

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GABRIELE ALINE ANDERLE



EFETIVIDADE DA *BACILLUS MEGATERIUM* NO TRATAMENTO DE
EFLUENTE DE ABATE DE PEIXES

PALOTINA

2021

GABRIELE ALINE ANDERLE

EFETIVIDADE DA *BACILLUS MEGATERIUM* NO TRATAMENTO DE
EFLUENTE DE ABATE DE PEIXES

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia, no Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia, Setor de Palotina, da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a. Dra. Eliane Hermes

Co-Orientadora: Prof^a. Dra Adriana F. Rosado

PALOTINA

2021

Universidade Federal do Paraná. Sistemas de Bibliotecas.
Biblioteca UFPR Palotina.

A544 Anderle, Gabriele Aline
Efetividade da *Bacillus Megaterium* no tratamento de
efluente de abate de peixes [recurso eletrônico]
/ Gabriele Aline Anderle. – Palotina, PR, 2021.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do
Paraná, Setor Palotina, PR, Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia, 2021.

Orientadora: Eliane Hermes

Coorientador: Adriana F. Rosado

1. Água residuária. 2. Carga orgânica. 3. Pré-tratamento
enzimático. I. Hermes, Eliane. II. Rosado, Adriana F. III.
Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDU 606



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO BIOTECNOLOGIA -
40001016083P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação BIOTECNOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **GABRIELE ALINE ANDERLE** intitulada: **Efetividade da *Bacillus megaterium* no tratamento de efluente de abate de peixes**, sob orientação da Profa. Dra. ELIANE HERMES, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 17 de Dezembro de 2021.

Assinatura Eletrônica

20/12/2021 09:12:25.0

ELIANE HERMES

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

20/12/2021 14:04:46.0

RAQUEL STROHER

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

20/12/2021 20:07:17.0

DILCEMARA CRISTINA ZENATTI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

RUA PIONEIRO, 2153 - PALOTINA - Paraná - Brasil

CEP 85950-000 - Tel: (44) 3211-8500 - E-mail: mestrado@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 06 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 138099

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prpg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 138099

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me iluminado e por ter ouvido minhas orações, me mantendo forte em todos os obstáculos.

Aos meus pais, Clemar e Tânia, por serem minhas maiores inspirações, e meus maiores incentivadores, ao meu irmão Pedro, por sempre ser meu apoio, ao meu companheiro de vida Kelvin, por me incentivar e não medir esforços para me ajudar. Vocês são tudo o que tenho!

À minha orientadora, Professora Dra. Eliane Hermes, por todo o incentivo, orientação, dedicação, paciência e confiança.

À minha família, de forma geral, todos sempre com palavras positivas e dispostos a estender a mão não importando a situação.

Aos colegas de laboratório Karen e Victor, obrigada por todo o companheirismo, dedicação, paciência e por todo o auxílio durante o experimento.

À Professora Dra. Adriana Fiorini por toda a co-orientação.

Às minhas amigas, que mesmo de longe sempre sabiam dizer as palavras certas me incentivando e confortando.

Aos meus amigos e colegas de trabalho, Francieli, Vitor, Felype e Vinícius por fazerem os dias de trabalho se tornarem mais leves e descontraídos, por todo apoio e incentivo a mim transmitidos.

A todos que de alguma forma puderam contribuir para a realização deste trabalho, muito obrigada.

"Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível."
(Charles Chaplin)

RESUMO

O Brasil destaca-se no ramo da indústria pesqueira, porém tal segmento consome uma elevada quantidade de água em todas as etapas de seu processo, tornando o país um grande gerador de efluentes e resíduos. Os resíduos sólidos por conterem um alto valor nutricional podem ser utilizados na fabricação de ração animal, no entanto, o efluente por conter uma alta concentração de lipídeos e matéria orgânica deve ser submetido a um tratamento, para que se possa dar a sua devida destinação. Atualmente os processos existentes para que ocorra a redução da concentração de lipídeos contidos nos efluentes são por meio da ação de microrganismos, capazes de produzir enzimas lipolíticas responsáveis pela hidrólise dos lipídeos, facilitando as etapas subsequentes do tratamento. Desta maneira, o presente estudo teve por objetivo avaliar o pré-tratamento de efluente de abatedouro de peixes por meio de microrganismo produtor de lipase. Inicialmente, foram realizados testes preliminares com três microrganismos, *Staphylococcus warneri*, *Bacillus megaterium* e um microrganismo isolado do próprio efluente, onde avaliaram-se os parâmetros: demanda química de oxigênio (DQO), óleos e graxas (O&G) e atividade lipolítica. A partir disso, identificou-se a *Bacillus megaterium* como o microrganismo que obteve as maiores eficiências para os parâmetros citados e desta forma utilizá-lo no pré-tratamento do efluente de abatedouro de peixes. Para tal, utilizou-se um delineamento composto central rotacional (DCCR), tendo como variáveis independentes: pH, temperatura e concentração de inóculo e como variáveis respostas: atividade lipolítica, DQO, O&G, ácidos graxos livres e pH, ao longo de 72 h. Após o tratamento, foram alcançadas atividade lipolítica de 0,25 mL⁻¹, remoções de 61,11% de DQO, 85,8% de O&G, além da produção de 12,54 µmol mL⁻¹ de ácidos graxos livres. Sendo assim, foi possível concluir que utilizando-se a enzima lipase produzida pela bactéria *Bacillus megaterium*, reduziu-se de forma significativa os parâmetros avaliados, tornando-a promissora para o tratamento deste efluente.

Palavras-chave: água residuária, carga orgânica, pré-tratamento enzimático.

ABSTRACT

Brazil stands out in the fishing industry, but this segment consumes a large amount of water in all the stages of its processes, making the country a huge effluents and leavings generator. The solid leavings hold a high nutritional value and can be used in the animal food manufacturing, however, there is a high concentration of lipids and organic matter on the effluent, so it has to be submitted to a treatment before it can be properly disposed of. Currently, there are processes capable of decreasing the concentration of lipids on the effluents through enzymatic pretreatments, where lipolytic microbial enzymes act in the lipids hydrolysis, easing the posterior treatment stages. As follows, this research aimed to evaluate the pretreatment through lipase producer microorganism of the effluent provenient from fish abattoir. Initially, preliminary tests were made with three microorganisms, *Staphylococcus warneri*, *Bacillus megaterium* a microorganism from the effluent itself evaluating the parameters: chemical oxygen demand (COD), oils and greases (O&G) and lipolytic activity. From that, it was possible to identify the microorganism with the greatest efficiency based on the specified parameters, which was the bacteria *Bacillus megaterium* and use it in the effluent pretreatment coming from the fish abattoir. For that, a central composite rotational design (CCRD) was used, having as independent variables: pH, temperature and inoculum concentration and as responses variables: lipolytic activity, COD, O&G, free fatty acids and pH, along 72 hours. After the treatment, the lipolytic activity reached was $0,25 \text{ mL}^{-1}$, removing 61,11% of COD, 85,8% of O&G, in addition to $12,54 \mu\text{mol mL}^{-1}$ of free fatty acids. Therefore, it was possible to conclude that using the lipase enzyme produced by the bacteria *Bacillus megaterium*, the evaluated parameters decreased significantly, making it bright for the treatment of this specific effluent.

Keywords: residual water, organic load, enzymatic pretreatment.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – GRÁFICO DE PARETO PARA ATIVIDADE LIPOLÍTICA.....	47
FIGURA 2 – SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DA ATIVIDADE LIPOLÍTICA EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E DO pH (A). GRÁFICO DE CONTORNO DA ATIVIDADE LIPOLÍTICA EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO E pH(B).....	48
FIGURA 3 – GRÁFICO DE PARETO PARA DQO.....	52
FIGURA 4 - FIGURA 4 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA REMOÇÃO DE DQO EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE INOCULO E pH (A). GRÁFICO DE CONTORNO PARA REMOÇÃO DE DQO EM FUNÇÃO DE pH E TEMPERATURA (B).....	53
FIGURA 5 – GRÁFICO DE PARETO PARA O&G.....	57
FIGURA 6 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DE O&G EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO E pH(A). GRÁFICO DE CONTORNO PARA EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DE O&G EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E pH(B).....	58
FIGURA 7 – GRÁFICO DE PARETO PARA ÁCIDOS GRAXOS LIVRES.....	61
FIGURA 8 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA A CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO E pH (A). GRÁFICO DE CONTORNO PARA CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E pH (B).....	62

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CARACTERIZAÇÃO E PADRÃO DE LANÇAMENTO DE EFLUENTES LÍQUIDOS GERADOS EM INDÚSTRIAS DE PROCESSAMENTO DE PEIXES.....	21
TABELA 2 - CLASSIFICAÇÃO DAS ENZIMAS.....	27
TABELA 3 - COMPOSIÇÃO DO MEIO DE CULTURA UTILIZADO PARA A SELEÇÃO E DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE ENZIMÁTICO DOS MICRORGANISMOS.....	34
TABELA 4 - TRATAMENTOS APLICADOS.....	35
TABELA 5 - VALORES CODIFICADOS E REAIS DO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL (DCCR).....	39
TABELA 6 - MATRIZ DO PLANEJAMENTO (DCCR) E SEUS VALORES CODIFICADOS E REAIS.....	40
TABELA 7 - ATIVIDADE LIPOLÍTICA DOS TRATAMENTOS APLICADOS.....	41
TABELA 8 - EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DE DQO NOS TRATAMENTOS APLICADOS.....	42
TABELA 9 - EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DE O&G.....	43
TABELA 10 - VALORES DE pH APÓS OS TRATAMENTOS APLICADOS.....	44
TABELA 11 – DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E RESULTADOS DE ATIVIDADE LIPOLÍTICA.....	45
TABELA 12 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA A ATIVIDADE LIPOLÍTICA.....	47
TABELA 13 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL COM VALORES REAIS E RESPOSTA QUANTO A CONCENTRAÇÃO DE DQO.....	50
TABELA 14 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA REMOÇÃO DE DQO.....	52
TABELA 15 – DELINEAMENTO EXPERIMENTAL COM VALORES REAIS E RESPOSTA QUANTO A CONCENTRAÇÃO DE O&G.....	55
TABELA 16 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA A REMOÇÃO DE O&G.....	57
TABELA 17 – DELINEAMENTO EXPERIMENTAL COM VALORES REAIS E RESPOSTA QUANTO A CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES...60	
TABELA 18 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA A CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES.....	62

TABELA 19 – DELINEMANENTO EXPERIMENTAL COM VALORES REAIS E RESPOSTA QUANTO AO pH.....	64
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A – Atividade Lipolítica

AGL – Ácidos Graxos Livres

APHA - American Public Health Association

CO₂ – Gás Carbônico

DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio

DQO - Demanda Química de Oxigênio

ETE – Estação de Tratamento de Efluentes

KH₂PO₄ - Fosfato de potássio

MgSO₄ .7H₂O - Sulfato de Magnésio

NaCl – Cloreto de Sódio

NaOH – Hidróxido de Sódio

NH₄ – Amônio

NH₃ - Gás Amônia

NO₃ - Nitrato

NO₂ - Nitrito

pH - Potencial Hidrogeniônico

rpm – Rotação por minuto

SS – Sólidos Suspensos

SST – Sólidos Suspensos Totais

v/v – Volume por volume

nm – Nanômetro

HCl – Ácido Clorídrico

DCCR – Delineamento Composto Central Rotacional

ANOVA – Análise de Variância

O&G – Óleos e Graxas

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 PRODUÇÃO E ABATE DE PEIXES	18
3.2 EFLUENTES GERADOS EM ABATEDOUROS DE PEIXES	19
3.3 TRATAMENTO DE EFLUENTES DE ABATEDOUROS DE PEIXES	23
3.3.1 Tratamento Preliminar	23
3.3.2 Tratamento Primário	24
3.3.3 Tratamento Secundário	24
3.3.4 Tratamento Terciário	25
3.4 ENZIMAS	26
3.4.1 Lipases	27
3.4.2 Produção de Lipases	28
3.4.3 Atividade Lipolítica	29
3.4.4 Aplicação das Lipases	30
4. MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 LOCAL DE CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS	33
4.2 COLETA E ARMAZENAMENTO DA ÁGUA RESIDUÁRIA	33
4.3 SELEÇÃO E ISOLAMENTO DOS MICRORGANISMOS	33
4.4 PROCESSO FERMENTATIVO	34
4.5 TESTES PRELIMINARES	34
4.5.1 Atividade Lipolítica	35
4.5.2 DQO Total	36
4.5.3 Óleos e graxas	36
4.5.4 pH	37
4.6 PRÉ-TRATAMENTO DO EFLUENTE DE ABATEDOURO DE PEIXE	37
4.6.1 Preparo do inóculo	38
4.6.2 Ácidos Graxos Livres	38
4.6.3 Delineamento experimental	39
4.6.4 Análise estatística	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1 TESTES PRELIMINARES PARA SELEÇÃO DO MICRORGANISMO	41
5.1.1 Atividade Lipolítica	41

5.1.2 Demanda Química de Oxigênio (DQO)	42
5.1.3 Óleos e Graxas (O&G)	43
5.1.4 pH.....	43
5.2 PRÉ-TRATAMENTO DO EFLUENTE DE ABATEDOURO DE PEIXES	45
5.2.1 Atividade lipolítica detectada no efluente de abatedouro de peixes	45
5.2.2 Eficiência de remoção de DQO no efluente de abatedouro de peixes	49
5.2.3 Eficiência de remoção de óleos e graxas no efluente de abatedouro de peixes.....	54
5.2.4 Valores de ácidos graxos livres obtidos no tratamento do efluente de abatedouro de peixes.....	59
5.2.5 Valores de pH obtidos no tratamento do efluente de abatedouro de peixes.....	63
6. CONCLUSÃO	66
7. SUGESTÕES	67
REFERÊNCIAS.....	68

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos 20 anos, a aquicultura brasileira teve grande avanço, passando de uma pequena atividade extensiva para um setor empresarial de alta intensidade tecnológica e inovação. Conforme Pedroza e Routledge (2016), o destaque da aquicultura brasileira, se deve ao aumento da demanda por tilápia no mercado nacional e a entrada de grandes produtores e empresas participantes da cadeia produtiva desta espécie. A procura por proteína animal, consolidou a produção de tilápia como uma alternativa viável, já que a mesma possui uma boa aceitação dos consumidores, tornando-se assim a principal espécie da piscicultura brasileira.

O Brasil é uma das principais potências no que diz respeito a indústria da pesca. Contudo, o setor de processamento do pescado utiliza um elevado volume de água em todos os processos, o que torna o país um grande gerador de efluentes e resíduos (MURAKAMI, 2018; OLIVEIRA et. al 2021). Os resíduos sólidos apresentam alto valor nutricional, os quais podem ser transformados e aproveitados como subprodutos para a fabricação de ração animal, desta forma agregando valor ao produto final e gerando lucro, diminuindo o impacto ambiental (AGUIAR; LIMBERGER; SILVEIRA, 2014).

Em relação ao efluente gerado, este varia de acordo com a espécie de peixe processada, o produto final a ser desenvolvido bem como os tipos de produção, a vazão e a carga de poluentes do efluente. Independentemente do processo utilizado, possuem uma alta concentração de lipídeo e proteínas (MURAKAMI, 2018). Para que o efluente gerado tenha a destinação correta, este deve ser submetido a um tratamento adequado para a remoção de suas cargas poluentes, visando assim a diminuição de possíveis impactos ambientais (MURAKAMI, 2018).

Atualmente processos alternativos têm sido empregados na redução da concentração de lipídeos contidos nos efluentes, dentre eles, processos que empregam enzimas lipolíticas. Estas são capazes de hidrolisar óleos e gorduras, o que se torna promissor para o tratamento de efluentes que possuem alto teor destes compostos. A demanda pelo uso de enzimas na área ambiental foi impulsionada pela necessidade de soluções mais limpas, tornando crescente a

busca e utilização de enzimas microbianas para aplicação no tratamento de efluentes.

De acordo com Valente (2010), a utilização de enzimas no tratamento de efluentes já vem sendo realizada, seja como alternativa ou complemento aos processos convencionais. Desta forma, empregar preparos enzimáticos no tratamento de efluentes de indústria de pescados deve ser avaliado para reduzir possíveis problemas que óleos e gorduras podem causar em tratamentos convencionais. Além disso, podem propiciar a diminuição da carga poluidora do efluente, facilitando as etapas subsequentes.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o pré-tratamento de efluente de abatedouro de peixe por meio de microrganismo produtor de lipase.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o isolamento de microrganismo com atividade lipolítica do efluente em estudo;
- Selecionar o microrganismo com maior potencial lipolítico por meio da atividade enzimática;
- Determinar o efeito das variáveis pH, temperatura e concentração de inóculo, nos parâmetros de atividade lipolítica, DQO, O&G, ácidos graxos livres e pH a partir do tratamento do efluente de abatedouro de peixes.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PRODUÇÃO E ABATE DE PEIXES

De acordo com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2020), a aquicultura pode ser definida como o cultivo de organismos aquáticos em local definido e controlado. Esta possui vantagens para a segurança alimentar, gerando produtos de qualidade, resultado de bons planejamentos e regularidades (ROCHA et al. 2013). Atualmente, grande parte da produção de pescado no Brasil já é originada da piscicultura, atividade esta que vem crescendo rapidamente no país, sendo desenvolvida em praticamente todas as regiões em sistemas de criação, como viveiros escavados, açudes e tanques-rede (SENAR, 2017).

O Brasil possui um grande potencial para o desenvolvimento da piscicultura, devido a vários fatores: clima favorável, disponibilidade de mão de obra e insumos, existência de uma rede de processamento de transformação de matéria prima e a significativa produção de grãos para a fabricação de ração (ROCHA et al., 2013; MURAKAMI, 2018). Entretanto, mesmo com tantos benefícios, o Brasil ainda possui capacidade exploradora para ampliar sua produção nesta atividade (ROCHA et al., 2013; MURAKAMI, 2018).

De acordo com a Associação Brasileira de Piscicultura – Peixe BR (2020), a produção nacional de peixes de cultivo atingiu cerca de 758.006 toneladas em 2019, representando um crescimento de 4,9% sobre o ano anterior, no qual foram produzidas 722.560 toneladas. Já em 2020, a produção alcançou a marca de 802.930 toneladas de peixes de cultivo, um crescimento equivalente a 5,93% sobre o ano de 2019 (Peixe BR, 2021). A criação de tilápias, a “tilapicultura” é a mais consolidada das criações de peixes no Brasil, mostrando-se uma alternativa viável de produção de proteína animal. Esta vem se tornando uma das principais espécies da piscicultura brasileira, com uma produção de 311 mil toneladas, seguida do tambaqui e tambacu, com 102 mil e 40 mil toneladas, respectivamente (EMBRAPA, 2020).

Conforme a Embrapa (2020), a tilapicultura está se desenvolvendo por todo o país, tornando-se popular tanto por parte dos produtores como dos consumidores. A criação de tilápia se intensificou nos últimos anos,

especialmente nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste, já na região Nordeste a criação de tilápias apresentou queda, devido a diminuição do nível da água em reservatórios em virtude da estiagem. O Norte do país é onde a tilápia possui seu menor índice de criação, haja vista que o cultivo desta espécie não é permitido em todos os estados, com exceção do Tocantins.

