH, e obtiveram uma diminuição na hidrólise em meio ácido, utilizando pH de 4. Por conta do equilíbrio do pH, o presente estudo obteve bons resultados quanto ao tratamento enzimático. Moura (2020) da mesma forma, obteve pouca mudança no valor de pH, após 168 h de pré-tratamento com produção de lipase. Portanto, efluentes com valores de pH inferiores ao neutro, podem não apresentar remoção tão eficiente.

5. CONCLUSÃO

A partir da caracterização inicial do efluente proveniente de abatedouro de peixes, pode-se concluir que este, possui elevadas cargas de matéria orgânica, apresentando altas concentrações de DQO e O&G. Devido aos resultados dos parâmetros analisados, um tratamento adequado e efetivo se torna essencial. Através dos pré-tratamentos realizados com as três bactérias lipolíticas, houve diminuição significativa dos valores de DQO e O&G, com destaque para a bactéria *Bacillus megaterium*, que apresentou as remoções mais elevadas tanto para DQO quanto para O&G. Apesar dos bons resultados na remoção de DQO e O&G, os valores finais obtidos ainda são elevados, reforçando a necessidade de tratamentos subsequentes, como processos anaeróbios e aeróbios.

REFERÊNCIAS

AFFANDI, I. E.; SURATMAN, N. H.; ABDULLAH, S.; AHMAD, W. A.; ZAKARIA, Z. A. Degradation of oil and grease from high-strength industrial effluents using locally isolated aerobic biosurfactant-producing bacteria. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 95, p. 33-40, 2014.

AFFES, M. ALOUI, F.; HADRICH, F.; LOUKIL, S.; SAYADI, S. Efeito da lipase bacteriana na co-digestão anaeróbia de águas residuais de matadouro e graxas em condição de batelada e reator de leito fixo contínuo. **Lipídios na saúde e na doença**, v. 16, n. 1, pág. 1-8, 2017.

AGUIAR, G. P. S.; LIMBERGER, G. M.; SILVEIRA, E. L. Alternativas tecnológicas para o aproveitamento resíduos provenientes da industrialização de pescados. **Revista Eletrônica da UNIVAR**, v. 1, n. 11, p. 219–225, 2014.

ALEXANDRE, V. M. F.; VALENTE, A. M.; CAMMAROTA, M. C.; FREIRE, D. M.; Performance of anaerobic bioreactor treating fish-processing plant wastewater pre-hydrolyzed with a solid enzyme pool. **Renewable Energy**, v. 36, n. 12, 3439-3444, 2011.

APHA. American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21 ed. Washington, 2005.

BECKER, J. M.; CALDWELL, G. A.; ZACHGO, E. A. Exercise 1 – Aseptic Technique and Establishing Pure Cultures: The Streak Plate and Culture Transfer. In: BECKER, J. M.; CALDWELL, G. A.; ZACHGO, E. **Biotechnology: A Laboratory Course**. 2.ed. Academic Press, 1996. p. 9-16.

BRASIL, Confederação da agricultura e pecuária do Brasil. **Altas do consumo e da produção de tilápia no Brasil ainda não refletem nas margens do produtor, que seguem pressionadas por custos crescentes e alta barganha da indústria**. 2018. Disponível em: < <https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/artigostecnicos/Antecipacao-CNA-Cena%CC%81rio-Econo%CC%82mico-Tilapia.pdf>> Acesso em: 21 jun. 2021.

BRASIL. IBGE. **Produção da aquicultura**. Brasil, 2020. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940#resultado>> Acesso em: 21 jun. 2021.

BRASIL. **Lei nº 9.433**, de 8 de janeiro de 1997. Institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, cria o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, regulamenta o inciso XIX do art. 21 da Constituição Federal, e altera o art. 1º da Lei nº 8.001, de 13 de março de 1990, que modificou a Lei nº 7.990, de 28 de dezembro de 1989. Diário Oficial da União, de 9 jan. 1997. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9433.htm> Acesso em: 12/01/2017.

BRASIL. **Resolução CONAMA nº340**, de maio de 2011. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

BRASIL. **Resolução nº 274**, de 28 de novembro de 2000. Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>> Acesso em: 25 mai. 2021.

BUENO, P. R. M. **Isolamento, seleção e cultivo de bactérias produtoras de lipases para tratamento de efluentes da indústria de alimentos**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2012.

