



UNISUL

UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA

PAULA ASSUNÇÃO

**USO DE BIOADITIVO NA REDUÇÃO DE ÓLEOS E GRAXAS EM EFLUENTE DE
CAIXA DE GORDURA**

Palhoça

2019

PAULA ASSUNÇÃO

**USO DE BIOADITIVO NA REDUÇÃO DE ÓLEOS E GRAXAS EM EFLUENTE DE
CAIXA DE GORDURA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade do Sul de Santa Catarina como requisito parcial à obtenção do título de bacharel.

Orientadora: Prof.^a Elisa Helena Siegel Moecke, Dra.

Palhoça

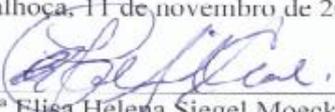
2019

PAULA ASSUNÇÃO

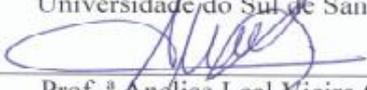
**USO DE BIOADITIVO NA REDUÇÃO DE ÓLEOS E GRAXAS EM EFLUENTE DE
CAIXA DE GORDURA**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado à obtenção do título de Engenheiro Ambiental e Sanitarista e aprovado em sua forma final pelo Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade do Sul de Santa Catarina.

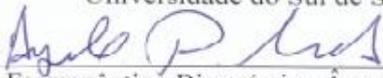
Palhoça, 11 de novembro de 2019.



Prof.^a Elisa Helena Siegel Moecke, Dra.
Universidade do Sul de Santa Catarina



Prof.^a Anelise Leal Vieira Cuba, Dra.
Universidade do Sul de Santa Catarina



Farmacêutico Bioquímico Angelo Paggi Matos, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico este trabalho a minha família e principalmente a minha mãe, que não mediram esforços e muito contribuíram para que eu chegasse até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me acompanha e me permiti viver há cada dia, nos momentos de dificuldade foi a ele que pedi forças para continuar.

A minha família, minha mãe Rosiléia Nunes, meu pai Paulo César Assunção, minhas irmãs Franciny e Maria Antônia Assunção, minha vó Olindina Assunção que rezava todos os dias pedindo proteção e me alegrava todas noites após um dia exaustivo.

Ao meu ex-namorado, André Luís Rodrigues que sempre acreditou no meu potencial, esteve ao meu lado suportando meus momentos de stress, aliviando minhas tensões e me dando força para não desistir, sem ele não chegaria até aqui, a minha ex-sogra Auzelinda Gonçalves que sempre me ajudou em tudo que eu necessitava e sempre me incentivava a continuar.

Aos colegas de faculdade, pelas grupos de estudos e parcerias nos trabalhos, ao técnico de laboratório e amigo Rodrigo Wheeler que me deu todo o suporte e segurança durante as análises físico-químicas, a todos os meus grandes amigos que entenderam e me acompanharam nessa caminhada me ajudando e enviando energias positivas durante todo o percurso, um agradecimento todo especial a minha grande amiga Salete Andriolli que foi a primeira pessoa que acreditou em mim, me apresentou o caminho para seguir o ramo da engenharia Ambiental e Sanitária e nas primeiras dificuldades me ajudou e fez com que eu continuasse em frente.

Aos meus queridos professores desta instituição, meu muito obrigada a cada um de vocês por todo o ensinamento, dedicação e paciência, sem vocês eu não aprenderia a amar a profissão que escolhi, um agradecimento especial a minha professora e orientadora Elisa Moecke, que me deu todo o suporte técnico e emocional para finalização desse trabalho, em todos os encontros me fazia lembrar que eu era capaz de fazer o melhor.

Agradeço aos meus colegas de profissão que tive a honra de trabalhar, Estevan Pchara, Katia Rodrigues e Francisco Pchara, vocês me ensinaram tudo que sei até hoje, sou muito grata pela carga de experiência adquirida durante o tempo que trabalhei ao lado de vocês.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui, não foi um caminho fácil, mas com a ajuda de todos os envolvidos eu me senti segura e consegui alcançar meu principal objetivo.