Apesar de estar presente em todas as regiões brasileiras, a cadeia produtiva da tilápia apresenta uma concentração maior em determinadas microrregiões. Esta característica se deve ao fato da existência de recursos hídricos, empresas-âncoras e ainda a disponibilidade de insumos como alevinos e ração (MILANEZ et al., 2019). Desta forma, a cadeia produtiva da tilápia passa a se estruturar em torno de pólos produtivos, os quais possibilitam a forte interação dos agentes produtivos e governamentais presentes nestas aglomerações (MILANEZ et al., 2019). Conforme a Embrapa (2020), o estado do Paraná é o maior produtor nacional com 115 mil toneladas de tilápia produzidas em 2018. De acordo com o Anuário Peixe BR (2020), em 2019 este número aumentou consideravelmente para 146 mil toneladas e em 2020 a produção total alcançou a marca de 166 mil toneladas, fazendo com que o estado chegasse à liderança da produção nacional.

Em relação as exportações da piscicultura, em 2020 o número foi de cerca de 6680 toneladas de peixe, um aumento de 8% em relação ao ano anterior. A tilápia foi a espécie mais exportada em 2020, responsável por 88,17% das vendas externas realizadas e uma receita de US\$ 10,3 milhões, um crescimento equivalente a 5% em relação a 2019. As exportações desta espécie são variadas e compostas por diferentes categorias de produtos dentre eles: tilápias inteiras frescas ou refrigeradas, filés de tilápia congelados, tilápias inteiras congeladas, subprodutos de tilápia impróprios para a alimentação humana, óleos e gorduras de tilápia e filés de tilápia frescos ou refrigerados, este último responsável por aproximadamente 50% das exportações nos anos 2019 e 2020 (ANUÁRIO PEIXE BR, 2020).

3.2 EFLUENTES GERADOS EM ABATEDOUROS DE PEIXES

Indústrias do pescado destacam-se pelo elevado volume de água requerida, estima-se que o processamento de tilápia consuma em média 14,98

L de água por quilograma de produto. Associado ao grande consumo de água, tem-se geração de efluentes, o qual possui como principais características a elevada concentração de matéria orgânica, sólidos suspensos, nutrientes e, conseqüentemente, elevadas demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO) (LAMA, 2018).

Durante o processamento do pescado, existem diversas operações como: sangria, descamação, descabeçamento, evisceração, filetagem, entre outros, os quais geram efluentes com elevada concentração de lipídeos e proteínas provenientes do processo do abate, além destes o efluente ainda pode ser constituído por compostos nitrogenados e fósforo (LAMA, 2018). Dependendo do processo ao qual o pescado é submetido, as características do efluente podem ser mais específicas, como por exemplo na produção do pescado enlatado, no qual ocorre o cozimento da carne, gerando assim um efluente com alta concentração de proteína e gordura. Ainda há as operações de higienização, limpeza e sanitização, que adicionam substâncias derivadas de detergentes e sanitizantes ao efluente (MURAKAMI, 2018).

Para se definir o melhor tipo de tratamento, monitorar o processo, avaliar o enquadramento na legislação ambiental e estimar a viabilidade da possível implantação de ações de produção mais limpa, deve-se ter conhecimento sobre a composição físico-química e microbiológica do efluente em questão (MURAKAMI, 2018). Para isso, é de fundamental importância realizar a caracterização do efluente, para que assim se tenham informações quanto a sua carga poluidora, possibilitando a escolha do tratamento mais eficiente para se atender aos parâmetros exigidos pela legislação (Tabela 1).

TABELA 1 - CARACTERIZAÇÃO E PADRÃO DE LANÇAMENTO DE EFLUENTES LÍQUIDOS GERADOS EM INDÚSTRIAS DE PROCESSAMENTO DE PEIXES

Parâmetro	Gomes (2016)	Porta (2016)	Sone (2013)	Freitas e Barbosa (2007)	CONAMA 430 (2011)	Padrão de Lançamento (IAT, 2018)
SS (mg L ⁻¹)	2040	-	1200	-	5 – 9	-
SST (mg L ⁻¹)	-	1040	-	340	-	-
DBO (mg L ⁻¹)	8,2	-	725,21	-	-	60
DQO (mg L ⁻¹)	140	9708	1292,50	949	-	150
N Amoniacal (mg L ⁻¹)	1,21	-	-	247	-	-
Nitrato (mg L ⁻¹)	0,21	-	-	-	-	-
Nitrito (mg L ⁻¹)	1,21	-	-	-	-	-
pH	-	6,3	5,6	7,4	-	-
Turbidez (NTU)	3000	390	196	-	-	-
O&G	-	-	379	-	50	50

FONTE: Dados relativos à composição média e os padrões de lançamento referentes a legislação ambiental do Instituto Água e Terra -IAT Portaria Nº 29 (2018) e Portaria 430 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA (2011).

Segundo Bostelmann (2010), a determinação dos níveis de concentração das diversas frações de sólidos é utilizada nos estudos de controle de poluição das águas, pois são responsáveis pelo aparecimento de cor e turbidez em águas. Estes possuem duas classificações, em relação ao tamanho das partículas: sólidos em suspensão e dissolvidos, e com relação à natureza química: sólidos fixos ou minerais, voláteis ou orgânicos. Os sólidos fixos juntamente com os sólidos voláteis, formam os sólidos totais, estes em águas residuais caracterizam o teor de matéria seca das mesmas, os sólidos voláteis indicam uma estimativa da matéria orgânica presente no meio, já os sólidos fixos representam a matéria inorgânica, sendo assim o teor de sólidos minerais (FEISTEL, 2011).

Mccabe et al. (2014), definem DBO como a quantidade de oxigênio necessário para oxidar a matéria orgânica presente na água para a forma inorgânica estável da decomposição microbiana aeróbia. Também está relacionada com a quantidade de oxigênio consumido em um determinado tempo e em condições de incubação pré-estabelecidas. Altos valores deste parâmetro sugerem um aumento da microflora, tendo potencial interferente no equilíbrio da vida aquática, provocando o desaparecimento de peixes, gerando

também sabores e odores desagradáveis. A DQO é frequentemente utilizada na detecção de poluição em águas naturais e residuárias e sua análise pode ser definida como a quantidade específica de oxidante que reage com a amostra sob condições controladas. Esta é expressa em termos de seu oxigênio equivalente, dependendo da quantidade de oxidante consumido, mas na maioria dos casos a matéria orgânica predomina e é a de maior interesse, pois são mais fáceis de serem degradadas (APHA, 2012).

Para que ocorra a formação de nitrogênio amoniacal em águas, nas formas de gás amônia (NH_3) ou íon amônio (NH_4), deve ocorrer o processo de decomposição da matéria orgânica nitrogenada presente. Este processo é denominado como nitrificação, onde ocorre a oxidação biológica de amônia formando o nitrato como produto final, sendo que primeiramente o nitrogênio amoniacal é oxidado a nitrito (NO_2^-) pelas bactérias do gênero *Nitrosomonas* e, posteriormente, a nitrato (NO_3^-) pelas bactérias do gênero *Nitrobacter*. De acordo com Nunes e Alves (2016), o processo da nitrificação diminui o consumo de oxigênio dissolvido do meio pelas bactérias, comprometendo vida aquática.

O pH é a medida da concentração hidrogeniônica de uma solução, no qual o valor nos indica a acidez ou alcalinidade de uma solução, um valor de pH 7 indica uma solução neutra, valores superiores a este nos apontam um pH básico, já os inferiores a 7 mostram um pH ácido (JUNIOR, et al., 2019). De acordo com Junior et al. (2019), as medidas de pH são de grande relevância, as quais nos fornecem informações em relação a qualidade das águas. As alterações deste parâmetro ocorrem frequentemente por dois motivos: pelo consumo e/ou produção de dióxido de carbono (CO_2), estes realizados pelos organismos fotossintetizantes, ou ainda pelos fenômenos de respiração-fermentação dos organismos presentes na água, assim produzindo ácidos orgânicos fracos.

A turbidez da água é o grau de atenuação de intensidade que um feixe de luz sofre ao atravessá-la, isto ocorre devido a presença de materiais em suspensão, como a matéria orgânica e inorgânica finamente dividida, conferindo à água em questão um aspecto turvo (CETESB, 2021). O alto valor de turbidez pode ocasionar a redução da penetração da luz em corpos hídricos, prejudicando o desenvolvimento do ecossistema presente (MELLO, 2007).

Óleos e graxas são substâncias orgânicas, geralmente hidrocarbonetos, gorduras ou ésteres e que possuem várias origens, sendo elas mineral, vegetal ou animal, as quais são procedentes de efluentes industriais, esgotos domésticos, postos de gasolina, estradas, vias públicas (MC CABE et al., 2014). Os efluentes industriais são os que contribuem com uma parcela significativa para o aumento de óleos e graxas nos corpos d'água, com ênfase aos de refinarias, abatedouros e saboarias (MC CABE et al., 2014). De acordo com McCabe et al. (2014), quando presentes em efluentes, dificultam o tratamento por meio de processos biológicos, além do mais diminuem a área de contato entre a superfície aquática e o ar atmosférico, impedido a transposição do oxigênio da atmosfera para a água.

3.3 TRATAMENTO DE EFLUENTES DE ABATEDOUROS DE PEIXES

Com a finalidade do desenvolvimento da aquicultura, esta precisa se consolidar em bases ambientais sustentáveis. Para isso, é necessário que se tenham sistemas eficientes do ponto de vista de uso da água priorizando um índice de menor impacto ambiental (EMBRAPA, 2013). Quando conduzida de forma inadequada a produção de peixes pode levar a um aumento do impacto ambiental, devido a produção de dejetos e uso de água. Uma opção para minimizar os impactos ambientais que possam ser causados pela aquicultura é o reúso da água, tendo em vista a escassez deste recurso natural em termos qualitativos (EMBRAPA, 2020).

Tendo em vista as informações citadas acima, no tratamento de águas residuárias pode-se utilizar métodos físicos, químicos ou biológicos, e estes são divididos em etapas preliminares, primárias, secundárias e terciárias (MENDES et al., 2005; BUSTILLO-LECOMPTE e MEHRVAR, 2017; PANDEY et al., 2017).

3.3.1 Tratamento Preliminar

É a primeira etapa do tratamento, por ação de processos físicos, tem como objetivo remover materiais grosseiros presentes no efluente, dentre os quais sólidos em suspensão, areia e lipídeos. Para a remoção destes, são utilizados grades, peneiras, caixas de areia e caixas de retenção de óleos e

gorduras. Além disso, existe uma unidade para a medição da vazão, chamada calha Parshall, construída por uma calha de dimensões padronizadas, onde o valor medido do nível do líquido é correlacionado com a vazão (MENDES et al., 2005; MITTAL, 2006, JUNQUEIRA et al., 2017, AQUINO, 2018).

3.3.2 Tratamento Primário

Nesta etapa do tratamento, objetiva-se a remoção da matéria orgânica em suspensão, bem como dos sólidos sedimentáveis (DE SENA, MOREIRA e JOSÉ, 2008; DE NARDI, FUZI e DEL NERY, 2008). Após a etapa de tratamento preliminar, os efluentes contêm ainda sólidos em suspensão não grosseiros, estes podem ser removidos através dos processos de decantação, flotação, coagulação ou sedimentação, por ação de fatores físico-químicos (DE SENA, MOREIRA e JOSÉ, 2008; DE NARDI, FUZI e DEL NERY, 2008).

3.3.3 Tratamento Secundário

Conforme Bustillo-Lecompte e Mehrvar (2017), para adequar as águas residuárias aos padrões estabelecidos pela legislação, os tratamentos preliminares e primários não são suficientes. Desta forma, o tratamento secundário é utilizado para remover a matéria orgânica dissolvida e em suspensão restante dos tratamentos anteriores, utilizando etapas biológicas anaeróbias e aeróbicas.

No processo biológico anaeróbio, os microrganismos utilizam oxigênio livre ou dissolvido e convertem compostos orgânicos em biomassa e dióxido de carbono. Destacam-se neste tipo de processo os filtros, reatores e lagoas anaeróbias (KESKES et al., 2012; BOTIŞ, 2015). Este tipo de processo garante um menor consumo de energia, alta remoção de DQO, além da produção de biogás, no entanto, devido ao alto teor de óleos e graxas (O&G) presente nos efluentes, este processo pode ser desestabilizado e ter sua eficiência comprometida (PEREIRA et al., 2005; JEGANATHAN; NAKHLA E BASSI, 2007).

Para Von Sperling (2005) e Aquino (2018), este processo objetiva-se acelerar os mecanismos de degradação que ocorrem naturalmente nos corpos receptores. Desta maneira, os poluentes orgânicos são degradados em

condições controladas, em intervalos de tempo menores do que em sistemas naturais, para que isso seja possível os procedimentos aplicados nesta etapa de tratamento é a lagoa de estabilização (VON SPERLING, 1996; AQUINO, 2018). Apesar de possuir uma eficiência satisfatória, este tratamento requer uma grande área para sua implantação, o que em muitas vezes se torna um empecilho para sua instalação (AQUINO, 2018). Além disto, o alto teor de O&G, pode desencadear a desestabilização e redução da eficiência do tratamento secundário, contribuindo com o desenvolvimento de lodo com baixa taxa de conversão do substrato devido a adsorção de gorduras ao floco (PEREIRA et al., 2005; JEGANATHAN; NAKHLA E BASSI, 2007).

Já no processo aeróbio, pode-se citar o sistema de lodo ativado, no qual ocorre o fornecimento de oxigênio para que os organismos possam degradar a matéria orgânica dissolvida e em suspensão, gerando como produto final gás carbônico e água. Porém, a grande quantidade de O&G presentes nesse tipo de processo reduz a capacidade de trocas gasosas, dificultando a sedimentação do lodo, acarretando o comprometimento do processo (JUNG, CAMMAROTA e FREIRE, 2002; CAMMAROTA e FREIRE, 2006).

3.3.4 Tratamento Terciário

Objetiva-se com o tratamento terciário a remoção de poluentes específicos, tóxicos ou não biodegradáveis, ou ainda a remoção complementar de poluentes não removidos com grande eficiência (AQUINO 2018).

Para Filho (2009), o tratamento terciário se faz necessário para que os efluentes de plantas de tratamento avançado possam ser reusados ou reciclados, diretamente ou indiretamente, na planta industrial. Assim, aumenta-se a disponibilidade de água para suprir as demandas industriais ou domésticas, visto que alguns corpos d'água não são capazes de tolerar cargas de poluentes do tratamento secundário. Para sanar tais impasses utilizam-se algumas operações no tratamento terciário, dentre elas destacam-se: precipitação química, troca iônica, ultrafiltração, osmose inversa, eletrodiálise quem visam a remoção dos sólidos orgânicos dissolvidos; filtração e peneiramento que possuem a função de remover sólidos suspensos (METCALF e EDDY, 2008).

De acordo com Lima (2015), a utilização de enzimas no tratamento físico-químico de efluentes tem possibilitado aumentar a eficiência de diversos processos industriais, como também reduzir significativamente algum risco de impacto ambiental. Com a aplicação de enzimas nos sistemas de pré-tratamento de águas residuárias, possibilita-se remover filmes oleosos em tubulações, aumentando a vida útil de equipamentos. Além disto, proporciona a redução de sólidos suspensos e triglicerídeos, assegurando condições de tratamento em sistemas biológicos, uma vez que a ação microbiana será favorecida, onde as moléculas de interesse serão facilmente consumidas, resultando assim em um tratamento eficiente (VALENTE et al. 2010; LIMA, 2015).

3.4 ENZIMAS

Grande parte das enzimas são classificadas também em proteínas, exceto pelo pequeno grupo de robosimas, as quais são moléculas de RNA catalíticas. As enzimas são consideradas biocatalisadores naturais, tornando possível processos metabólicos que ocorrem nas células. Estas são formadas por longas cadeias de aminoácidos unidos por ligações peptídicas, em estruturas tridimensionais (KOOLMAN e ROEHN, 2005; NELSON e COX, 2011).

Existem diversos meios de obtenção de enzimas, estas derivam de plantas, animais e microrganismos. Esta última possui um maior interesse industrial devido ao elevado número de microrganismos produtores, especificidade do substrato, além de menor custo de produção (CARVALHO et al., 2005; ROVEDA; HEMKEMEIER e COLLA, 2010; KANMANI; ARAVIND e KUMARESAN, 2015). São largamente empregadas na Biologia Molecular e na Biomedicina, na fabricação de produtos tecnológicos e no tratamento de resíduos, degradando a matéria orgânica presente nos mesmos (PELIZER; HELENA; MORAES, 2007; ORLANDELLI et al., 2012).

Conforme Freire et. al (2019), as enzimas são classificadas conforme os tipos de reações que catalisam: oxidoredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases (Tabela 2).

TABELA 2 - CLASSIFICAÇÃO DAS ENZIMAS

Nome da Classe	Tipo De Reação Catalisada e Exemplos De Enzimas
1 – Oxirredutases	Enzimas relacionadas com a oxidação e a redução biológica, que fazem transferência de elétrons. Desidrogenases e oxidases, peroxidases, hidroxilases, oxigenases.
2 – Transferases	Transferência de grupos de um carbono (metil-, formil-, carboxil-), resíduos aldeídicos ou cetônicos, grupamentos nitrogenados e contendo fósforo ou enxofre. Quisases e transaminases.
3 – Hidrolases	Reações de hidrólise, com transferência de grupo funcionais para a água. Esterases, fosfatases, glicosidases, lipases, etc.
4 - Liases	Remoção de grupos de seus substratos, não por hidrólise, formando duplas ligações ou adição de grupos a ligações duplas do substrato. Descarboxilases, desidratases, etc.
5 – Isomerasas	Transferência de grupos dentro da mesma molécula formando isômeros. Racemases, epimerases, isomerases.
6 – Ligases	Catalisam a formação de ligações entre C-C, C-S, C-O e C-N, acopladas à hidrólise de fosfatos de alta energia. Sintetases.

FONTE: Freire et. al (2019)

Quando deseja-se controlar a produção dos produtos requeridos e minimizar as reações indesejáveis, pode-se escolher a enzima que melhor se adequa à situação, devido a sua especificidade sobre determinado substrato. Com isso minimizam-se atrasos associados à aclimação de biomassa, aumentando a taxa de reação e diminuindo a energia de ativação (JOHNSON, 2013; RAY e ROSELL, 2017; SARMAH et al., 2018). De acordo com Medeiros et al. (2013), o emprego das enzimas nos processos industriais, deve-se a habilidade desses bioprodutos em executarem transformações químicas com alta seletividade, de modo rápido, versátil e em condições de reação definidas.

3.4.1 Lipases

As lipases (triacilglicerol acil hidrolases, EC 3.1.1.3) são enzimas da classe das hidrolases, estas modificam ligações carboxil éster de lipídeos e seus derivados, atuando em uma interface lipídeo-água clivando a ligação éster de triacilgliceróis. Além disto, possuem um papel importante na natureza, metabolizando gorduras (CONTESINI et al., 2010; LI; ZONG, 2010; MOHAMED et al., 2011; BUENO et al., 2014).

De outra forma, elas também atuam em reações de esterificação, interesterificação, alcooolise, acidólise e aminólise. A flexibilidade catalítica, confere as lipases serem o grupo de enzimas mais utilizadas comercialmente, ocupando o posto de terceiro maior grupo de enzimas em volume mundial de vendas, crescendo de forma expressiva (GARRIDO et al., 2018). Devido a diversidade metabólica dos microrganismos, a variedade de cepas produtoras, facilidade de manipulação genética, e o rápido crescimento em meios de baixo custo, as lipases originárias de microrganismos apresentam uma maior viabilidade comparada às de origem animal e vegetal (HASAN, SHAH e HAMEED, 2006, LIMA et al., 2018).