BUENO, P. R. M.; OLIVEIRA, T. F.; CALIARI, M.; CASTIGLIONI, G. L.; SOARES JÚNIOR, M. S. Selection and optimization of extracellular lipase production using agroindustrial waste. **AfricanJournalofBiotechnology**, v. 13, p. 566-573, 2014.

CAMPOS, E. G. P. **Tratamento de efluente do processamento de peixe utilizando coagulação/sedimentação e flotação**. 2020. 93 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2020.

CARVALHO, C, F. **Caracterização funcional e estrutural de uma enzima lipolítica encontrada na biblioteca metagenômica de solo de Terra Preta de Índio**. 2015. 55 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

CASTRO, R. D. P. V. D.; MELLO, V. M. D.; ALEXANDRE, V. M. F.; CAMMAROTA, M. C. Pré-tratamento físico-químico e enzimático para efluente de abatedouro. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 24, 975-981, 2019.

CHAPMAN, J.; ISMAIL, A E.; DINU, C, Z. Industrial applications of enzymes: Recent advances, techniques, and outlooks. **Catalysts**, v. 8, n. 6, 2018.

CHENG, D.; LUI, Y.; NGO, H. H.; GOU, W.; CHANG, D. D. N.; ZHANG, S.; LUO, G.; LIU, Y. A review on application of enzymatic bioprocesses in animal wastewater and manure treatment. **Bioresource Technology**, v. 313, 2020.

COLLA, L, M.; REINEHR, C, O.; COSTA, J, A, V. Aplicações e produção de lipases microbianas. **Revista CIATEC-UPF**, v. 4, n. 2, p. 1- 14. 2012.

COSMANN, N. J.; GOMES, S. D; ANDRADE, L.; KUMMER, A. C. B. Caracterização do efluente de processamento de pescado e desempenho da lagoa anaeróbia. In: I Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos de animais e tratamento de dejetos de animais, 2009, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SIGERA, 2009. p. 550- 554.

CRISTÓVÃO, R, O.; BOTELHO, C. M.; MARTINS, R. J.; LOUREIRO, J. M.; BOAVENTURA, R. A. Primarytreatmentoptimizationof a fishcanningwastewaterfrom a Portugueseplant. **Water Resources and Industry**, Bragança, v. 6, p. 51-63, 2014.

DELLAMORA-ORTIZ, G. M.; MARTINS, R. C.; ROCHA, W. L.; DIAS, A. P. Activity and stability of a *Rhizomucormiehei* lipase in hydrophobic media. **BiotechnologyAppliedBiochemistry**, v. 26, p. 111-116, 1997.

DIAS, M. F.; MARTINS, M. L.; SILVA, R. R.; TREVIZANO, L. M. PRÉ-TRATAMENTO ENZIMÁTICO DE EFLUENTE DE INDÚSTRIA DE LATICÍNIOS UTILIZANDO LIPASES MICROBIANAS. **Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**, v. 2, n. 1, p. 51-65, 2021.

FARIAS, C. M. M. **Produção e aplicação de lipases obtidas de *Aspergillus* seção Terrei utilizando resíduo hidrolisado proteico de peixe como substrato**. 2017. 143 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

FENG, S.; NGO, H. H.; GUO, W. CHANG, S. W.; NGUYEN, D. D. CHENG, D.; LIU, Y.; Roles and applications of enzymes for resistant pollutants removal in wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 335, 2021.

FESTUS, F. I.; PHEBE, A. Q. Optimization of Lipase Production by *Bacillus megaterium*. **Biotechnology Journal International**, v. 18, n. 11, p. 1-11, 2017.

FURINI, G. **Produção de enzimas lipolíticas por bactérias isoladas de sistemas de tratamento biológico de efluentes**. 2017. 81 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

GHANY, H. M.; MOHAMED, S. S.; ABOUELKHIER, S. S.; HELAL, A. M. Effect of a cocktail of enzymes and probiotics on the growth and the bacterial enumeration in gut and effluents of red tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*). **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 46, n. 3, p. 289-294, 2020.

HACHEMI, L.; BENATTOUCHE, Z.; BELGHERRAS, M. E. Lipolytic bacteria use as bio-decontaminating natural in the water purification stations. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 873-878, 2017.

HITCH, T. C.; CLAVEL, T. A proposed update for the classification and description of bacterial lipolytic enzymes. **PeerJ**, v. 7, p. 1-19, 2019.