“O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos dia após dia.” (R. Collier)

RESUMO

O elevado teor de óleos e graxas muitas vezes inseridos sem tratamento prévio nas estações de tratamento de efluente e corpos hídricos acarreta graves danos nos processos de tratamento e no meio ambiente. A instalação e funcionalidade de uma caixa de gordura tem extrema importância para diminuir e até mesmo sanar com essa problemática. Muitas residências e principalmente estabelecimentos alimentícios não conseguem fazer a devida manutenção em suas caixas de gordura, a falta de manutenção acarreta problemas como mal odores e põe em discussão a reputação do estabelecimento. Para ajudar e contribuir no bom funcionamento de uma caixa de gordura pode-se contar com o auxílio de microrganismos principalmente bactérias que compõem um bioaditivo que é considerado uma biotecnologia capaz de auxiliar no pré-tratamento biológico, se inserido controladamente são capazes de degradar a matéria orgânica e assim evitando que altos índices de óleos e graxas cheguem as estações de tratamento e corpos hídricos. Este trabalho objetivou a verificação da eficiência e capacidade de degradação de óleos e graxas proveniente da caixa de gordura de um restaurante localizado no município de Santo Amaro da Imperatriz-SC. O efluente é composto por uma alta carga orgânica que serviu de substrato para os microrganismos desenvolverem suas atividades enzimáticas. Os experimentos foram realizados em laboratório em testes de bancada, onde, os microrganismos foram submetidos a variação de temperatura (entre 10 e 29 °C), de tempo (entre 48 e 96 horas) e de concentração do bioaditivo (entre 0,83 e 6,66 g/L). Os melhores resultados obtidos ocorreram quando os microrganismos foram submetidos a uma faixa de temperatura mais elevada (entre 26 °C e 29 °C), no tempo de reação de 96 horas e utilizando uma concentração de 1,73 g/L do bioaditivo, nestas condições foi observado a degradação de 94,6% dos óleos e graxas em relação ao efluente bruto, O bioaditivo testado mostrou-se capaz de atuar em temperaturas altas e baixas, podendo ser inseridos nas caixas de gordura afim de ajudar no pré-tratamento.

Palavras-chave: Restaurante. Caixa de Gordura. Óleos e Graxas. Bioaditivo.

ABSTRACT

The high content of oils and greases inserted without previous treatment in the effluent and water treatment plants may cause serious damage to the treatment processes and the environment. The installation and functionality of a fat box is very important to reduce and even remedy this problem. Several homes and especially food establishments fail to properly maintain their fat boxes, lack of maintenance causes problems such as bad odors and the reputation of the establishment is questioned. To help and contribute to the proper functioning of a fat box one can count on the help of microorganisms mainly bacteria, the bio additive. It is considered a biotechnology capable of assisting in biological pretreatment, if inserted in a controlled manner they are capable of degrading organic matter and thus preventing high levels of oils and greases from reaching treatment plants and water bodies. This work aimed to verify the efficiency and degradation capacity of oils and greases present in the fat box of a restaurant located in the center of Santo Amaro da Imperatriz- SC. The effluent is composed of high organic content that served as substrate for microorganisms to develop their enzymatic activities. The experiments were carried out in laboratory in bench tests, where the microorganisms were subjected to temperature variation (between 10 and 29 ° C), time (between 48 and 96 hours) and bioadditive concentration (between 0.83 and 6.66 g / l). The best results obtained during the experiments were when the microorganisms were subjected to a higher temperature range (between 26 °C and 29 °C), at a reaction time of 96 hours and using a concentration of 1.73 g / L of bioadditive, under these conditions, 94.6% degradation of oils and greases was observed in relation to the raw effluent. The bioadditive tested was able to act at high and low temperatures and could be inserted in the fat boxes in order to help in the pretreatment.