A versatilidade das enzimas lipases, concedem as mesmas um vasto potencial de aplicação, em indústrias de alimentos, detergentes, farmacêutica, couro, têxtil, cosmética, papelreira, no tratamento de efluentes, compondo reagentes clínicos em biotecnologia, dentre outros. No ramo industrial, as lipases apresentam vantagens, além da estabilidade em altas temperaturas, e atuação em amplas faixas de pH, possuem uma facilidade na separação produto/enzima (ZHANG et. al., 2016; DARVISHI et. al., 2011; MENG et. al., 2015; SILVA, 2017).

De acordo com Luz (2014), o emprego de lipases como catalisadoras industriais depende da produção de enzimas que possuam características bioquímicas e catalíticas melhoradas pela engenharia genética. A crescente ascensão das estratégias para aplicar essas técnicas em escala industrial tem proporcionado uma significativa redução no custo da lipase, estimulando assim o desenvolvimento de outras aplicações.

3.4.2 Produção de Lipases

Ainda que as lipases possuam grande abundância em toda fauna e flora terrestre, as principais fontes da mesma consistem nos microrganismos devido a facilidade de manipulação genética, abundância natural, rica diversidade e sua produção não depender de condições geográficas e ambientais (HASAN; SHAH; HAMEED, 2006; KIELISZEK et al., 2017; MADHAVAN et al., 2017; SILVA, 2019). O desenvolvimento intensivo da biotecnologia resultou em um avanço nos processos tecnológicos que utilizam microrganismos. Estes por possuírem soluções adequadas para a síntese de produtos químicos entre outros

compostos, tornam-se uma alternativa a processos que não o utilizam (JAVED et al., 2017; MADHAVAN et al., 2017; SILVA, 2019).

Conforme Javed et al. (2017), as lipases derivadas de bactérias, são mais resistentes ao meio ambiente industrial, dentre elas: a *Bacillus pumilus*, *Bacillus cereus*, *Burkholderia cepacia*, *Geobacillus stearothermophilus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Streptomyces lividans*. Comumente, as lipases microbianas são produzidas por fermentação submersa, de modo extracelular e excretadas através da membrana celular no meio de cultivo (ILLANES, 2008; TREICHEL et al., 2010). Para isso, deve-se levar em conta vários fatores, dentre eles: fonte de nitrogênio, carbono, lipídeos, concentração de sais inorgânicos, além de variáveis como pH, temperatura, volume de inoculação, período de incubação, concentração de oxigênio dissolvido e agitação (SILVA, 2019).

As lipases, são enzimas induzíveis e produzidas na presença de uma fonte lipídica, sendo assim para que sua atividade seja expressa, necessitam-se de fontes de carbono, nitrogênio e alguns micro ingredientes (GUPTA; GUPTA; RATHI, 2004; TREICHEL et al., 2010). A seleção do microrganismo que produza a lipase, juntamente com um indutor de baixo custo e que permita alta produção enzimática, é necessária e adequada para alavancar o desenvolvimento de bioprocessos para aplicações industriais de grande porte (SILVEIRA; TARDIOLI; FARINAS, 2016).

3.4.3 Atividade Lipolítica

A atividade lipolítica, pode ser determinada através da quantificação dos ácidos graxos liberados durante a hidrólise realizada pela enzima. Produtos os quais, podem ser determinados por métodos físico-químicos avaliando-se o desaparecimento dos substratos ou formação de produtos (GONÇALVES, 2007).

Dentre os métodos que avaliam o desaparecimento do substrato, destacam-se a nefelometria e turbidimetria, tensiometria interfacial, microscopia de força atômica e espectroscopia de infravermelho. Já os métodos que possuem o objetivo de verificar o aparecimento de produtos compreendem os ensaios indiretos da liberação de prótons (indicadores coloridos e titulometria), análise de ácidos graxos liberados a partir de ésteres carboxílicos derivados do

glicerol (ensaios colorimétricos, fluorimétricos, cromatográficos, enzimáticos, microscopia eletrônica por detecção *in situ*), análise de ácidos graxos liberados a partir de ésteres carboxílicos sintéticos (ensaios radioativos, colorimétricos, fluorimétricos) e métodos imunológicos, entre outros (HASAN, SHAH, HAMEED, 2009; SILVA, 2019).

Um método qualitativo útil para a seleção de microrganismos lipolíticos é o zimograma. Este consiste na detecção da atividade enzimática secretada em meio sólido contendo ágar, meio de cultivo e substrato (tributirina, trioleína, óleo de oliva, Tween-80), em que se constata a formação de halos claros ao redor das colônias, correspondendo assim às zonas do substrato hidrolisado. Ademais, com a formação do halo é possível determinar o Índice Enzimático (IE), expresso pela relação entre diâmetro do halo de degradação do substrato e o diâmetro de crescimento da colônia do microrganismo (HANKIN, ZUCKER e SANDS, 1971; HANKIN e ANAGNOSTAKIS, 1975).

Dentre os métodos quantitativos disponíveis para se definir a atividade lipolítica presente no meio fermentativo, o mais comumente utilizado é o titulométrico. Neste ocorre a titulação dos ácidos graxos liberados pela ação da enzima lipase, presente no caldo fermentado bruto, sobre os triglicerídeos do óleo de oliva emulsionados com goma arábica (FREIRE et al., 1997; CARDENAS et al., 2001). Além deste, ainda há outro método quantitativo que permite a detecção da atividade lipolítica, que é o espectrofotométrico, que se baseia na hidrólise lipolítica do p-nitrofenilpalmitato em p-nitrofenol e ácido palmítico, resultando em coloração amarela que é intensificada em pH alcalino. O p-nitrofenol que é liberado pode ser detectado em espectrofotômetro a 410 nm (GILHAM e LEHNER, 2005).

3.4.4 Aplicação das Lipases

As lipases possuem destaque dentro de sua classe, as hidrolases, devido as suas inúmeras aplicações, dentre elas, nas indústrias de detergentes, medicamentos, alimentos, têxteis, polpa e papel, curtumes, cosméticos, biodiesel, biossensores, além de serem aplicadas também no tratamento de efluentes (HOUDE; KADEMI; LEBLANC, 2004; HASAN; SHAH; HAMEED, 2006; MESSIAS et al., 2011).

A maior ênfase que as lipases possuem são nas indústrias de detergentes, pois facilitam o processo de limpeza, hidrolisando os lipídeos e favorecendo a solubilização destas biomoléculas em água. A principal vantagem do uso de lipases nos detergentes em substituição aos polissulfatos está na biodegradabilidade e redução dos impactos ambientais. Na indústria têxtil, as lipases possuem uso na remoção de gorduras, ceras e lubrificantes, aumentando assim a capacidade de absorção de tecidos para o nivelamento e posterior tingimento (BRAHMACHARI, 2016).

Já na indústria farmacêutica, as lipases se portam como uma ferramenta de rotina, utilizada na preparação de fármacos quirais. Desta forma, oferecem inúmeras vantagens, incluindo a realização de processos enzimáticos em condições suaves que evitam reações de isomerização, epimerização, racemização e rearranjo. Permitem também a reutilização da lipase imobilizada, gerando economia no processo e mutagênese da lipase para funções específicas (GOTOR-FERNÁNDEZ; BRIEVA; GOTOR, 2006; SINGH; MUKHOPADHYAY, 2012; BANSODE; RATHOD, 2017).

Atualmente na indústria de cosméticos, muitos buscam a ambição de se ter um cabelo perfeito, desta forma diversas patentes surgiram, aplicando as lipases com o objetivo de se tratar doenças específicas do couro cabeludo, ou acelerar o crescimento capilar (SILVA, 2019). Além disto, as lipases são utilizadas também na produção de uma variedade de produtos, dentre eles sucos de frutas, alimentos cozidos e fermentação de vegetais. Porém para isto, necessita-se de um controle de variáveis que influenciam no processo produtivo, dentre elas, a concentração da enzima, pH, temperatura e teor de emulsão para otimizar a produção de sabor e fragrância dos alimentos (BRAHMACHARI, 2016; SILVA, 2019).

Conforme citado no trabalho de Mendes, Pereira e Castro (2006), utilizar lipases no tratamento de efluentes com alto teor de gordura promove uma maior velocidade de reação de hidrólise sequencial dos grupos acila dos lipídeos, reduzindo o tempo de biodegradação. Utilizando lipases em um tratamento preliminar, garante que o efluente pré hidrolisado possa seguir para a ETE com uma carga orgânica com menor teor de O&G, reduzindo assim possíveis custos no decorrer do processo, bem como problemas operacionais (SANTOS, 2014).

Marques et al. (2016), realizarem ensaios com a enzima lipase, a fim de verificar a quantidade de enzima necessária para a melhor conversão de ácidos graxos livres em efluente de laticínios, como também, a melhor condição de pH. A partir dos resultados, pode-se averiguar que houve um aumento de 4,3 vezes na quantidade de ácidos graxos livres presente na amostra de efluente tratado com as condições de pH 7 e 6 mL de extrato enzimático. Isto se deve ao fato de que a reação catalítica de hidrólise promoveu a conversão dos lipídeos presentes na amostra em ácidos graxos livres, os quais possuem uma maior biodegradabilidade.

De acordo Padilla et al. (2017), a alta concentração de gorduras em águas residuais forma ambientes propícios para o desenvolvimento de microrganismos, que usam o lipídeo presente no meio como fonte de substrato para seu crescimento. Neste trabalho, os autores puderam detectar a presença da cepa CCE-1, identificada como *S. marcescens*, a qual apresentou a maior atividade enzimática, assim os autores inferiram que a enzima e a cepa produtora possuem grande potencial biotecnológico e industrial, com aplicações na biorremediação de águas contaminadas com gorduras.

Dors et al. (2013), em seu trabalho utilizando a enzima lipase no tratamento de águas residuais provenientes de frigoríficos de aves, concluíram que independentemente da concentração de lipase aplicada, houve aumento no nível de metano produzido e remoção de uma quantidade expressiva de matéria orgânica do efluente. Os autores ainda complementaram que a utilização de lipase para a degradação de lipídeos, representa uma solução atraente para a resolução da baixa biodegradação deles.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DE CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Química Analítica e Análises Ambientais da Universidade Federal do Paraná (UFPR) - Setor Palotina.

4.2 COLETA E ARMAZENAMENTO DA ÁGUA RESIDUÁRIA

A água residuária utilizada nos experimentos foi obtida de um abatedouro de peixes localizado em um município do Oeste do estado do Paraná. O volume inicial de abate é de 75 mil tilápias por dia, com capacidade de 150 mil tilápias por dia e além disso, possui a possibilidade de duplicação. A indústria tem 10 mil m² e utiliza tecnologias alemã, islandesa e brasileira para o processamento de peixes.

As amostras foram coletadas em galões plásticos (para o pré-tratamento) e em frascos de vidro previamente autoclavados (para isolamento microbiano) da caixa de retenção de gordura que compõem o sistema de tratamento da indústria. Até o momento de uso, os galões foram armazenados sob refrigeração, a -20 °C, enquanto os frascos a 4 °C.

4.3 SELEÇÃO E ISOLAMENTO DOS MICRORGANISMOS

Neste trabalho foram utilizados três microrganismos, dois destes obtidos a partir do banco de microrganismos pertencente a UFPR, sendo eles: *Bacillus megaterium* e *Staphylococcus warneri*, os quais foram repicados constantemente para garantir suas características. O terceiro microrganismo foi obtido do efluente de abatedouro de peixe, o qual tomou-se uma alíquota e a mesma foi inoculada, por espalhamento em placas de Petri, contendo meio de cultura seletivo descrito por Sierra (1957), conforme apresentado na Tabela 3, esterilizando o Tween 20 separadamente dos demais reagentes. As placas foram incubadas por 48 h a 30 °C para o crescimento dos microrganismos. As bactérias que apresentaram halo de degradação (método qualitativo de atividade lipolítica), foram isoladas em placas contendo ágar nutriente através do método

Streak-Plate (esgotamento) (BECKER, CALDWELL e ZACHGO, 1996) e mantidas em estufa BOD a 30 °C.

TABELA 3 - COMPOSIÇÃO DO MEIO DE CULTURA UTILIZADO PARA A 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 H ₂ O)	0,1
Ágar	18
Tween 20	1% (v/v)

FONTE: o autor (2021).

4.4 PROCESSO FERMENTATIVO

Os três microrganismos e suas combinações foram cultivados em erlenmeyers de 250 mL em incubadora *shaker* a 150 rpm e 37°C por 24 h contendo 50 mL do meio de cultura proposto por Bueno et al. (2014) com modificações: extrato de levedura (2 g L⁻¹), peptona (5 g L⁻¹), KH₂PO₄ (3,0 g L⁻¹), MgSO₄ 7H₂O (0,2 g L⁻¹) e 1% (v/v) de óleo de soja.

Após o período de incubação citado acima, a suspensão de células obtida foi padronizada em 1,0 de absorbância em espectrofotômetro Femto, modelo 600 s em comprimento de onda de 600 nm. Após a padronização, 5 mL da suspensão padronizada foi inoculada em outro erlenmeyer de 250 mL, contendo 50 mL do meio descrito anteriormente e nas mesmas condições anteriores. O cultivo foi interrompido por centrifugação (15 min a 3000 rpm) e o sobrenadante foi usado para análise da atividade lipolítica.

4.5 TESTES PRELIMINARES

Para a realização dos testes preliminares, foram utilizados 6 tratamentos, contendo as bactérias *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus warneri* e uma bactéria isolada do efluente, além da combinação destas (Tabela 4). Os experimentos foram realizados a temperatura de 37 °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). Os testes preliminares tiveram a finalidade de determinar qual o melhor microrganismo em termos de eficiência para a aplicação no pré-tratamento de efluente de abatedouro de peixe.

TABELA 4 -TRATAMENTOS APLICADOS

Microrganismo	Tratamento
<i>Staphylococcus warneri</i> (SW)	1
<i>Bacillus megaterium</i> (BM)	2
<i>Microrganismo Efluente</i> (ME)	3
<i>Staphylococcus warneri</i> + <i>Bacillus megaterium</i> (SW+BM)	4
<i>Bacillus megaterium</i> + <i>Microrganismo Efluente</i> (BM+ME)	5
<i>Staphylococcus warneri</i> + <i>Microrganismo Efluente</i> (SW+ME)	6

Fonte: o autor (2021).

Após decorridas 72 h de tratamento, foram avaliadas as variáveis: DQO, O&G, pH e atividade lipolítica. Para manter o meio de cultivo neutro e garantir a atividade dos microrganismos o pH inicial foi ajustado para 7.

4.5.1 Atividade Lipolítica

Após 72 h de tratamento, determinou-se a atividade lipolítica. Para esta utilizou-se o método descrito por Dellamora-Ortiz et al. (1997) com modificações, o qual baseia-se em um método titulométrico, neste utilizou-se 5 mL 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 iniciou-se pela adição de 3 mL da preparação enzimática e após isto as amostras foram incubadas em *shaker* marca CIENLAB, modelo CE-725/R com agitação de 180 rpm, a 37 °C, e após 20 min de incubação, a reação foi paralisada pela 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. Para o branco utilizou-se 3 mL do tampão fosfato de sódio em vez do preparo enzimático. A atividade lipolítica foi calculada por meio da Equação 1, e expressa em U mL⁻¹, em que U é definido como a quantidade enzima capaz de hidrolisar 1 micromol de ácidos graxos, por minuto de reação, em condições ótimas.

$$A \text{ (U. mL}^{-1}\text{)} = \frac{(V1-V2)*N*1000}{V3*T} \quad \text{Eq. (1)}$$

Em que:

A = atividade enzimática

V1 = volume de NaOH gasto na titulação da amostra

V2 = volume de NaOH gasto na titulação do branco

N = normalidade corrigida do NaOH utilizado

V3 = volume utilizado do preparo enzimático

T = tempo de reação (min)

4.5.2 DQO Total

Para a determinação da DQO total, utilizou-se o método descrito por APHA (2005), onde uma amostra de 2,5 mL (concentrada ou diluída), foi adicionada em tubos de borossilicato com tampas rosqueáveis, para o branco utilizou-se 2,5mL de água destilada, e para o preparo das soluções para a curva de calibração utilizou-se soluções padrão. Em seguida, adicionou-se 1,5 mL da solução de dicromato de potássio e, vagarosamente, 3, 5 mL da solução sulfato de prata em ácido sulfúrico. Os tubos já fechados foram agitados por inversão e colocados em um digestor da marca TECNAL, modelo TE-007MP, previamente aquecido à temperatura de 150°C. Os tubos permaneceram no equipamento durante 2 h.

Após 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 *versus* 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.

4.5.3 Óleos e graxas

Para se quantificar óleos e graxas, utilizou-se a metodologia desenvolvida por Suehara et al. (2005), no qual uma alíquota de 15,0 mL de água residuária foi adicionada em um tubo cônico, em seguida a mesma foi acidificada com 0,18 mL de HCl 2N. Após a acidificação da amostra, adicionou-se 1,5 mL

de éter de petróleo e em seguida a mesma foi centrifugada em centrífuga da marca NOVA instruments, modelo NI1812 por 5 min a 3000 rpm. Posteriormente a centrifugação, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, foi retirado o sobrenadante da amostra, este foi colocado em um béquer previamente pesado (M1). O procedimento descrito acima foi repetido 3 vezes.

Após realizadas as repetições acima, o béquer foi levado a estufa por 24 h a 80 °C, após este tempo o béquer com a amostra foi levado ao dessecador, com o objetivo de alcançar temperatura ambiente, posteriormente o mesmo foi pesado novamente (M2). Os dados obtidos foram substituídos na Equação 2.

$$\text{O\&G (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{(m_2 - m_1) * 1000}{V_1 \text{ (mL)}} \quad \text{Eq. (2)}$$

Em que:

M1 = Massa do becker vazio

M2 = Massa do becker e amostra retirado da estufa

V1 = Volume do efluente inserido no béquer (mL)

x1000 = transformar de gramas para miligramas.

4.5.4 pH

Para a determinação do pH das amostras, utilizou-se um pHmêtro devidamente calibrado da marca NS TECNOPON, modelo mPA 220.

4.6 PRÉ-TRATAMENTO DO EFLUENTE DE ABATEDOURO DE PEIXE

Após a análise da DQO Total, atividade lipolítica e óleos e graxas dos microrganismos e suas combinações, aquele que apresentou a maior eficiência foi utilizado para o preparo do inóculo. Além disto, após a definição do microrganismo a ser utilizado no pré-tratamento, avaliou-se todos os parâmetros citados acima, bem como ácidos graxos livres.

4.6.1 Preparo do inóculo

Primeiramente fez-se a ativação da bactéria lipolítica selecionada, adicionando-se em erlenmeyers de 250 ml, uma alçada de colônia em 100 mL de meio de cultivo esterilizado contendo: extrato de levedura (2 g L⁻¹), peptona (5 g L⁻¹), KH₂PO₄ (3,0 g L⁻¹), MgSO₄ .7H₂O (0,2 g L⁻¹) e 1% (v/v) de óleo de soja. Os erlenmeyers foram inseridos em incubadora *shaker* da marca CIENLAB, modelo CE-725/R 150 rpm, a 37 °C por 12 h (BUENO et al., 2014; LIMA, 2015).

A suspensão de células 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 e inoculada em outro erlenmeyer de 250 mL, contendo 90 mL do efluente em estudo (água residuária de abatedouro de peixes) esterilizado. A inoculação foi realizada na proporção de 10% (v/v) e incubada nas mesmas condições anteriormente descritas.