HUNDLEY, G. M. C.; NAVARRO, R. D.; FIGUEIREDO, C. M. G.; NAVARRO, F. K. S. P.; PEREIRA, M. M.; RIBEIRO FILHO, O. P.; SEIXAS FILHO, J. T. Aproveitamento do efluente da produção de tilápia do Nilo para o crescimento de manjeriço (*Origanum basilicum*) e manjerona (*Origanum majorana*) em sistemas de aquaponia. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 3, n. 1, p. 51- 55, 2013.

JESUS, A. R.; PADILLA, R. Y. C.; SUTILI, F. K.; LIMA, A. S.; SOARES, C. M. F. Pré-tratamento enzimático de efluentes com alto teor de gorduras: avaliação das variáveis do processo. In: 18ª Semana de Pesquisa da Universidade Tiradentes-SEMPESq, 2016, Tiradentes. **Anais...** Tiradentes: Universidade de Tiradentes, 2016. p. 1-4.

JOÃO, J. J.; EMERICK, T.; NISHIHORA, R. K. Processo De Eletrocoagulação- Flotação: Investigação dos parâmetros operacionais para o tratamento de águas residuais da indústria de pescados. **Química Nova**, v. 41, p. 163-168, 2018.

LIEW, Y. X.; CHAN, Y. J.; MANICKAM, S.; CHONG, M. F.; CHONG, S.; TIONG, T. J.; PAN, G. T. Enzymatic pretreatment to enhance anaerobic bioconversion of high strength wastewater to biogas: A review. **Science of the Total Environment**, v. 713, 2020.

LIMA, V.; PRATES, K. V.; FAZOLO, A. Avaliação da eficiência de bactérias lipolíticas e lipase suína no pré-tratamento de efluente de curtume. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 8, n. 4, p. 131-151, 2020.

MAZZUCOTELLI, C. A.; DURRUTY, I.; KOTLAR, C. E.; MOREIRA, M. R.; PONCE, A. G.; ROURA, S. I. Development of a microbial consortium for dairy wastewater treatment. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 19, n. 2, p. 221-230, 2014.

MENDES, A. A.; CASTRO, H. F. D.; PEREIRA, E. B.; FURIGO, A. J. Aplicação de lipases no tratamento de águas residuárias com elevados teores de lipídeos. **Química Nova**, v. 28, n. 2, p. 296-305, 2005.

METCALF, L.; EDDY, H. P. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. 5 ed. AMGH: Porto Alegre Brasil, 2015.

MOBARAK-QAMSARI, E.; KASRA-KERMANSHAHI, R.; NOSRATI, M.; AMANI, T. Enzymatic pre-hydrolysis of high fat content dairy wastewater as a pretreatment for anaerobic digestion. **International Journal of Environmental Research**, v. 6, n. 2, p. 475-480, 2012.

MOURA, J. D. **Uso de lipase fúngica na remoção de O&G em efluentes lácteos**. 2020. 28 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2020.

MURAKAMI, K. T. T. **Avaliação do consumo de água e da geração de efluentes em uma indústria de processamento de tilápias**. 2018. 126 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2018.

ORLANDELLI, R. C.; SPECIAN, V.; FELBER, A. C.; PAMPHILE, J. A. Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações. **Revista de Saúde e Biologia**, Maringá, v. 7, n. 3, 2012.

PADILHA, G. S.; FERREIRA, J. F.; CASTIGLIONI, G. L.; ALEGRE, R. M.; TAMBOURGI, E. B. Avaliação da lipase extracelular de *Pseudomonas cepacia* para purificação em sistema bifásico aquoso. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 31, n. 1, p. 16-22, 2011.

PEDROZA FILHO, M. X.; RIBEIRO, V.; ROCHA, H.; UMMUS, M.; VALE, T. **Caracterização da cadeia produtiva da tilápia nos principais polos de produção do Brasil**. Palmas, TO: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2020.

PEIXE BR. Associação Brasileira de Piscicultura. **Anuário Brasileiro da Piscicultura PEIXE BR 2021**. São Paulo: Peixe BR, 2020. Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/anuario-2021/>> Acesso em: 21 jun. 2021.

PEREIRA, E. B.; **Tratamento enzimático para remoção de gorduras dos resíduos gerados por indústrias de produtos avícolas**. 2004, 171 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

PIRES, H. A. **Tratamento de efluente da industrialização de pescado com sistema de ultrafiltração**. 2017, 50 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2017.

RIGO, D.; GAYESKI, L.; TRES, G. A.; CAMERA, F. D.; ZENI, J.; VALDUGA, E.; BACKES, G. T. Produção Microbiológica de Enzimas: uma Revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 9232-9254, 2021.