4.6.2 Ácidos Graxos Livres

Para a quantificação de ácidos graxos livres utilizou-se a metodologia descrita por Rosa (2004), onde tomou-se uma alíquota de 5 mL da amostra, esta foi transferida para um Becker, em seguida foi adicionado 5 mL de uma mistura de acetona:etanol (1:1v/v). As amostras foram tituladas com solução NaOH 0,01 mol L⁻¹ com fenolftaleína como indicador. O teor final de ácidos graxos livres foi obtido pela Equação 3.

$$AGL (\mu\text{mol} / \text{mL}) = \frac{V(\text{NaOH}) * M (\text{NaOH}) * 1000}{V_a} \quad \text{Eq. (3)}$$

Em que:

AL = teor de ácidos graxos livres (μmol mL⁻¹)

V(NaOH) = volume de solução de NaOH usado na titulação (mL)

M(NaOH) = concentração da solução de NaOH (mol L⁻¹)

V_a = volume da amostra (mL)

4.6.3 Delineamento experimental

Para a realização do pré-tratamento do efluente de abatedouro de peixe e a análise de seus resultados, utilizou-se um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). Este delineamento possui a finalidade de identificar e otimizar as variáveis que podem influenciar no processo, por meio dos resultados experimentais obtidos nos ensaios elaborados. Além disso, através deste modelo obtém-se a análise de variância (ANOVA), superfícies de resposta e gráficos de contorno (GHAEDI et al., 2016).

No planejamento em questão utilizou-se 3 variáveis (pH, temperatura e concentração de inóculo), com os níveis (-1 e +1), os pontos axiais (-1,68 e +1,68) e quatro repetições no ponto central (0), resultando em 18 ensaios (Tabelas 5 e 6). O ponto central provê uma média para estimar o erro experimental e a falta de ajuste, já os pontos axiais determinam a curvatura do modelo (BARROS, SCARMINO e BRUNS, 2007).

Os valores utilizados para as variáveis analisadas 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 5 - VALORES CODIFICADOS E REAIS DO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL (DCCR).

Variáveis	-1,68	-1	0	+1	+1,68
pH	5,32	6,0	7,0	8,0	8,68
Temperatura (°C)	26,6	30	35	40	43,4
Inóculo (%)	1,60	5	10	15	18,4

Fonte: o autor (2021).

TABELA 6 - MATRIZ DO PLANEJAMENTO (DCCR) E SEUS VALORES CODIFICADOS E REAIS.

Ensaio	Valores Codificados			Valores Reais		
	pH	T (°C)	Inóculo (%)	pH	T (°C)	Inóculo (%)
1	-1	-1	-1	6,0	30,0	5,00
2	-1	-1	+1	6,0	30,0	15,00
3	-1	+1	-1	6,0	40,0	5,00
4	-1	+1	+1	6,0	40,0	15,00
5	+1	-1	-1	8,0	30,0	5,00
6	+1	-1	+1	8,0	30,0	15,00
7	+1	+1	-1	8,0	40,0	5,00
8	+1	+1	+1	8,0	40,0	15,00
9	-1,68	0	0	5,3	35,0	10,00
10	1,68	0	0	8,7	35,0	10,00
11	0	-1,68	0	7,0	26,6	10,00
12	0	1,68	0	7,0	43,4	10,00
13	0	0	-1,68	7,0	35,0	1,60
14	0	0	1,68	7,0	35,0	18,40
15	0	0	0	7,0	35,0	10,00
16	0	0	0	7,0	35,0	10,00
17	0	0	0	7,0	35,0	10,00
18	0	0	0	7,0	35,0	10,00

Fonte: o autor (2021).

Nos 18 ensaios discriminados acima, inoculou-se o efluente com as concentrações previstas para cada tratamento, obtendo-se em cada erlenmeyer o volume total de efluente e inóculo igual a 100 mL. Os erlenmeyers foram incubados em incubadora *shaker* por 72 h a 180 rpm, no qual ocorreu a variação da temperatura, pH, e concentração de inóculo, conforme determinados nos tratamentos na Tabela 6. Para o monitoramento dos parâmetros pH, DQO, O&G, teor de ácidos graxos livres e atividade lipolítica, as amostras foram coletadas em 0, 24, 48 e 72 h e analisadas conforme metodologias descritas nos itens 4.5 e 4.6.

Para a atividade lipolítica, a amostra coletada foi centrifugada a 3000 rpm por 15 min, o precipitado era descartado e o sobrenadante analisado. Foi realizado um controle para cada um dos 18 tratamentos, sem adição do inóculo.

4.6.4 Análise estatística

O *software* STATISTICA 14 foi utilizado para determinar o efeito das variáveis independentes, o cálculo dos coeficientes de regressão, a análise de variância (ANOVA), utilizando-se o teste F a 5% de probabilidade e a obtenção dos gráficos de superfícies de resposta sobre as variáveis respostas atividade lipolítica, DQO, O&G e ácidos graxos livres.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TESTES PRELIMINARES PARA SELEÇÃO DO MICRORGANISMO

5.1.1 Atividade Lipolítica

Observando a Tabela 7, verifica-se que em tempo zero houve atividade lipolítica, avaliando-se as bactérias individualmente e em suas combinações. Já nos resultados obtidos no tempo 72 h constata-se que não houve atividade lipolítica, o que pode ser atribuído a alguns fatores, como pH, temperatura e/ou estabilidade térmica e concentração do substrato (BORZANI, et al. 2001).

TABELA 7 – ATIVIDADE LIPOLÍTICA DOS TRATAMENTOS APLICADOS

Tratamento	Atividade Lipolítica (U/mL) – 0 h	Atividade Lipolítica (U/mL) – 72 h
SW	0,2500 ± 0,05	0 ± 0,05
BM	0,5417 ± 0,05	0 ± 0,05
ME	0,2083 ± 0,05	0 ± 0,05
SW+ME	0,1250 ± 0,05	0 ± 0,05
BM+ME	0,1250 ± 0,05	0 ± 0,05
SW+BM	0,2917 ± 0,05	0 ± 0,05

Fonte: o autor (2021)

Para Borzani et al. (2001) e Lehninger (2002), a maioria das enzimas possui um pH ótimo para sua atividade, sendo que a velocidade de reação enzimática diminui à medida que o pH se afasta do ótimo. A estabilidade térmica das enzimas é um parâmetro que deve ser avaliado, quando se deseja aplicá-las em grandes plantas industriais biotecnológicas, já que diversos processos utilizam temperaturas, visto que valores elevados podem ocasionar a sua desnaturação (BORZANI, et al. 2001). A concentração do substrato, também é um fator que deve ser observado, pois quando a sua concentração estiver alta, a velocidade da reação deixa de ser linear e atinge sua velocidade máxima, ocupando e saturando todos os sítios ativos enzimáticos (LEHNINGER, 2002).

Observando os dados acima descritos, verificou-se que o microrganismo *Bacillus megaterium* obteve destaque, apresentando o maior valor no parâmetro avaliado. Gouveia (2017), em seu trabalho verificou que o cultivo submerso contendo azeite de oliva, assim como no presente estudo, mostrou-se eficaz para a produção de enzimas lipolíticas. O autor constatou máxima atividade

lipolítica nos isolados analisados, dentre eles o de *Bacillus megaterium*, obtendo uma atividade lipolítica de 0,552 U.mL⁻¹. Lima (2004), relatou em seu estudo que a produção da enzima lipase utilizando cepas de *Bacillus megaterium*, ocorre lentamente no decorrer de 20 h de cultivo, no entanto após este período pode-se alcançar uma atividade máxima de 33 U. mL⁻¹ em 70 h de cultivo.

5.1.2 Demanda Química de Oxigênio (DQO)

Verifica-se que todos os tratamentos aplicados obtiveram remoções de DQO (Tabela 8), no entanto, os melhores resultados foram para *Staphylococcus warneri* removendo cerca de 63,45%, *Bacillus megaterium* com a maior eficiência de remoção 72,72% e suas combinações (*Staphylococcus warneri* e *Bacillus megaterium*), removendo aproximadamente 54,92%. A menor eficiência de remoção foi verificada no tratamento ME, o qual corresponde à bactéria isolada do próprio efluente em estudo, alcançando uma remoção de 25,25%, o que nos sugere maiores estudos, com diferentes condições a serem aplicadas.

TABELA 8. EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DE DQO NOS TRATAMENTOS APLICADOS

Tratamento	Eficiência de Remoção de DQO (%)
SW	63,45
BM	72,72
ME	25,25
SW+ME	27,87
BM+ME	49,25
SW+BM	54,92

FONTE: o autor (2021)

Sonune e Garode (2018), em seu estudo utilizando lipases bacterianas, obtiveram 25% de eficiência de remoção de DQO em água residuária municipal. Haselroth (2019), obteve resultado de eficiência de remoção de DQO satisfatórios, aplicando isolados de *Aeromonas hydrophila* em efluente de abatedouro bovino, atingindo 67,4% de eficiência.

Segundo Lima et al. (2020), a utilização de enzimas para a diminuição da carga poluidora do efluente em um sistema de pré-tratamento se torna propício, devido ao fato de disponibilizar rapidamente uma concentração elevada de compostos intermediários mais facilmente degradáveis em tratamentos posteriores, sendo eles anaeróbios ou aeróbios.

5.1.3 Óleos e Graxas (O&G)

Observa-se que todos os tratamentos obtiveram altas eficiências de remoção (Tabela 9). Os maiores valores foram para *Staphylococcus warneri* e *Bacillus megaterium*, com 75,3% e 87,44% respectivamente. No entanto quando realizada a combinação destes microrganismos, a eficiência de remoção obteve uma queda, com apenas 50%, sendo a menor porcentagem obtida.

TABELA 9. EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DE O&G.

Tratamento	Eficiência de Remoção de O&G (%)
SW	75,30
BM	87,44
ME	73,94
SW+ME	71,14
BM+ME	55,93
SW+BM	50,00

Fonte: o autor (2021)

Lima et al. (2019), utilizando lipase suína no pré-tratamento de efluente de curtume, verificaram que houve redução de 50% da concentração de O&G do efluente após 72 h de pré-tratamento. Rocha et al. (2013), obtiveram eficiência de remoção de O&G de aproximadamente 80%, após 48 h em sistema fermentativo, no qual os microrganismos foram isolados a partir da água de lavagem de biodiesel. Moura (2020), cita que na reação enzimática de hidrólise, os substratos para a realização da reação são os O&G já presentes no efluente lácteo, o qual possui elevado teor lipídico. O mesmo autor, cita que em seu trabalho após 168 h de biorremediação obteve-se uma eficiência de remoção de aproximadamente 91,63% de O&G.

Resultados semelhantes aos citados acima, foram encontrados por Haselroth (2019), o qual avaliou a biodegradação de efluente de abatedouro bovino por meio da ação da enzima lipase, e obteve uma eficiência de remoção de aproximadamente 58,5% de O&G pós 72 h de tratamento.

5.1.4 pH

Previamente ao início dos pré-testes, o pH dos tratamentos foi ajustado para 7 com a finalidade de manter o meio neutro favorecendo o crescimento dos

microrganismos. De acordo com a Tabela 10, os valores de pH não sofreram grandes alterações, permanecendo praticamente neutros.

TABELA 10. VALORES DE pH APÓS OS TRATAMENTOS APLICADOS

Tratamento	pH
SW	7,50
BM	7,32
ME	6,94
SW+ME	6,82
BM+ME	6,91
SW+BM	6,69

FONTE: o autor (2021)

De forma geral, as enzimas apresentam um valor de pH ideal, no qual a sua atividade é máxima, sendo que a velocidade de reação diminui conforme este se afasta de seu ponto ótimo (BORZANI et al., 2001). Segundo Borzani et al. (2001), o pH tem influência nos grupos dissociáveis de vários aminoácidos presentes nas enzimas, a cada valor de pH estes grupos podem se tornar protonados ou desprotonados. Um pH ótimo para sua atividade, depende do número de grupo ionizáveis que a enzima apresenta, dependendo assim totalmente de sua estrutura primária.

Haselroth (2019), constatou em seu trabalho que o aumento do pH influenciou de forma negativa na atividade enzimática, ocorrendo um decréscimo da mesma. Saadatulaah et al. (2018), analisaram a atividade lipolítica em diferentes faixas de pH, constando que a atividade lipolítica de todos os isolados foi máxima em pH 7. Os mesmos autores, também observaram que a atividade lipolítica diminuía conforme ocorria o aumento ou redução do pH. Lima (2004), realizou a purificação da enzima lipase oriunda da bactéria *Bacillus megaterium*. O autor avaliou a atividade lipolítica em uma faixa de pH que compreendia de 2,5 à 10,5. O mesmo verificou que a enzima permaneceu ativa na faixa de pH 3,0 à 10,5, onde a atividade máxima foi observada e mantida entre pH 6,0 e 9,0.

5.2 PRÉ-TRATAMENTO DO EFLUENTE DE ABATEDOURO DE PEIXES

Com base nos resultados obtidos nos testes preliminares, verificou-se que bactéria *Bacillus megaterium* mostrou-se promissora, desta forma sendo utilizada no pré-tratamento do efluente de abatedouro de peixes.

Tendo em vista o acompanhamento do processo de pré-tratamento do efluente em estudo, realizou-se o monitoramento dos seguintes parâmetros: atividade lipolítica, DQO, O&G, ácidos graxos livres e pH no período de 72 h, sendo que as análises eram realizadas a cada 24 h. A partir da obtenção dos resultados, constatou-se que o tempo de reação de 72 h foi apropriado para o pré-tratamento do efluente em questão. Desta maneira, a análise estatística foi realizada com os resultados obtidos neste tempo de reação.

5.2.1 Atividade lipolítica detectada no efluente de abatedouro de peixes

Na Tabela 11 apresenta-se a matriz do delineamento experimental, com as variáveis nas suas formas codificadas e reais, bem como os resultados obtidos para a atividade lipolítica no efluente, no decorrer dos ensaios realizados.

TABELA 11 – DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E RESULTADOS DE ATIVIDADE LIPOLÍTICA.

Ensaio	Variáveis			Atividade lipolítica (U mL ⁻¹)			
	pH	T (°C)	Inóculo (%)	0 h	24 h	48 h	72 h
1	6,0 (-1)	30,0 (-1)	5,0 (-1)	0,12±0,00	0,33±0,15	0,17±0,05	0,12±0,10
2	6,0 (-1)	30,0 (-1)	15,0 (1)	0,08±0,15	0,46±0,10	0,21±0,00	0,25±0,05
3	6,0 (-1)	40,0 (1)	5,0 (-1)	0,33±0,25	0,54±0,05	0,21±0,10	0,25±0,00
4	6,0 (-1)	40,0 (1)	15,0 (1)	0,37±0,10	0,42±0,10	0,25±0,05	0,17±0,10
5	8,0 (1)	30,0 (-1)	5,0 (-1)	0,12±0,00	0,17±0,05	0,00±0,05	0,00±0,05
6	8,0 (1)	30,0 (-1)	15,0 (1)	0,04±0,00	0,00±0,05	0,00±0,05	0,00±0,00
7	8,0 (1)	40,0 (1)	5,0 (-1)	0,33±0,05	0,62±0,05	0,62±0,00	0,33±0,00
8	8,0 (1)	40,0 (1)	15,0 (1)	0,29±0,00	0,54±0,05	0,17±0,05	0,08±0,10
9	5,3 (-1,68)	35,0 (0)	10,0 (0)	0,42±0,05	0,42±0,10	0,33±0,00	0,33±0,00
10	8,7 (1,68)	35,0 (0)	10,0 (0)	0,21±0,00	0,04±0,05	0,00±0,01	0,00±0,05
11	7,5 (0)	26,6 (-1,68)	10,0 (0)	0,25±0,15	0,00±0,05	0,00±0,05	0,12±0,00
12	7,0 (0)	43,4 (1,68)	10,0 (0)	0,12±0,05	0,42±0,10	0,25±0,30	0,16±0,10
13	7,0 (0)	35,0 (0)	1,6 (-1,68)	0,67±0,05	0,08±0,10	0,00±0,00	0,08±0,00
14	7,0 (0)	35,0 (0)	18,4 (1,68)	0,71±0,10	0,04±0,05	0,08±0,20	0,04±0,05
15	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	0,33±0,05	0,29±0,05	0,04±0,10	0,04±0,05
16	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	0,25±0,15	0,12±0,05	0,08±0,15	0,25±0,10
17	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	0,25±0,05	0,42±0,10	0,12±0,10	0,21±0,05
18	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	0,33±0,05	0,29±0,05	0,12±0,10	0,12±0,05

Fonte: o autor (2021).

No início da reação (0 h) obteve-se atividade lipolítica em todos os ensaios. No decorrer dos tratamentos em 24 h alguns ensaios (1;2;3;4;7;8;9;12 e 17) também apresentaram valores consideráveis de atividade lipolítica, no entanto em outros já havia decréscimo de sua atividade, como também foi verificado nos tempos de 48 e 72 h. Os tratamentos 7 e 9 foram os responsáveis pela maior atividade lipolítica em 72 h de tratamento, ambos com 0,33 U mL⁻¹, estes expostos a diferentes condições.

Utilizando os dados da Tabela 11, ajustaram-se os dados e a partir destes obteve-se o modelo de regressão linear (Eq. 4), no qual relacionou-se a atividade lipolítica com os efeitos significativos e não significativos, em um intervalo de confiança de 95%. O coeficiente de correlação (R²) obtido foi de 0,7904, o qual nos indica que o modelo explicou cerca de 79,04% da variação dos dados.

$$\text{Atividade Lipolítica (U mL}^{-1}\text{)} = 0,129744 - 0,3101xpH + 0,0001xpH^2 + 0,0292xT - 0,009xT^2 + 0,1585xl - 0,0014xl^2 \quad (\text{Eq. 4})$$

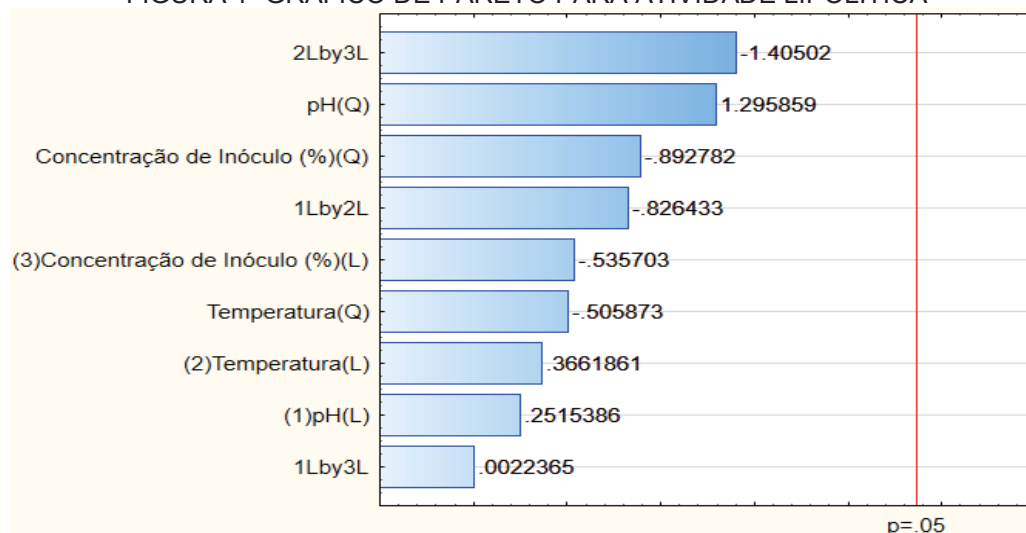
Sendo:

T: Temperatura;

I: Concentração de Inóculo.

Para analisar a influência das variáveis independentes em relação às variáveis respostas, os resultados foram avaliados através de gráfico de Pareto, ANOVA, e superfícies de resposta. A Figura 1 apresenta o gráfico de Pareto, o qual nos traz a influência das variáveis independentes sobre a atividade lipolítica. Caso se tenha valores à direita da linha vermelha (p-valor =0,05), estes são considerados significativos para um intervalo de confiança de 95%.

FIGURA 1- GRÁFICO DE PARETO PARA ATIVIDADE LIPOLÍTICA



FONTES: O AUTOR (2021).

Como pode-se observar na Figura 1, as variáveis independentes, pH, temperatura e concentração de inóculo, não foram consideradas significativas em um nível de significância de 95% quando avaliamos o parâmetro atividade lipolítica, desta forma não influenciam na atividade enzimática. Para se afirmar que o modelo proposto é válido, realizou-se a ANOVA, comparando-se o valor de F calculado com F tabelado (Tabela 12). Verifica-se que F calculado é menor que F tabelado, desta forma não existe diferença estatística entre os valores obtidos a um p-valor = 0,05.

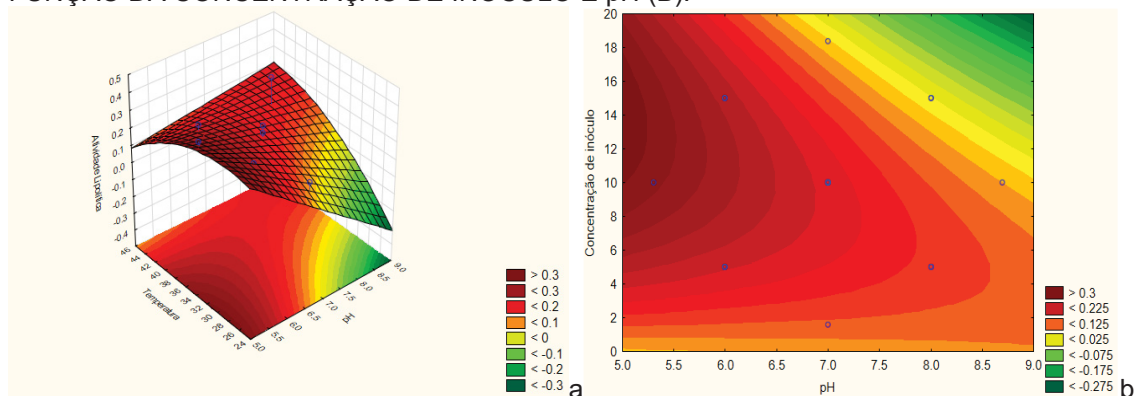
TABELA 12 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA A ATIVIDADE LIPOLÍTICA.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Fcal (95%)	Ftab (95%)	Fcal/Ftab
Regressão	0,101162	9	0,011240	0,838904	3,68	Fcal<Ftab
Erro	0,093791	7	0,013399			
Total	0,194953	16				

FONTES: o autor (2021).

A superfície de resposta ilustrada na Figura 2a representa a atividade lipolítica em função da concentração de inóculo e da temperatura e a Figura 2b representa o gráfico de contorno para a atividade lipolítica em função da concentração de inóculo e pH.

FIGURA 2 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DA ATIVIDADE LIPOLÍTICA EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E DO pH (A). GRÁFICO DE CONTORNO DA ATIVIDADE LIPOLÍTICA EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO E pH (B).



FONTE: o autor (2021).

Verifica-se que o ponto ótimo para atividade lipolítica foi nas seguintes condições: pH de aproximadamente 5,4, temperatura de 35 °C e concentração de inóculo de 10%, o que nos reflete as condições utilizadas no ensaio 9.

Na Figura 2a, avaliando-se somente as variáveis pH e temperatura, pode-se constatar que as faixas de pH que compreendem os valores de 6 à 7 e temperaturas na faixa de 30 à 43 °C também obtiveram valores consideráveis de atividade lipolítica. Avaliando-se a Figura 2b, considerando as variáveis pH e concentração de inóculo, nota-se que os resultados de pH encontrados corroboram com os valores obtidos na Figura 2a. Já as concentrações de inóculo que compreendem os valores de 5 à 15%, obtiveram valores relevantes para o parâmetro avaliado.

Facchin (2013), avaliando a atividade lipolítica e a estabilidade da *Bacillus megaterium*, para posterior aplicação em tratamento de esgoto, verificou que em 24 h de incubação o extrato lipolítico manteve aproximadamente 70% da atividade lipolítica, em temperaturas que variaram de 5 à 37°C e pH na faixa de 9,8 à 12,3.

Lima (2004), avaliou a produção de lipase a partir da *Bacillus megaterium* em um processo de biocatálise, o autor cita que em uma faixa de temperatura que compreende de 20 à 70 °C, as maiores atividades lipolíticas foram encontradas em 37° C (71,4 U mL⁻¹) e 65 °C (72 U mL⁻¹). Além disso, o mesmo autor avaliou o efeito do pH entre 2,5 e 10 sobre a atividade enzimática, o mesmo verificou que houve altas atividades no intervalo de pH entre 5,0 e 7,0, com atividade máxima em pH 6,0. De acordo com Lima (2004), a atividade

lipolítica demonstrada pela lipase da bactéria *Bacillus megaterium* em valores de pH ácidos, não são comuns entre lipases produzidas por bactérias, as quais comumente são ativas em valores neutros ou alcalinos de pH.

Os autores Shukla e Desai (2016) isolando o microrganismo *Pseudomonas* spp de amostras contaminadas com óleo, avaliaram a atividade lipolítica do mesmo, onde nas condições de pH 7,5, temperatura de 30 °C e após 48 a 72 h de tratamento, obtiveram atividade lipolítica de 2,7 U mL⁻¹. Haselroth (2019), avaliando a atividade lipolítica da bactéria *Aeromonas hydrophila* no tratamento de efluente de abatedouro bovino, obteve um ponto ótimo para o parâmetro avaliando, nas condições de pH 7,5, 35 °C e com concentração de inóculo de 15%.

Muitas lipases possuem a característica de atuar em ampla faixa de pH e temperatura, sendo que as temperaturas ótimas podem variar de 15 à 80 °C (JAVED, et al. 2018). Conforme Borzani et al. (2001), as enzimas possuem um valor de pH, em que sua atividade atinge o pico máximo, e à medida que o pH se afasta desse valor a velocidade de reação diminui.

5.2.2 Eficiência de remoção de DQO no efluente de abatedouro de peixes

Na Tabela 13, encontra-se os resultados obtidos para o parâmetro DQO no decorrer do experimento, bem como os níveis de cada variável (pH, temperatura e concentração de inóculo).

TABELA 13 – DELINEAMENTO EXPERIMENTAL COM VALORES REAIS E RESPOSTA QUANTO A CONCENTRAÇÃO DE DQO E EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO APÓS 72 H

Ensaio	Variáveis			DQO (mg L ⁻¹)				Eficiência (%)	
	pH	T (°C)	Inóculo (%)	0 h	24 h	48 h	72 h	72 h	72 h
1	6,0 (-1)	30,0 (-1)	5,0 (-1)	4916,7±416,7	2480,0±112,5	2517,5±200,0	3742,5±112,5		23,88
2	6,0 (-1)	30,0 (-1)	15,0 (1)	3666,7±83,3	3205,0±62,5	1792,5±275,0	1955,0±100,0		46,68
3	6,0 (-1)	40,0 (1)	5,0 (-1)	3325,0±250,0	3715,0±162,5	2877,5±125,0	2940,0±62,5		11,58
4	6,0 (-1)	40,0 (1)	15,0 (1)	3418,7±343,8	2915,0±187,5	2990,0±112,5	2927,0±50,0		14,37
5	8,0 (1)	30,0 (-1)	5,0 (-1)	5416,7±166,7	4192,5±300,0	2330,0±187,5	2317,5±62,5		57,21
6	8,0 (1)	30,0 (-1)	15,0 (1)	4583,3±83,3	5292,5±50,0	3167,5±625,0	2167,5±212,5		52,71
7	8,0 (1)	40,0 (1)	5,0 (-1)	5887,5±0,0	3690,0±137,5	3902,5±0,0	4640,0±112,5		21,19
8	8,0 (1)	40,0 (1)	15,0 (1)	4443,7±250,0	3952,5±75,0	3702,5±50,0	4090,0±312,5		7,96
9	5,3 (-1,68)	35,0 (0)	10,0 (0)	4750,0±0,0	3092,5±50,0	4250,0±183,3	3550,0±50,0		25,26
10	8,7 (1,68)	35,0 (0)	10,0 (0)	6000,0±166,7	2680,0±187,5	2983,3±16,7	2333,3±100,0		61,11
11	7,5 (0)	26,6 (-1,68)	10,0 (0)	4666,7±66,7	3966,7±300,0	4617,5±287,5	4130,0±75,0		11,50
12	7,0 (0)	43,4 (1,68)	10,0 (0)	2871,9±78,1	3330,0±12,5	2367,5±0,0	1792,5±0,0		37,58
13	7,0 (0)	35,0 (0)	1,6 (-1,68)	5541,7±125,0	4005,0±112,5	3116,7±316,7	2460,8±294,2		55,59
14	7,0 (0)	35,0 (0)	18,4 (1,68)	5375,0±208,3	2792,5±75,0	3316,7±316,7	2483,3±16,7		53,80
15	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	5550,0±83,3	5433,0±0,0	2280,0±12,5	3217,5±112,5		42,03
16	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	6066,7±0,0	5400,0±33,3	2855,0±37,5	2755,0±125,0		54,59
17	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	5933,3±66,7	5816,7±116,7	3080,0±12,5	2392,5±75,0		59,68
18	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	5883,3±83,3	5783,3±216,7	2992,5±0,0	1930,0±137,5		57,04

FONTE: o autor (2021).

Observa-se que o ensaio 10 obteve a maior eficiência de remoção de DQO, em 72 h de tratamento, com 61,11%, em pH 8,7, temperatura de 35 °C com uma concentração de 10% de inóculo. Porém, avaliando os demais resultados, verifica-se que os ensaios 16, 17 e 18 também obtiveram excelentes eficiências de remoção: 54,59, 59,68 e 57,04%, respectivamente. No entanto, ao observar o ensaio 13, verifica-se uma elevada remoção de DQO, aproximadamente 55,59%, este ensaio destaca-se perante os outros pelo fato de o mesmo utilizar a menor concentração de inóculo (1,6%), pH 7, considerado neutro, e temperatura de 35 °C. Também é possível verificar que as menores eficiências de remoção de DQO encontram-se nos ensaios em que foram utilizadas as temperaturas de 26,6, 40 e 43,4 °C.

Com os resultados obtidos, ajustaram-se os dados para a obtenção de um modelo de regressão linear (Eq.5), correlacionando os efeitos significativos com a eficiência de remoção de DQO, em um intervalo de confiança de 95%. Este modelo de regressão, apresentou $R^2 = 0,6392$, o que significa que 63,92% da variação da eficiência de remoção de DQO (%) é explicada pelo modelo de regressão apresentado.

$$\text{Remoção de DQO (\%)} = -1337,95 + 15,22xI - 0,13xI^2 + 148,49xpH - 7,04xpH^2 + 45,38xT - 0,55xT^2 \quad (\text{Eq. 5})$$

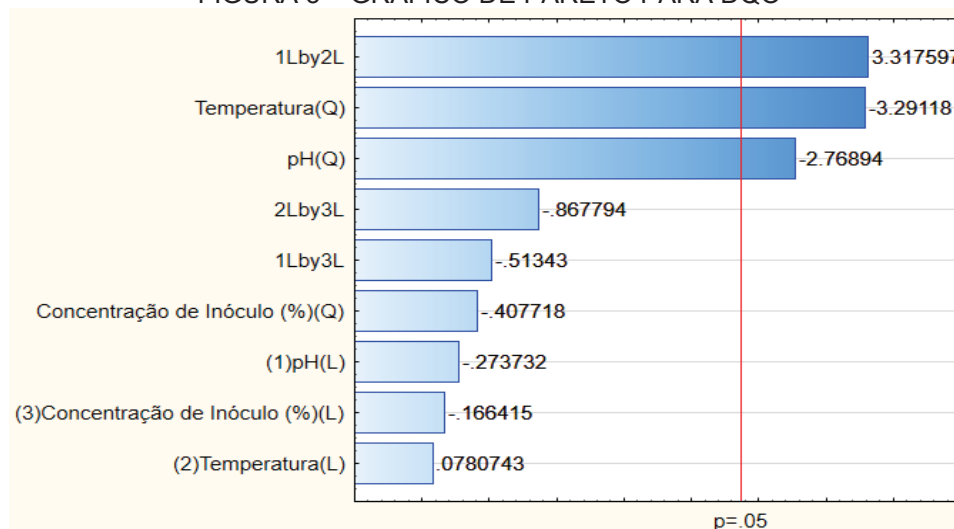
Sendo:

T: Temperatura;

I: Concentração de Inóculo.

Com base nos dados apresentados na Tabela 13, elaborou-se o gráfico de Pareto, no qual é possível avaliar se existe efeito significativo da temperatura, concentração de inóculo e pH, em relação ao parâmetro DQO (Figura 3), para um intervalo de confiança de 95%.

FIGURA 3 – GRÁFICO DE PARETO PARA DQO



FONTE: o autor (2021).

Os valores à direita da linha vermelha (p -valor= 0,05), são considerados significativos para um intervalo de confiança de 95%. Desta forma, é possível identificar que as variáveis pH e temperatura em seus termos quadráticos influenciaram significativamente de forma negativa a remoção de DQO, portanto com o aumento do valor destas variáveis, ocorre o decréscimo da remoção de DQO. No entanto, a interação destas duas mesmas variáveis também influenciou significativamente, porém de forma positiva. A partir da análise de variância (ANOVA), realizou-se o teste F (Tabela 14), onde é possível verificar que existe diferença significativa entre os resultados, pois F calculado é maior que F tabelado, em um intervalo de 95% de confiança.

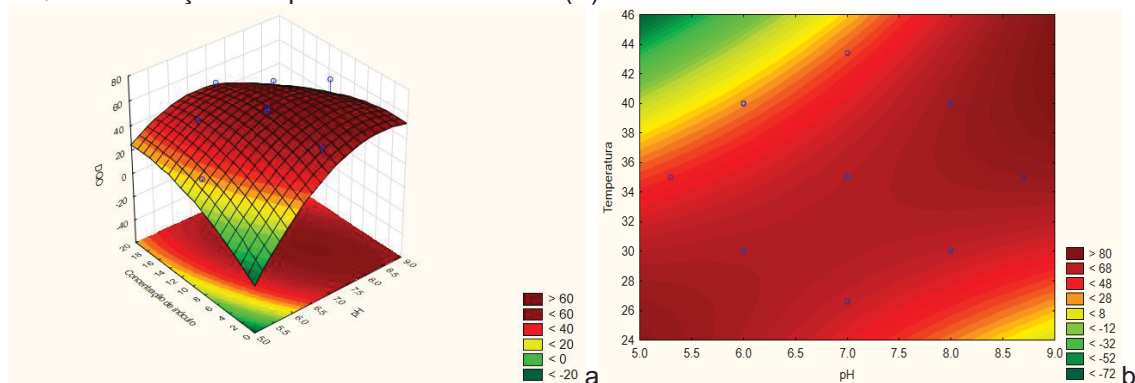
TABELA 14 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA A REMOÇÃO DE DQO.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Fcal (95%)	Ftab (95%)	Fcal/Ftab
Regressão	5405,462	9	600,6069	4,380663	3,68	Fcal>Ftab
Erro	959,729	7	137,1041			
Total	6365,191	16				

FONTE: O AUTOR (2021).

Na Figura 4 é apresentada a superfície de resposta obtida para a remoção de DQO, em função da concentração de inóculo e pH (4a), e o gráfico de contorno em função do pH e temperatura (4b).

FIGURA 4 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA REMOÇÃO DE DQO EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO E pH (A). GRÁFICO DE CONTORNO PARA REMOÇÃO DE DQO EM FUNÇÃO DE pH E TEMPERATURA (B).



FONTE: o autor (2021).

Analisando a Figura 4a, e avaliando-se as variáveis concentração de inóculo e pH, verifica-se que houve uma maior eficiência de remoção em pH 8, com uma concentração de inóculo de 5%. No entanto, ao avaliar a Figura 4b, observando as variáveis pH e temperatura, verifica-se que neste caso, a maior eficiência foi obtida em pH 7 e temperatura de 35 °C. Desta forma, as melhores condições seriam em uma faixa de pH que compreende de 7-8.

Dors et al. (2013), utilizando lipase pancreática porcina, obteve uma maior eficiência de remoção de DQO (92%) em pH 8, no pré-tratamento de efluente avícola, pH este, semelhante ao encontrado no presente estudo. Affes et al. (2017), avaliaram a remoção de DQO em efluente de abatedouro avícola, utilizando a lipase provinda do microrganismo *Staphylococcus xylosus* e também obtiveram, considerável eficiência de remoção de DQO em pH 7, cerca de 72%. O valor de pH utilizado pelo autor supracitado, também obteve consideráveis eficiências de remoção de DQO no presente estudo, o que é confirmado nos ensaios 13, 14, 16, 17 e 18, nos quais a eficiência de remoção foi superior a 50%.

Bastos (2019), também obteve maior redução de DQO (88,5%) em pH 7,0 e menor concentração enzimática (12,8 U mL⁻¹), avaliando a aplicação de lipase fúngica em efluente de indústria de sorvetes. No presente estudo também se obteve eficiência de remoção de DQO em condições semelhantes ao citado no estudo de Bastos (2019). Estas condições constadas no ensaio 13, no qual utilizou-se pH 7,0 e a menor concentração de inóculo de todo o experimento (1,68 %), e assim obteve-se 55,68% de remoção de DQO.

Verma et al. (2012), verificaram que em 168 h de tratamento, houve uma remoção de 86,4% de DQO de águas residuais contaminadas com petróleo,

utilizando isolado de *Pseudomonas aeruginosa*, nas condições de 10% de inóculo, em temperatura de 35 °C a 180 rpm. Já Haselroth (2019), utilizando a bactéria *Aeromonas hydrophila*, em 72 h de tratamento obteve 67,4% de remoção de DQO em efluente de abatedouro bovino, utilizando as condições de pH 8, 10% de inóculo e 40 °C, valor este que próximo ao obtido no ensaio 10 (61,11%) do presente estudo, porém em condições diferentes.

5.2.3 Eficiência de remoção de óleos e graxas no efluente de abatedouro de peixes

Na Tabela 15, são apresentados os resultados dos efeitos do pH, temperatura e concentração de inóculo em relação a concentração de O&G.

TABELA 15 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL COM VALORES REAIS E RESPOSTA QUANTO A CONCENTRAÇÃO DE O&G.