RIGO, E.; RIGONI, R. E.; LODEA, P.; OLIVEIRA, D. D.; FREIRE, D. M.; LUCCIO, M. D. Application of different lipases as pretreatment in anaerobic treatment of wastewater. **Environmental Engineering Science**, v. 25, n. 9, p. 1243-1248, 2008.

ROCHA, D.; GOMES, B. M.; GOMES, S. D.; SENE, L.; ZENATTI, D. C. Selection of microorganisms' producer of lipase for fat removal from biodiesel purification water. **Engenharia Agrícola**, v. 33, n.2, p. 332-340, 2013.

SAADATULLAH, I. M.; JAN, M.; WAHEEDULLAH, N. M.; UR REHMAN, Z. Isolation, identification and characterization of a lipase producing *Pseudomonas*. **Journal of Biomaterials**, v. 2, n. 2, p. 51-57, 2018.

SARAC, N.; UGUR, A. A green alternative for oily wastewater treatment: lipase from *Acinetobacterhaemolyticus* NS02-30. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 42, p. 1975-19759, 2016.

SIERRA, G. A simple method for the detection of lypolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substracts. **AntoninevanLeeuwenhoeck**, v.28, n.1, p. 15-22, 1957.

SILVA, A. G. M.; HORNES, M. O.; MITTERER, M. L.; QUEIROZ, M. I. Application of coagulants in pretreatment of fish wastewater using factorial design. **DesalinationandWaterTreatment**, v. 1, n. 3, p. 208-214, 2009.

SILVA, M. C.; CORREA, A. D.; TORRES, J. A.; AMORIM, M. T. S. P. Descoloração de corantes industriais e efluentes têxteis simulados por peroxidase de nabo (*Brassica campestris*). **Química Nova**, Lavras, v. 35, n. 5, p. 889-894, 2012.

SONUNE, N.; GARODE, A. Isolation, characterization and identification of extracellular enzyme producer *Bacillus licheniformis* from municipal wastewater and evaluation of their biodegradability. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 2, n. 1, p. 37-44, 2018.

SOUZA, M. A.; VIDOTTI, R. M.; NETO, A. L. O. Redução no consumo de efluente gerado em abatedouro de tilápia do Nilo através da implantação de conceitos de produção mais limpa (P+ L). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 2, p. 289-296, 2018.

SUCI, M.; ARBIANTI, R.; HERMANSYAH, H. Lipase production from *Bacillus subtilis* with submerged fermentation using waste cooking oil. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v.105, n.1, p.1-6, 2018.

SUEHARA, K.; KAWKMOTO, Y.; FUJII, E. KOHDA, J.; NAKANO, Y.; YANO, T. Biological treatment of wastewater discharged from biodiesel fuel production plant with alkali-catalyzed transesterification. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, EUA, v. 100, n. 4, p. 437-442, 2005.

TANG, P.; XIANG, Z.; ZHOU, Y.; ZHANG, Y. Enzyme treatment improves the performance of laboratory-scale vertical flow constructed wetland. **Bioresource Technology**, Zhejiang, v. 268, p. 665-671, 2018.

TREICHEL, H., DE OLIVEIRA, D., MAZUTTI, M. A., DI LUCCIO, M., OLIVEIRA, J. V. A review on microbial lipases production. **Food and Bioprocess Technology**, v. 3, n. 2, p. 182-196, 2010.

VALENTE, A. M.; ALEXANDRE, V. M.; CAMMAROTA, M. C.; FREIRE, D. M. G. Pré-hidrólise enzimática da gordura de efluente da indústria de pescado objetivando o aumento da produção de metano. **Food Science and Technology**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 2, p. 483-488, 2010.

VOLPATO, G.; FILICE, M.; AYUB, M. A.; GUIBAN, J. M.; PALOMO, J. M. Single-step purification of different lipases from *Staphylococcus warneri*. **Journal of Chromatography**, v. 1217, n. 4, p. 473-478, 2010.

YELE, V. U.; DESAI, K. A new thermostable and organic solvent-tolerant lipase from *Staphylococcus warneri* optimization of media and production conditions using statistical methods. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 175, n. 2, p. 855-869, 2015.

ZENATTI, D. C. **Avaliação da nitrificação de efluente de abatedouro de tilápia em reator em batelada sequencial aerado com biomassa imobilizada**. 2007. 106 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual do Paraná, Cascavel, 2007.