Ensaio	Variáveis			O&G (mg L ⁻¹)				Efficiência (%)
	pH	T (°C)	Inóculo (%)	0 h	24 h	48 h	72 h	72 h
1	6,0 (-1)	30,0 (-1)	5,0 (-1)	713,3±6,7	266,7±0,0	233,3,0±20,0	426,7±13,0	40,20
2	6,0 (-1)	30,0 (-1)	15,0 (1)	726,7±6,7	260,0±20,0	240,0±120,0	180,0±6,7	75,20
3	6,0 (-1)	40,0 (1)	5,0 (-1)	440,0±133,3	1053,3±66,7	333,3±83,3	400,0±20,0	9,10
4	6,0 (-1)	40,0 (1)	15,0 (1)	486,7±20,0	466,7±0,0	193,3±86,7	480,0±106,7	1,40
5	8,0 (1)	30,0 (-1)	5,0 (-1)	566,7±126,7	213,3±0,0	180,0±100,0	106,7±0,0	81,20
6	8,0 (1)	30,0 (-1)	15,0 (1)	513,3±46,7	133,3±0,0	146,7±13,3	240,0±13,3	53,20
7	8,0 (1)	40,0 (1)	5,0 (-1)	620,0±220,0	780,0±33,3	426,7±106,7	206,7±20,0	66,70
8	8,0 (1)	40,0 (1)	15,0 (1)	566,7±26,7	573,3±120,0	613,3±26,7	126,7±46,7	77,60
9	5,3 (-1,68)	35,0 (0)	10,0 (0)	806,7±73,3	280,0±0,0	180,0±6,7	186,7±26,7	76,90
10	8,7 (1,68)	35,0 (0)	10,0 (0)	1066,7±26,7	286,7±6,7	240,0±26,7	293,3±26,7	72,50
11	7,5 (0)	26,6 (-1,68)	10,0 (0)	1193,3±86,7	593,2±20,0	640,0±26,7	420,0±46,7	64,80
12	7,0 (0)	43,4 (1,68)	10,0 (0)	1000,0±0,0	626,7±0,0	526,7±6,7	406,7±20,0	59,30
13	7,0 (0)	35,0 (0)	1,6 (-1,68)	1266,7±40,0	406,7±33,3	273,3±20,0	180±46,7	85,80
14	7,0 (0)	35,0 (0)	18,4 (1,68)	933,3±0,0	326,7±60,	213,3±40,0	186,7±26,7	80,00
15	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	780,0±86,7	106,7±13,3	100,0±6,7	173,3±0,0	77,80
16	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	866,7±13,3	113,3±6,7	220,0±140,0	273,3±6,7	68,50
17	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	686,7±46,7	100,0±20,0	266,7±13,3	220,0±33,3	68,00
18	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	566,7±20,0	86,7±6,7	153,3±20,0	206,7±33,3	63,50

FONTE: o autor (2021).

De acordo com os resultados, as maiores remoções de óleos e graxas aconteceram em 0 h, no início do tratamento, sendo que o ensaio 13, foi o responsável pela maior taxa de remoção no tempo citado, com concentração de 1266,7 mg L⁻¹. O mesmo ensaio teve o maior percentual de remoção em 72 h de tratamento, 85,8%, sendo que as condições determinadas para este tratamento foram, pH 7,0, temperatura de 35 °C e concentração de inóculo de 1,6%, a menor concentração utilizada neste trabalho.

De maneira geral, para este parâmetro foram obtidos excelentes percentuais de remoção de O&G em 72 h de tratamento, o ensaio 5, o qual utilizou um pH de 8,0, temperatura de 30 °C e concentração de inóculo de 5%, obteve 81,2% de eficiência de remoção. Já o ensaio 9, no qual foi utilizado um pH ácido de 5,3, temperatura de 35 °C e concentração de inóculo de 10%, obteve também um valor considerável de eficiência de remoção, cerca de 76,9%. Já as menores eficiências de remoção de O&G foram identificados os ensaios 3 e 4, com percentuais de 9,1% e 1,4%, respectivamente.

Utilizando os valores experimentais obtidos (Tabela 15), realizou-se o ajuste dos dados para a obtenção de um modelo de regressão linear (Eq.6), onde relaciona-se a eficiência de remoção de O&G com os fatores e não significativos, para um intervalo de confiança de 95%. Obteve-se um coeficiente de correlação (R²) de 0,5279, indicando que o modelo explicou 52,79% da variação dos dados obtidos.

$$\text{Remoção de O\&G} = 235,3012 - 49,3374x\text{pH} - 2,1048x\text{pH}^2 - 2,5403xT - 0,2698xT^2 + 7,9283xI + 0,0257xI^2 \quad (\text{Eq. 6})$$

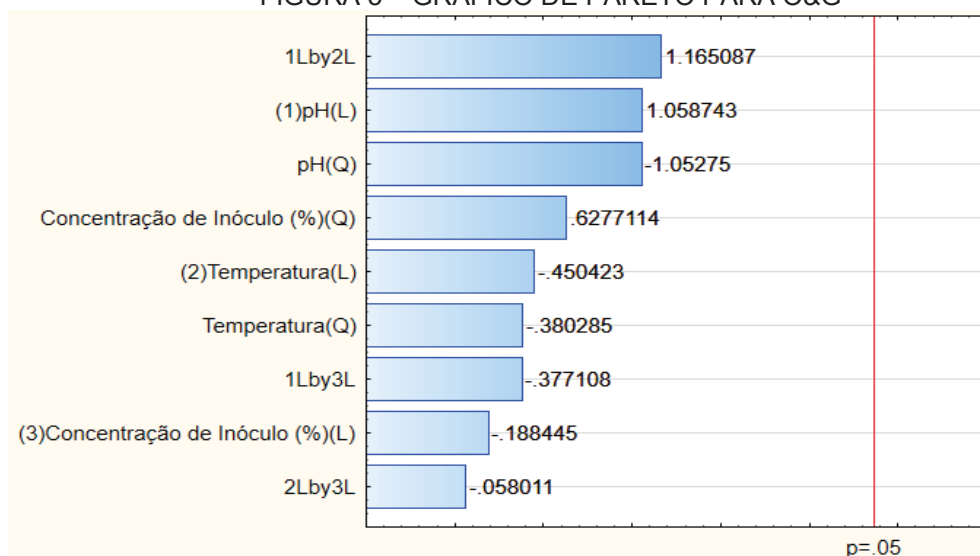
Sendo:

T: Temperatura;

I: Concentração de Inóculo.

Com os dados obtidos e expostos na Tabela 14, verificou-se através do gráfico de Pareto (Figura 5), a possibilidade de as variáveis independentes serem significativas ou não em relação a remoção de O&G, para um intervalo de confiança de 95%.

FIGURA 5 – GRÁFICO DE PARETO PARA O&G



FONTE: o autor (2021).

Conforme Figura 5, verifica-se que as variáveis independentes avaliadas não possuem ação sob o parâmetro em questão, ou seja, não são significantes, o aumento ou o decréscimo das mesmas não afetou de maneira significativa a remoção de O&G dos ensaios realizados. A partir dos dados obtidos, realizou-se a análise de variância (ANOVA) e posterior teste F (Tabela 16).

TABELA 16 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA A REMOÇÃO DE O&G.

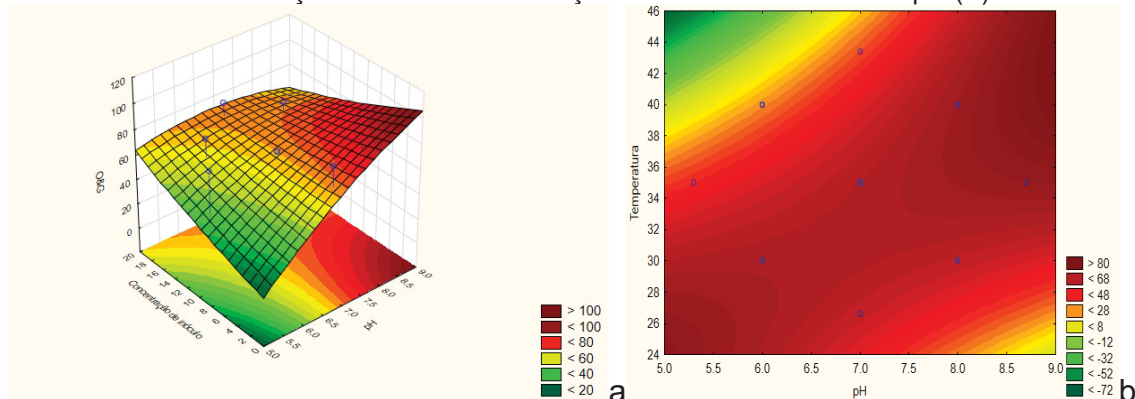
Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Fcal (95%)	Ftab (95%)	Fcal/Ftab
Regressão	5389,613	9	598,8459	1,116507	3,68	Fcal<Ftab
Erro	3754,496	7	536,3566			
Total	9144,109	16				

FONTE: O AUTOR (2021).

Os dados apresentados na Tabela 16, confirmam o que foi observado na Figura 5, ou seja, não há diferença estatística para um intervalo de confiança de 95%, F calculado (1,116507) foi menor que F tabelado (3,68).

A superfície de resposta apresentada na Figura 6a, retrata o modelo obtido para eficiência de remoção de O&G em função da concentração de inóculo e pH, já o gráfico de contorno (Figura 6b), representa a eficiência de remoção de O&G em função da temperatura e pH.

FIGURA 6 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DE O&G EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO E pH (A). GRÁFICO DE CONTORNO PARA EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DE O&G EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E pH (B).



FONTE: o autor (2021).

Analisando as Figuras 6a e 6b, verifica-se que as condições ideais para uma eficiência de O&G relevante é de aproximadamente 1,6% de inóculo, pH 7 e temperatura de 35°C, o que se confirma no ensaio 13, que obteve o maior percentual de eficiência de remoção (85,8%). Além disso, os ensaios que tiveram seu tratamento na faixa de pH que compreende os valores de 8 à 8,7 e concentrações de inóculo de 5% e 10%, também obtiveram boas remoções de O&G, destacam-se nessas condições os ensaios 5, 7 e 10.

Silva et al. (2016), avaliaram a remoção de O&G em efluente de abatedouro, com lipase advinda do fungo *Penicillium sp.*, porém em condições distintas as utilizadas no presente estudo, os autores utilizaram pH 6,9, temperatura 30 °C e 11 dias de tratamento, e obtiveram um percentual de remoção inferior (79,8%) ao obtido neste estudo em apenas 72 h de tratamento.

Krishnan e Valsa (2015), utilizaram um consórcio de microrganismos para o tratamento de efluente de laticínios, com aplicação de *Bacillus coagulans*, *Bacillus simplex* e *Trichococcus sp.* em 216 h de tratamento a uma temperatura de 30 °C. Os autores citados obtiveram 88,5% de eficiência de remoção de O&G em 9 dias de tratamento. Comparando os valores obtidos pelos autores supracitados com o presente estudo, nota-se que o tratamento utilizado é vantajoso, visto que utilizou apenas o microrganismo *B. megaterium* e em 72h de tratamento obteve-se um valor muito semelhante ao encontrado pelos autores mencionados.

Damasceno et al. (2018), obtiveram remoção de 96% de O&G de água residual de matadouro de aves, utilizando um consórcio da enzima obtida do

fungo *Penicillium brevicompactum* e um biossurfactante obtido da *P.aeruginosa*. Os autores empregaram uma concentração de 0,5% de enzima e 25 mg L⁻¹ do biossurfactante, pH 7 à 30 °C. Porém o percentual de remoção obtido para a remoção de O&G citado pelos autores, foi alcançado em 4 h de tratamento enzimático seguida de tratamento anaeróbio por 187 dias. Haselroth (2019), no pré-tratamento de efluente de abatedouro bovino, obteve uma remoção de O&G de 58,5% em 72 h de tratamento, utilizando lipase obtida da bactéria *Aeromonas hydrophila* em condições de pH 7, 10% de concentração de inóculo e 30 °C.

Conforme Valente et al. (2010), o excesso de O&G pode gerar efeitos inibidores no crescimento dos microrganismos e na produção de enzima, desestabilizando o sistema de pré-tratamento. Além disso, para evitar que ocorra a obstrução de tubulações de esgotos e problemas operacionais nas estações de tratamento de efluentes, é essencial que ocorra a remoção de O&G de forma eficiente, para que os efluentes possam ser descartados de forma correta (TZIRITA, PAPANIKOLAOU e QUILTY, 2019).

5.2.4 Valores de ácidos graxos livres obtidos no tratamento do efluente de abatedouro de peixes

A Tabela 17 exhibe a matriz do delineamento experimental, com as variáveis codificadas e reais, bem como os resultados obtidos para a concentração de ácidos graxos livres no efluente de abatedouro de peixes do presente estudo.

TABELA 17 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL COM VALORES REAIS E RESPOSTA QUANTO A CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES.

Ensaio	Variáveis			Ácidos Graxos Livres ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)			
	pH	T ($^{\circ}\text{C}$)	Inóculo (%)	0 h	24 h	48 h	72 h
1	6,0 (-1)	30,0 (-1)	5,0 (-1)	7,60 $\pm$ 0,10	3,80 $\pm$ 0,00	4,18 $\pm$ 0,05	3,80 $\pm$ 0,00
2	6,0 (-1)	30,0 (-1)	15,0 (1)	7,22 $\pm$ 0,15	5,32 $\pm$ 0,00	3,80 $\pm$ 0,00	4,94 $\pm$ 0,05
3	6,0 (-1)	40,0 (1)	5,0 (-1)	8,36 $\pm$ 0,10	9,88 $\pm$ 0,00	5,32 $\pm$ 0,00	4,94 $\pm$ 0,05
4	6,0 (-1)	40,0 (1)	15,0 (1)	7,60 $\pm$ 0,10	10,26 $\pm$ 0,05	5,70 $\pm$ 0,05	2,28 $\pm$ 0,00
5	8,0 (1)	30,0 (-1)	5,0 (-1)	6,08 $\pm$ 0,00	5,32 $\pm$ 0,00	4,18 $\pm$ 0,05	4,18 $\pm$ 0,05
6	8,0 (1)	30,0 (-1)	15,0 (1)	6,42 $\pm$ 0,05	4,18 $\pm$ 0,05	3,04 $\pm$ 0,00	3,80 $\pm$ 0,00
7	8,0 (1)	40,0 (1)	5,0 (-1)	5,70 $\pm$ 0,15	9,88 $\pm$ 0,00	7,60 $\pm$ 0,00	4,56 $\pm$ 0,05
8	8,0 (1)	40,0 (1)	15,0 (1)	4,94 $\pm$ 0,05	7,60 $\pm$ 0,00	5,32 $\pm$ 0,10	3,80 $\pm$ 0,00
9	5,3 (-1,68)	35,0 (0)	10,0 (0)	7,60 $\pm$ 0,00	8,36 $\pm$ 0,10	6,46 $\pm$ 0,05	5,70 $\pm$ 0,05
10	8,7 (1,68)	35,0 (0)	10,0 (0)	6,84 $\pm$ 0,00	5,32 $\pm$ 0,00	4,94 $\pm$ 0,05	4,18 $\pm$ 0,05
11	7,5 (0)	26,6 (-1,68)	10,0 (0)	5,70 $\pm$ 0,05	2,66 $\pm$ 0,05	1,90 $\pm$ 0,05	3,88 $\pm$ 0,00
12	7,0 (0)	43,4 (1,68)	10,0 (0)	5,32 $\pm$ 0,00	6,84 $\pm$ 0,00	4,94 $\pm$ 0,05	7,98 $\pm$ 0,05
13	7,0 (0)	35,0 (0)	1,6 (-1,68)	7,60 $\pm$ 0,00	7,98 $\pm$ 0,05	4,56 $\pm$ 0,00	4,94 $\pm$ 0,05
14	7,0 (0)	35,0 (0)	18,4 (1,68)	6,08 $\pm$ 0,00	7,98 $\pm$ 0,05	4,94 $\pm$ 0,05	4,56 $\pm$ 0,10
15	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	5,70 $\pm$ 0,05	4,56 $\pm$ 0,10	3,04 $\pm$ 0,00	3,42 $\pm$ 0,05
16	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	5,70 $\pm$ 0,05	2,66 $\pm$ 0,05	2,28 $\pm$ 0,00	12,54 $\pm$ 1,35
17	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	5,70 $\pm$ 0,05	3,80 $\pm$ 0,00	3,04 $\pm$ 0,00	4,18 $\pm$ 0,05
18	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	5,70 $\pm$ 0,05	4,18 $\pm$ 0,05	2,28 $\pm$ 0,00	3,42 $\pm$ 0,05

FONTE: o autor (2021).

Verifica-se que a maior concentração de ácidos graxos livres esteve presente no tempo de 24 h de tratamento, a partir de 48 h os valores apresentaram decréscimo em praticamente todos os ensaios e em 72 h apenas alguns ensaios obtiveram o aumento de ácidos graxos livres. Verificando o início do tratamento, em 0 h, observa-se que a maior concentração de ácidos graxos livres foi de 8,36 $\mu\text{mol mL}^{-1}$, no ensaio 3. Ao analisar o tempo de 24 h, constata-se que o ensaio 4 obteve a maior concentração de ácidos graxos livres, aproximadamente 10,26 $\mu\text{mol mL}^{-1}$, nas seguintes condições de tratamento pH 6, temperatura de 40 $^{\circ}\text{C}$ e concentração de inóculo de 15%. Já em 48 h de tratamento destaca-se o ensaio 7, obtendo 7,60 $\mu\text{mol mL}^{-1}$ nas condições de pH 7, temperatura de 40 $^{\circ}\text{C}$ e 5% de concentração de inóculo. Em 72 h, a maior concentração de ácidos graxos livres foi de 12,54 $\mu\text{mol mL}^{-1}$, este valor pertencente ao ensaio 16, no qual o tratamento ocorreu em pH 7, 35 $^{\circ}\text{C}$ e concentração de inóculo de 10%.

Desta forma, com os dados obtidos, ajustaram-se os valores para a obtenção de um modelo de regressão linear (Eq. 7), comparando a concentração de ácidos graxos livres com fatores que podem ou não apresentar efeitos

significativos, utilizando um intervalo de confiança de 95%. O modelo obtido apresentou $R^2 = 0,3966$, sendo assim, 39,66% da variação da concentração de ácidos graxos livres ($\mu\text{mol mL}^{-1}$) pode ser explicada através do modelo proposto.

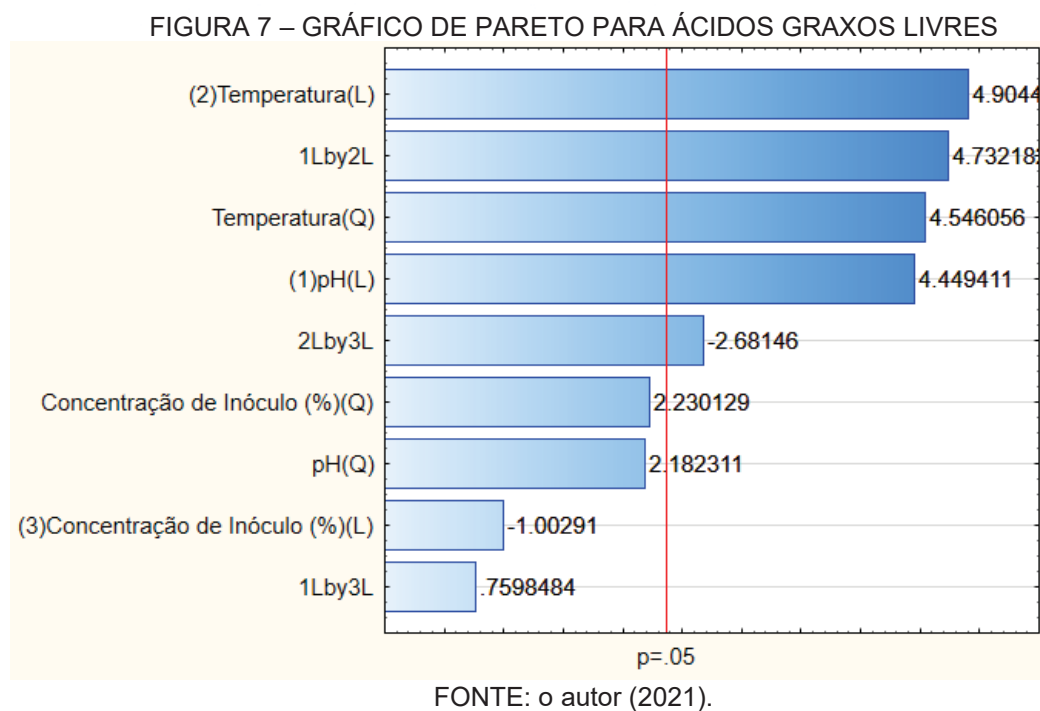
$$\text{Concentração de ácidos graxos livres } (\mu\text{mol mL}^{-1}) = 41,2633 - 4,3618\text{pH} + 0,1746\text{pH}^2 - 1,4639\text{xT} + 0,0203\text{xT}^2 + 0,5321\text{xI} + 0,0042\text{xI}^2 \quad (\text{Eq.7})$$

Sendo:

T: Temperatura;

I: Concentração de Inóculo.

A partir dos dados apresentados na Tabela 17 elaborou-se o gráfico de Pareto (Figura 7), para avaliar se existe ou não influência das variáveis independentes sob a concentração de ácidos graxos livres, em um intervalo de confiança de 95%.



Ao analisar a Figura 7, verifica-se que a temperatura tanto em sua função linear como quadrática, influenciou positivamente na concentração de ácidos graxos livres, além disso, a interação entre as variáveis pH e temperatura

também influenciaram positivamente os resultados obtidos. Já a interação entre as variáveis independentes temperatura e concentração de inóculo também influenciou nos valores alcançados, porém de forma negativa.

Utilizando os dados obtidos para o parâmetro ácidos graxos, elaborou-se a tabela a análise de variância (ANOVA), para confirmar a diferença estatística entre as médias (Tabela 18).

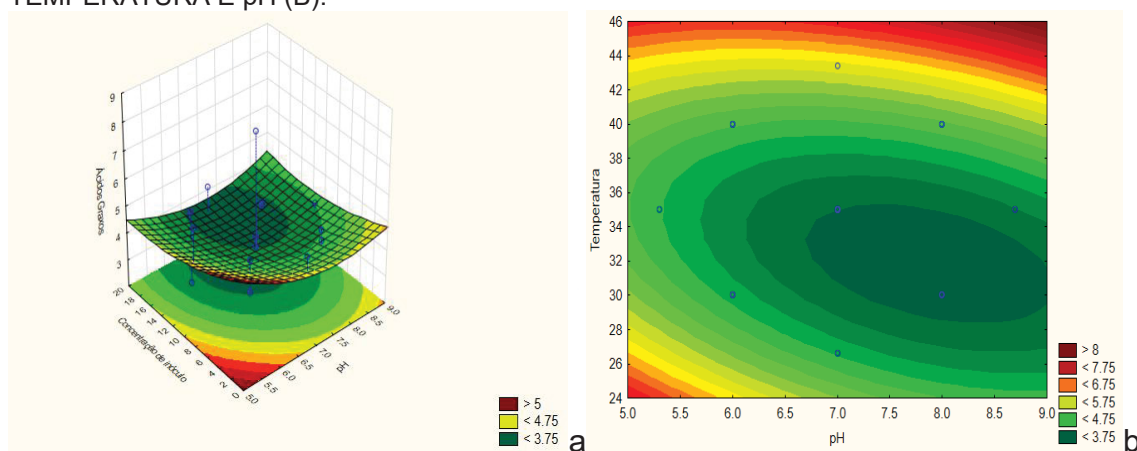
TABELA 18 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA A CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Fcal (95%)	Ftab (95%)	Fcal/Ftab
Regressão	21,30051	9	2,366723	7,79162	3,68	Fcal>Ftab
Erro	2,12657	7	0,303752			
Total	23,42678	16				

FONTE: o autor (2021).

A Tabela 18 confirma o que já havia sido observado através da Figura 7, existe diferença estatística entre os resultados obtidos, em um intervalo de confiança de 95%. Na Figura 8a, temos a representação em superfície de resposta, para a concentração de ácidos graxos livres em função da concentração de inóculo e pH, e a Figura 8b, apresenta a concentração de ácidos graxos livres em função da temperatura e pH, em forma de gráfico de contorno.

FIGURA 8 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA A CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO E pH (A). GRÁFICO DE CONTOURNO PARA CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E pH (B).



Fonte: o autor (2021).

Observa-se que os melhores resultados obtidos compreendem a faixa de pH 7 – 8, e temperaturas de 30 – 35 °C, já para a variável concentração de inóculo os melhores resultados foram obtidos em 10, 15 e 18,4% de concentração. Duarte (2013), utilizou um *pool* enzimático obtido do fungo *Penicillium simplicissimum* para realizar a hidrólise enzimática do efluente de indústria do pescado, e verificou após 4 h de tratamento a 50 °C, 4,71 e 6,6 $\mu\text{mol mL}^{-1}$ de ácidos graxos, nos seguintes valores de atividade lipolítica de 0,16 e 0,32 U mL^{-1} , respectivamente. Os valores obtidos no presente estudo em 0 h de tratamento superam os valores obtidos pelo autor citado.

Divergindo dos valores encontrados no presente estudo, Leal et al. (2006), obtiveram valores em torno de 10 $\mu\text{mol mL}^{-1}$ de ácidos graxos livres em 24 h de reação, estudando a hidrólise de efluente de laticínio utilizando a enzima lipase. Os autores primeiramente testaram diferentes temperaturas (25, 35 e 45°C) e posteriormente otimizaram o processo utilizando somente a temperatura de 35 °C. De acordo com Durli (2007), em seu estudo com a produção de ácidos graxos livres durante o tratamento enzimático de efluente de indústria de laticínios, a produção de ácidos graxos livres ocorreu somente até 16 h de tratamento, após este período houve apenas a sua redução, o autor utilizou as seguintes condições: pH 7, 30 °C e 150 rpm de agitação.

Ácidos graxos saturados são menos solúveis do que ácidos graxos insaturados, tornando-se menos acessíveis e por consequência sua degradação ocorre de forma mais lenta. Além disso a biodegradabilidade de ácidos graxos aumenta com o decréscimo do comprimento da cadeia de carbono e com o aumento do grau de insaturação das mesmas (BROOKSBANK, LATCHFORD e MUDGE, 2007; SAYGÜN, ŞAHIN-YEŞİLÇUBUK e ARAN, 2014).

5.2.5 Valores de pH obtidos no tratamento do efluente de abatedouro de peixes

Na Tabela 19 apresenta-se a matriz do delineamento experimental com valores reais, com os níveis de cada variável e os resultados obtidos para o pH, no decorrer do experimento.

TABELA 19 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL COM VALORES REAIS E RESPOSTA QUANTO AO pH.

Ensaio	Variáveis			pH		
	pH	T (°C)	Inóculo (%)	24 h	48 h	72 h
1	6,0 (-1)	30,0 (-1)	5,0 (-1)	6,33	6,66	7,55
2	6,0 (-1)	30,0 (-1)	15,0 (1)	6,31	7,28	7,41
3	6,0 (-1)	40,0 (1)	5,0 (-1)	4,65	6,42	6,16
4	6,0 (-1)	40,0 (1)	15,0 (1)	4,59	6,43	6,59
5	8,0 (1)	30,0 (-1)	5,0 (-1)	6,61	7,16	7,30
6	8,0 (1)	30,0 (-1)	15,0 (1)	6,85	7,21	7,38
7	8,0 (1)	40,0 (1)	5,0 (-1)	5,20	6,33	6,56
8	8,0 (1)	40,0 (1)	15,0 (1)	5,23	7,27	6,86
9	5,3 (-1,68)	35,0 (0)	10,0 (0)	6,15	6,42	6,49
10	8,7 (1,68)	35,0 (0)	10,0 (0)	6,98	7,15	7,13
11	7,5 (0)	26,6 (-1,68)	10,0 (0)	6,47	6,88	6,86
12	7,0 (0)	43,4 (1,68)	10,0 (0)	6,31	6,52	7,48
13	7,0 (0)	35,0 (0)	1,6 (-1,68)	6,86	7,07	7,18
14	7,0 (0)	35,0 (0)	18,4 (1,68)	6,81	6,96	7,48
15	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	6,27	6,40	6,33
16	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	6,33	6,44	6,52
17	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	6,43	6,40	6,57
18	7,0 (0)	35,0 (0)	10,0 (0)	6,44	6,42	6,40

FONTE: o autor (2021).

Observa-se que vários ensaios tiveram um pequeno decréscimo em seus valores de pH em 24 h de tratamento. No entanto, o comportamento citado não foi identificado nos ensaios 3, 4, 7 e 8 os quais obtiveram uma faixa de pH considerada ácida, sendo: 4,65; 4,59; 5,20; 5,23, respectivamente, sendo que os ensaios citados foram avaliados em temperatura de 40 °C. Este decréscimo citado, de acordo com Loperena et al. (2007), pode estar associado a liberação de íons H^+ pelas células para o meio reacional, o que contribui para a diminuição do pH.

Quando se verifica o pH em 48 e 72 h de tratamento, todos os ensaios obtiveram aumento do parâmetro avaliado, ou tiveram pequenas variações para menos. O aumento citado pode estar associado à degradação de proteínas e aminoácidos em amônia, estas presente no efluente, causando assim o aumento dos valores de pH (LOPERENA et al., 2007). Haselroth (2019), também observou em seu trabalho que em alguns ensaios em 24 h de tratamento, ocorreu o decréscimo no pH e a autora associou o decréscimo ao aumento da concentração de ácidos graxos livres formados pela hidrólise dos triglicerídeos presentes no efluente.

Sonune e Garode (2018), em seu estudo que tinha como objetivo tratar águas residuárias municipais com enzima extracelular obtida de *Bacillus licheniformis*, relataram que o pH inicial era ligeiramente ácido, porém após o período do tratamento se tornou alcalino. No entanto os valores de pH obtidos pelos autores antes e após o tratamento estavam dentro do limite permitido. Santos (2014), atribuiu a queda do pH em seus testes envolvendo o tratamento de esgotos domésticos na concentração de 5% de enzima, ao acúmulo de ácidos graxos de cadeia longa. O mesmo autor afirma que quanto maior a concentração enzimática, maior será a produção de ácidos graxos de cadeia longa, desta forma, ocasionando a diminuição do pH.

Contudo, apesar das oscilações de valores no decorrer do tratamento, os valores obtidos em 72 h permaneceram entre 5-9, como determina a Resolução CONAMA 430 (2011). Ademais, para que o efluente possa ser submetido a um tratamento posterior, o essencial é que este se encontre abaixo de 8,5, pois valores acima deste podem levar à saponificação ou emulsificação durante o tratamento (MENDES et al., 2005; ALVES et al., 2019).

6. CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos no presente estudo, verifica-se que nos testes preliminares, a bactéria *Bacillus megaterium*, demonstrou-se promissora, com valores de atividade lipolítica, DQO e O&G de 0,5417 U mL, 72,72% e 87,44%, respectivamente. Desta forma, esta apresentou potencial para a utilização como inóculo no pré-tratamento da água residuária de abatedouro de peixes.

Observando os resultados obtidos através do delineamento experimental utilizado no pré-tratamento enzimático, verificou-se que as maiores eficiências de remoções de DQO e O&G, foram alcançadas nos ensaios 10 (61,11%) e 13 (85,8%), respectivamente. No entanto se tratando de eficiência de remoção de DQO, o ensaio 13 torna-se também promissor, pois teve uma eficiência de remoção de 55,59%, utilizando condições brandas (pH 7, 35 °C e 1,6% de concentração de inóculo), o que o torna viável economicamente.

Desta forma, utilizar lipase provinda da bactéria *Bacillus megaterium*, mostra-se uma alternativa favorável no pré-tratamento de efluentes de abatedouro de peixe, apresentando significativa redução do potencial poluidor do efluente, facilitando seu tratamento posterior.

7. SUGESTÕES

A partir do presente estudo, evidencia-se a necessidade de mais pesquisas relacionadas a:

- Aprofundar estudos que analisem o metabolismo microbiano.
- Avaliar o pré-tratamento do efluente utilizando como inóculo um consórcio de bactérias produtoras de lipase.
- Encontrar o ponto de máxima remoção de DQO e O&G.
- Avaliar o pré-tratamento utilizando outros valores para os níveis das variáveis independentes, visando a maximização dos parâmetros.
- Realizar a purificação e concentração das enzimas produzidas.

REFERÊNCIAS

- AFFES, M.; ALOUI, F.; HADRICHE, F.; LOUKIL, S.; SAYADI, S. Effect of bacterial lipase on anaerobic co-digestion of slaughterhouse wastewater and grease in batch condition and continuous fixed-bed reactor. **Lipids in health and disease**, v. 16, n. 1, p. 195, 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.
- ALVES, A. M.; DE MOURA, R. B.; CARVALHO, A. K.; DE CASTRO, H. F.; ANDRADE, G. S. *Penicillium citrinum* whole-cells catalyst for the treatment of lipid-rich wastewater. **Biomass and Bioenergy**, v. 120, p. 433-438, 2019.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Standard Methods of the Examination of Water and Wastewater. 21 ed. Washington: American Public Health Association, 2005.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Standard Methods of the Examination of Water and Wastewater. 21 ed. Washington: **American Public Health Association**, 2012.
- AQUINO, R. S. D. **Análise da Disposição e Tratamento dos Efluentes de Abatedouros**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Ciência e Tecnologia). Universidade Federal Rural do Semi-Árido. p.57. Pau Dos Ferros. 2018.
- Associação Brasileira da Psicultura. **Anuário 2020 - Peixe BR da Psicultura**. 136f. Disponível em: < <https://www.peixebr.com.br/anuario-2020/> >. Acesso em: 20 de Fevereiro de 2021.
- Associação Brasileira da Psicultura. **Anuário 2021 - Peixe BR da Psicultura**. 71f. Disponível em: < <https://www.peixebr.com.br/anuario-2021/> >. Acesso em: 20 de Fevereiro de 2021.
- BASTOS, D. B. A. **Produção e Aplicação de Lipase Fúngica na Degradação do Efluente de uma Indústria de Sorvetes**. 62f. Monografia (Bacharel em Engenharia Química). Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2019.
- BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E. **Biotecnologia Industrial**. V. 1. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, 2001.
- BOSTELMANN, E. Para sólidos totais, dissolvidos e em suspensão em amostras de água. **Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (Cetesb)**, 2010.
- BOTIŞ, M. Purification of the wastewater from meat industry. **Journal on processing and Energy in Agriculture**, v. 19, n. 1, p. 21-23, 2015.

BRAHMACHARI, G. *Biotechnology of Microbial Enzymes: Production, Biocatalysis and Industrial Applications*. 1st. ed. **Chennai: Academic Press**, 2016.

BROOKSBANK, A. M.; LATCHFORD, J. W.; MUDGE, S. M. Degradation and modification of fats, oils and grease by commercial microbial supplements. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, n. 7, p. 977-985, 2007.

BUENO, P. R. M.; DE OLIVEIRA, T. F.; CALIARI, M.; CASTIGLIONI, G. L.; JÚNIOR, M. S. S. Selection and optimization of extracellular lipase production using agroindustrial waste. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 4, p. 566–573, 2014.

BUSTILLO-LECOMPTE, C.; MEHRVAR, M. Slaughterhouse wastewater: treatment, management and resource recovery. **Physico-Chemical Wastewater Treatment and Resource Recovery**. InTech, 2017.

CARDENAS, F.; ALVAREZ, E.; CASTRO-ALVAREZ, M. S.; SANCHEZ-MONTERO, J. M.; VALMASEDA, M.; ELSON, S. W.; SINISTERRA, J. V. Screening and catalytic activity in organic synthesis of novel fungal and yeast lipases. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 14, p. 111-123, 2001.

CARVALHO, P. D. O.; CALAFATTI, S. A.; MARASSI, M.; SILVA, D. M. D.; CONTESINI, F. J.; BIZACO, R.; MACEDO, G. A. Potencial de biocatálise enantiosseletiva de lipases microbianas. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 614-621, 2005.

CETESB. **Variáveis de qualidade das águas**. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, São Paulo. Disponível em: < <https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/wp-content/uploads/sites/12/2017/11/Ap%C3%AAndice-E-Significado-Ambiental-e-Sanit%C3%A1rio-das-Vari%C3%A1veis-de-Qualidade-2016.pdf>>. Acesso em: 11 abril. 2021.

CONTESINI, F. J.; LOPES, D. B.; MACEDO, G. A.; NASCIMENTO, M. G.; CARVALHO, P. O. *Aspergillus sp.* lipase: Potential biocatalyst for industrial use. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 67, n. 3-4, p. 163–171, 2010.

DAMASCENO, F. R.; CAVALCANTI-OLIVEIRA, E. D.; KOOKOS, I. K.; KOUTINAS, A. A.; CAMMAROTA, M. C.; FREIRE, D. M. Treatment of wastewater with high fat content employing an enzyme pool and biosurfactant: technical and economic feasibility. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 35, n. 2, p. 531-542, 2018.

DARVISHI, F.; DESTAIN, J.; NAHVI, I.; THONART, P.; ZARKESH-ESFAHANI, H. High-level production of extracellular lipase by *Yarrowia lipolytica* mutants from methyl oleat. **New Biotechnology**, 6(28),756-760, 2011. doi:10.1016/j.nbt.2011.02.002.

DE SENA, R.F.; MOREIRA, R.F.P.M.; JOSÉ, H.J. Comparison of coagulants and coagulation aids for treatment of meat processing wastewater by column flotation. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 17, p. 8221-8225, 2008.

DORS, G.; MENDES, A.A.; PEREIRA, E.B.; CASTRO, H.F.; FURIGO JR., A. Simultaneous Enzymatic Hydrolysis and Anaerobic Biodegradation of Lipid-rich Wastewater from Poultry Industry. **Applied Water Science**, v. 3, n. 1, p.343-349, 2013.

DORS, G.; MENDES, A.A.; PEREIRA, E.B.; CASTRO, H.F.; FURIGO JR., A. Simultaneous Enzymatic Hydrolysis and Anaerobic Biodegradation of Lipid-rich Wastewater from Poultry Industry. **Applied Water Science**, v. 3, n. 1, p.343-349, 2013.

DORS, G.; MENDES, A.A.; PEREIRA, E.B.; CASTRO, H.F.; FURIGO JR., A. Simultaneous Enzymatic Hydrolysis and Anaerobic Biodegradation of Lipid-rich Wastewater from Poultry Industry. **Applied Water Science**, v. 3, n. 1, p.343-349, 2013.

DUARTE, G. J. **Hidrólise Enzimática e Digestão Anaeróbica Termofílica de Efluente de Indústria de Pescado**. 119f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

DURLI, E. **Tratamento de efluentes de indústrias de laticínios utilizando lipases de *Burkholderia cepacia* LTEB11**. Dissertação (Mestrado em Química) – Faculdade de Química, Universidade do Estado do Paraná, Curitiba, 2007.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Caracterização da Cadeia Produtiva da Tilápia nos Principais Pólos de Produção do Brasil**. 51f. EMBRAPA Pesca e Aquicultura, Palmas. 2020.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Aquicultura: Manejo e Aproveitamento de Efluentes**. 39f. EMBRAPA Meio Ambiente. Jaguariúna. 2013.

EMBRAPA. **Pesca e Aquicultura**. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/tema-pesca-e-aquicultura/nota-tecnica>. > Acesso em: 22 de Fevereiro de 2021.

FACCHIN, S. **Isolamento de Microrganismos e Seleção de Enzimas Microbianas com Aplicações Biotecnológicas no Tratamento de Esgotos**. 87f. Tese (Doutorado em Genética). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

FEISTEL, J. C. **Tratamento e destinação de resíduos e efluentes de matadouros e abatedouros**. 37 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás – UFG, Goiânia, 2011.

FILHO, A. S. **Tratamento Terciário de Efluente de uma Indústria de Refrigerantes Visando ao Reuso - Um Estudo de Caso**. 112f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

FREIRE, D. M. G.; GOMES, P. M.; BON, E. P. S.; LIPPEL SAN'T ANNA Jr., G. L. Lipase production by a new promising strain *Penicillium restrictum*. **Revista de Microbiologia**, v. 28, n. 1, p. 6-12, 1997.

FREIRE, H.P.; SANTOS, M. Bioquímica para estudantes das áreas de Ciências Biológicas e da Saúde. **Passos: EDIFESP**, 156 p. 2019.

FREITAS, E. M. D.; BARBOSA, J. D. S. B. **Pré operação de reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) no tratamento de esgoto de indústria pesqueira**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Sanitária) – Centro Tecnológico, Universidade Federal do Pará, Belém, 2007.

GARRIDO, J. V. M. L.; BISPO, D. F.; SILVA, C. F. Isolamento e Seleção de Microrganismos Produtores de Lipase e Otimização da Produção Enzimática. **Scientia Plena**. Vol. 14, n. 6. 2018.

GHAEDI, M.; AZAD, F. N.; DASHTIAN, K.; HAJATI, S.; GOUDARZI, A.; OYLAK, M. Central composite design and genetic algorithm applied for the optimization of ultrasonic-assisted removal of malachite green by ZnO nanorod-loaded activated carbon. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 167, p. 157-164, 2016.

GILHAM, D.; LEHNER, R. Techniques to measure lipase and esterase activity in vitro. **Methods**, v. 36, p. 139-147, 2005.

GOMES, L. D. M. **Tratamento de Efluente da Piscicultura Utilizando os Processos Fenton e Eletroquímico: Eficiência e Toxicidade**. 118f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Federal do Alagoas. Maceió, 2016.

GONÇALVES, F. A. G. **Produção de lipase extracelular por leveduras de cultivo submerso**. 2007. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

GOTOR-FERNÁNDEZ, V.; BRIEVA, R.; GOTOR, V. Lipases: Useful biocatalysts for the preparation of pharmaceuticals. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 40, n. 3–4, p. 111–120, 2006.

GOUVEIA, J. G. **Bacillus spp. Produtoras de Biofloculantes e Hidrolases Extracelular, entre Estirpes de Solo/Lodo que Sintetizam Polihidroxialcanoatos e/ou Surfactantes**. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal de Alagoas. Maceió, 2017.

GUPTA, R.; GUPTA, N.; RATHI, P. Bacterial lipases: An overview of production, purification and biochemical properties. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 64, n. 6, p. 763–781, 2004.

HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S. L. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. **Mycologia**, v. 67, p. 597-607, 1975.

HANKIN, L.; ZUCKER, M.; SANDS, D. C. Improved solid medium for the detection and enumeration of pectolytic bacteria. **Applied Microbiology**, v. 22, p. 205-209, 1971.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 39, p. 235-251, 2006.

HASELROTH, K. J. **Biodegradação de Efluente de Abatedouro Bovino por meio de Microrganismos com Atividade Lipolítica**. 107f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal do Paraná, 2019.

HOUDE, A.; KADEMI, A.; LEBLANC, D. Lipases and Their Industrial Applications: An Overview. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, ILLANES, A. Enzyme Biocatalysis: Principles and Applications. 1. ed. Chile: **Springer Science & Business Media**, 2008.

INSTITUTO TERRA E ÁGUA. PORTARIA N° 29 DE 06/02/2018: **Estabelece critérios para o Licenciamento Ambiental de empreendimentos de bovinocultura confinada e semiconfinada de leite e de bovinocultura confinada de corte, com aproveitamento econômico, nos termos que especifica**. Paraná: IAT, 2018.

JAVED, S. et al. Bacterial lipases: A review on purification and characterization. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, 2017.

JAVED, S.; AZEEM, F.; HUSSAIN, S.; RASUL, I.; SIDDIQUE, M. H.; RIAZ, M.; AFZAL, M.; Kouser, A.; NADEEM, H. Bacterial lipases: a review on purification and characterization. **Progress in biophysics and molecular biology**, v. 132, p. 23-34, 2018.

JEGANATHAN, J.; NAKHLA, G.; BASSI, A. Oily wastewater treatment using a novel hybrid PBR-UASB system, **Chemosphere**, v. 67, n. 8, p. 1492-1501, 2007.

JOHNSON, E. A. Biotechnology of non-*Saccharomyces* yeasts—the basidiomycetes. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 97, n. 17, p. 7563-7577, 2013.

JUNG, F.; CAMMAROTA, M.C.; FREIRE, D.M.G. Impact of enzymatic prehydrolysis on batch activated sludge systems dealing with oily wastewaters. **Biotechnol. Letters**. v.24, p.1797-1802, 2002.

JUNIOR, O. S. D. S.; CARVALHO, S. D. L.; RAGASSI, B. Avaliação da temperatura, turbidez, e pH no Córrego das Marrecas - SP. **ANAP Brasil Revista Científica**. v.12, n.24. 2019.

JUNQUEIRA, W. B. D. C.; CAMPOS, C. M. M.; FIA, F. R. L.; AMORIM, F. Estudos hidrodinâmicos do Escoamento em Caixa de Gordura Empregada no Tratamento Preliminar dos Efluentes de Cozinha Industrial. **Eng. Sanit. Ambient.** vol.22 no.5 Rio de Janeiro Sept./Oct. 2017.

KANMANI, P.; ARAVIND, J.; KUMARESAN, K. An insight into microbial lipases and their environmental facet. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 12, n. 3, p. 1147-1162, 2015.

KOOLMAN, J.; ROEHM, K-H. **Color Atlas of Biochemistry**. 2 ed. Nova York: Thieme, 2005.

KRISHNAN, N.; VALSA, A. K. Biodegradation of lipid rich dairy effluent by bacterial consortium. **IOSR J of Environ Sci Toxicol and Food Technol**, v. 9, n. 9, p. 16-20, 2015.

LAMA, D. M. F. **Aproveitamento da Água Residual do Processamento de Pescado em Irrigação**. Dissertação (Mestre em Ciências). 126f. Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2018.

LEAL, M.C.C.R.; FREIRE, D.M.G.; CAMMAROTA, M.C.; SANT'ANA, G.L., JR. Effect of enzymatic hydrolysis on anaerobic treatment of dairy wastewater. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 5, p. 1173-1178, 2006.

LEHNINGER, A. L. **Lehninger: Princípios de Bioquímica**. 3ª edição. São Paulo. CLR Balieiro Editores. 2002.

LI, N.; ZONG, M. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic Lipases from the genus *Penicillium*: Production, purification, characterization and applications. **Journal of Molecular Catalysis. B, Enzymatic**, v. 66, n. 1-2, p. 43–54, 2010.

LIMA, D. G. M. V. **Produção e Purificação da Lipase de *Bacillus megaterium* e sua Aplicação em Biocatálise em Solvente Orgânicos**. 164f. Tese (Doutorado em Bioquímica). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

LIMA, V. D. O.; PRATES, K. V. M. C.; FAZOLO, A. Avaliação da Eficiência de Bactérias Lipolíticas e de Lipase Suína no Pré-Tratamento de Efluente de Curtume. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 8, n. 4, p. 131-151, out/dez. 2019.

LIMA, V. M. G. D. **Produção e Purificação da Lipase de *Bacillus megaterium* e sua Aplicação em Biocatálise em Solventes Orgânicos**. 164f. Tese (Doutorado em Bioquímica). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

LIMA, V. O. **Pré-tratamento de efluente de curtume por bactérias e enzima lipolíticas**. 90 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2015.

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.

LOPERENA, L.; FERRARI, M. D.; SARAIVA, V.; MURRO, D.; LIMA, C.; FERNÁNDEZ, A.; LAREO, C. Performance of a commercial inoculum for the aerobic biodegradation of a high fat content dairy wastewater. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 5, p. 1045-1051, 2007.

LUZ, B. D. D. S. **Produção de Lipases Visando-se Aplicações Industriais Empregando-se Microrganismos Selecionados na Bioprospecção Realizada no Parque Estadual Serra do Ouro Branco/MG**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal de São João Del-Rei Campus Alto Paraopeba. Ouro Branco. 2014.

MARQUES, T. C.; GOLUNSKI, M. S.; MULINARI, J.; SBARDELOTTO, M.; CAMARGO, F. A.; ROSA, D. C.; VENTURIN, B. AGNOL, D. A.; BALDISSARELI, P. D.; VARGAS, P.L.D.G.; MOSSI, A.; TREICHEL, H. Avaliação do Efeito do Ultrassom na Atividade da Enzima Lipase e Aplicação no Tratamento de Efluentes de Laticínios. **XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática - Enzitec 2016**. Caxias do Sul, 2016.

MC CABE, B. K.; HAMAWAND, I.; HARRIS, P.; BAILLIE, C.; YUSAF, T. A case study for biogas generation from covered anaerobic ponds treating abattoir wastewater: Investigation of pond performance and potential biogas production. **Applied Energy**, v. 114, p. 798–808, fev. 2014.

MEDEIROS, G. A.; GONÇALVES, S. B.; RODRIGUES, D. S.; NETO, B. A. Enzimas e Líquidos Lônicos: Uma combinação promissora para um biodiesel limpo. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 1, p. 74–94, 2013.

MENDES, A. A.; CASTRO, H. D. F.; PEREIRA, E. B.; JÚNIOR, A. F. Aplicação de Lipases no Tratamento de Águas Residuárias com Elevados Teores de Lipídeos. **Química Nova**, Vol. 28, nº 2, 296-305, 2005.

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

MENDES, A. A.; PEREIRA, E. B.; CASTRO, H. F. DE. Biodegradação de águas residuárias de laticínios previamente tratadas por lipases. **Braz. J. Food Technol.**, v. 9, n. 2, p. 143–149, 2006.

MENG, Y.; LI, S.; YUAN, H.; ZOU, D.; LIU, Y.; ZHU, B.; LI, X. Effect of lipase addition on hydrolysis and biomethane production of chinese food waste. **Bioresource Technology** (179), 452-459, 2015. doi: org/10.1016/j.biortech.2014.12.015.

MESSIAS, J. M.; DA COSTA, B. Z.; LIMA, V. M. G.; GIESE, E. C.; DEKKER, R. F. H.; BARBOSA, A. M. Lipases microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 213–234, 2011.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: treatment, disposal, reuse**. 4. ed. New York: McGraw Hill. 1848p. (2003).

MILANEZ A.Y.; GUIMARÃES D.D.; MAIA G.B.S.; MUÑOZ A.E.P.; PEDROZA FILHO M.X. **Potencial e barreiras para a exportação de carne de tilápias pelo Brasil**. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, v. 25, n. 49, p. 155-213. 2019.

MITTAL, G. S. Treatment of wastewater from abattoirs before land application—a review. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 9, p. 1119-1135, 2006.

MOHAMED, S. A.; ABDEL-MAGEED, H. M.; TAYEL, S. A.; EL-NABRAWI, M. A.; FAHMY, A. S. Characterization of *Mucor racemosus* lipase with potential application for the treatment of cellulite. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 3, p. 642–648, 2011.

MORITZ, F. **Produção de Biogás a partir de Resíduos de Frigorífico de Peixes**. Trabalho de Conclusão de curso (Engenharia Ambiental). 71f. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira. 2017.

MOURA, J. D. D. **Uso de Lipase Fúngica na Remoção de O&G em Efluentes Lácteos**. 28f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais). Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, Toledo, 2020.

MURAKAMI, T. T. K. **Avaliação do Consumo de Água e da Geração de Efluentes em uma Indústria de Processamento de Tilápias**. Tese de Doutorado (Doutor em Ciência Animal). 126f. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Araçatuba, 2018.

NELSON, D.L.; COX, M. **Lehninger- Principios de Bioquímica**. Porto Alegre: Artmed. 5a edição, 1273 p.2011.

OLIVEIRA, D. C.F.; ALBERGARIA, F. C. VENÂNCIO; A. H. GOMES; FREITAS R. T. F. D. **Reaproveitamento de Resíduos na Cadeia Agroindustrial do Pescado: uma Revisão**. 20f. Congresso Internacional da Agroindústria, Inovação, Gestão e Sustentabilidade na Agroindústria, Ciagro. Recife, Pernambuco, 2021.

PADILLA, P. J. C.; TABAREZ, R. M.; ORDUZ, S. ATIVIDADE Lipolítica dos Microrganismos Isolados de Águas Residuais Contaminado com Gorduras. **Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial**. v. 15 n. 1, p. 36-44, Enero _ Junio, 2017.

PANDEY, K.; SINGH, B.; PANDEY, A. K.; BADRUDDIN, I. J.; PANDEY, S.; MISHRA, V. K.; JAIN, P. A. Application of microbial enzymes in industrial

wastewater treatment. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.**, v. 6, n. 8, p. 1243-1254, 2017.

PEDROZA M. X. F.; ROUTLEDGE E. A. B. **Intensificação Produtiva da Aquicultura Brasileira e Novas Demandas Tecnológicas**. Nota técnica AGROPENSA/EMBRAPA. Palmas: EMBRAPA, 2016.

PELIZER, L. H.; PONTIERI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto. **Journal of Technology Management & Innovation**, v. 2, n. 1, p. 118–127, 2007.

PEREIRA, M.A.; PIRES, O.C.; MOTA, M.; ALVES, M.M. Anaerobic biodegradation of oleic and palmitic acids: evidence of mass transfer limitations caused by long chain fatty acid accumulation onto the anaerobic sludge. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 92, n. 1, p. 15-23, 2005.

PORTA, M. G. D. **Avaliação da eletrocoagulação no tratamento de efluentes líquidos da indústria de processamento de pescado**. Florianópolis-SC. UFSC. 2016, 89 p. Dissertação (Mestrado).

QUEIROZ, J. F. de; SILVEIRA, M. P. **Recomendações práticas para melhorar a qualidade da água e dos efluentes dos viveiros de aquicultura**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006. 14 p. il. (Embrapa Meio Ambiente. Circular Técnica, 12).

RAY, R. C.; ROSELL, C. M. Lipase: Properties, Functions and Food Applications. **Microbial Enzyme Technology in Food Application**, p. 228-254, 2017.

ROCHA, C. M. G.; RESENDE, E. K.; ROUTTLEDGE, A. B.; LUNDSTEDT, L. M. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 48, n. 8, 2013.

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.

ROSA, D. R. **Tratamento enzimático/biológico de efluentes com alto teor de gordura**. 2004. 107 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

ROVEDA, M.; HEMKEMEIER, M.; COLLA, L. M. Avaliação da produção de lipases por diferentes cepas de microrganismos isolados em efluentes de laticínios por fermentação submersa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 126-131, 2010.

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.

SANTOS, A. V. **Remoção, Tratamento e Valoração de Escuma Proveniente de Reator UASB Aplicadas ao Tratamento de Esgoto Doméstico**. 134f. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2014.

SANTOS, V. A. **Remoção, Tratamento e Valoração de Escuma Proveniente de Reator UASB Aplicados ao Tratamento de Esgoto Doméstico**. 134f. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

SARMAH, N.; REVATHI, D.; SHEELU, G.; YAMUNA RANI, K.; SRIDHAR, S.; MEHTAB, V.; SUMANA, C. Recent advances on sources and industrial applications of lipases. **Biotechnology Progress**, v. 34, n. 1, p. 5-28, 2018.

SAYGÜN, A.; ŞAHİN-YEŞİLÇUBUK, N.; ARAN, N. Effects of different oil sources and residues on biomass and metabolite production by *Yarrowia lipolytica* YB 423-12. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, n. 9, p. 1521-1530, 2014.

SENAR, Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. **Psicultura: fundamentos da produção de peixes**. 68f. Disponível em: < <https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/195-PISCICULTURA.pdf> > Acesso em 25 de Fevereiro de 2021.

SHUKLA, B.N. DESAI, P.V. Isolation, characterization and optimization of lipase producing *Pseudomonas spp.* from oil contaminated sites. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, n.5, p.902-909, 2016.

SILVA, D. A.; SANTOS, A. A.; BETTENCOURT, G. M.; ZANDONÁ FILHO, A.; RODRIGUES, M. L. F. **Aplicação de lipases fúngicas para a redução de óleos e graxas de efluentes de um abatedouro da região metropolitana de Curitiba**. Monografia (Tecnólogo em Bioprocessos e Biotecnologia). Universidade Tuiuti do Paraná. Curitiba, 2016.

SILVA, R. K. P. D. **Produção de Lipase por Candida tropicalis URM 7057 Utilizando Biorreator Tanque Agitado**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). 109f. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 2019.

SILVA, S. S. **Produção, Caracterização e Aplicação de Lipase de Aspergillus niger ATCC 1004 Produzida a partir de Óleo de Soja**. 65f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Jequié, 2017.

SILVA, T. C. D. **Tratamento de Efluente Oleoso de Biodiesel por Extrato Bruto de Lipase Fúngica**. 106f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

SILVEIRA, E. A.; TARDIOLI, P. W.; FARINAS, C. S. Valorization of Palm Oil Industrial Waste as Feedstock for Lipase Production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, p. 558–571, 2016.

SONE, A. P. **Tecnologia Alternativa para Tratamento de Efluente Proveniente de Frigorífico de Peixes**. 77f. Dissertação (Mestre em Engenharia Química). Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Toledo, 2013.

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.

TZIRITA, M.; PAPANIKOLAOU, S.; QUILTY, B. Enhanced fat degradation following the addition of a *Pseudomonas* species to a bioaugmentation product used in grease traps. **Journal of Environmental Sciences**, v. 77, p. 174-188, 2019.

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. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 483–488, 2010.

VERMA, S.; SAXENA, J.; PRASANNA, R.; SHARMA, V.; NAIN, L. Medium optimization for a novel crude-oil degrading lipase from *Pseudomonas aeruginosa* SL-72 using statistical approaches for bioremediation of crude-oil. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 1, n. 4, p. 321-329, 2012.

VON SPERLING, M. Introdução à qualidade de águas e ao tratamento de esgotos. 2 ed. **Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais**. 2005.

WENZEL, J. B.; MORESCO, A. A. A.; BOAS, E. V.; BURIN, F. A. G.; SOUZA, R. O. Atividade enzimática e antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de soja. **Perspectivas online, Ciências biológicas da saúde**, v. 9, n. 3, p. 1–15, 2013.

ZHANG, R.; ZHAO, L.; LIU, R. Deciphering the toxicity of bisphenol a to *Candida rugosa* alipase through spectrophotometric methods. **Journal of Photochemistry & Photobiology** (2016) pp. 40-46.