Keywords: Restaurant. Fat box. Oils and Greases. Bio additive.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Caixa de gordura simples (imagem 1) e Caixa de gordura dupla (imagem 2).....	21
Figura 2: Colônias de <i>Bacillus subtilis</i>	26
Figura 3: <i>Bacillus</i> gram positivo na forma de bastão.	27
Figura 4: <i>Bacillus licheniformis</i>	27
Figura 5: <i>Bacillus amyloliquefaceans</i>	27
Figura 6: <i>Bacillus polymyxa</i>	28
Figura 7: <i>Pseudomonas fluorescens</i>	29
Figura 8: Colônias bacterianas em placa com nutrientes PCA (A) e PDA (B).	32
Figura 9: Fluxograma dos experimentos realizados com o bioaditivo.....	33
Figura 10: Degradação de óleos e graxas na presença do bioaditivo com temperatura $11,5 \pm 1,5$ °C e variando o tempo.	40
Figura 11: Redução da $DBO_{5,20}$ variando o tempo e temperatura ($27,2 \pm 1,5$ °C).	42
Figura 12: Degradação dos óleos e graxas variando o tempo e Temperatura ($27,2 \pm 1,5$ °C).	42
Figura 13: Degradação dos óleos e graxas variando a concentração do composto bioativo....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Níveis de óleos e graxas residuais (mg/L) em diferentes efluentes.....	16
Tabela 2: Parâmetros de dimensionamento de uma caixa de gordura.....	18
Tabela 3: Resultados das análises físico-químicas de caracterização do efluente bruto da caixa de gordura (peneirado).....	39
Tabela 4: Resultados das análises físico-químicas para avaliar a degradação da matéria orgânica na presença do bioaditivo com temperatura $11,5 \pm 1,5$ °C e variando o tempo.....	40
Tabela 5: Resultados das análises físico-químicas para avaliar a degradação da matéria orgânica na presença do bioaditivo com temperatura $27,2 \pm 1,5$ °C e variando o tempo.....	41
Tabela 6: Resultados das análises físico-químicas para avaliar a degradação da matéria orgânica na presença do bioaditivo com temperatura ($26 \pm 1,6$ °C) e variando a concentração, em 48h.	43
Tabela 7: Redução de $DBO_{5,20}$ nas diferentes concentrações do Bioaditivo.	44
Tabela 8: Degradação dos óleos e graxas nas diferentes concentrações do Bioaditivo.....	44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1 JUSTIFICATIVA	12
1.2 OBJETIVOS	13
1.2.1 Objetivo Geral	13
1.2.2 Objetivos Específicos.....	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 RAMO ALIMENTÍCIO NO BRASIL	15
2.2 CARACTERÍSTICAS DOS RESÍDUOS GERADOS EM RESTAURANTE.....	16
2.3 CAIXA DE GORDURA.....	17
2.4 DIMENSIONAMENTO DA CAIXA DE GORDURA	18
2.5 MANUTENÇÃO DA CAIXA DE GORDURA.....	22
2.6 POTENCIAL MICROBIANO.....	22
2.7 BIOTECNOLOGIA	23
2.7.1 Impacto da Biotecnologia	24
2.8 BIOADITIVOS COMERCIAIS	25
3. MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1 EQUIPAMENTOS	30
3.2 VIDRARIAS E UTENSÍLIOS	30
3.3 REAGENTES	30
3.4 COLETA DO EFLUENTE.....	31
3.5 PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE.....	31
3.6 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS	32
3.7 ENSAIO COM BIOADITIVO	32
3.7.1 Variação da temperatura e tempo	34
3.7.2 Variação da concentração	34
3.8 ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS E BIOLÓGICOS	34
3.8.1 Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO_{5,20})	34
3.8.2 Determinação do Potencial Hidrogeniônico (pH)	35
3.8.3 Determinação dos Sólidos Totais (ST).....	35
3.8.4 Determinação dos Óleos e Graxas (OG)	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	39
4.1 ENSAIOS LABORATORIAIS	39

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	47
REFERÊNCIAS	48

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Associação Brasileira de indústrias de Alimentação (ABIA, 2019), o ramo alimentício cresce continuamente à inauguração de bares e restaurantes, principalmente nas capitais movimentando R\$ 255,6 bilhões no Brasil.

A matéria orgânica resultante do processo produtivo do varejo alimentar são óleos, gorduras e graxas que ao caírem na rede coletora, interferem diretamente na eficiência das estações de tratamento de esgoto, esses resíduos altamente gordurosos ao chegarem nas estações de tratamento, prejudicam o tratamento primário podendo também dificultar o tratamento biológico (secundário). Em temperaturas mais baixas (15°C), a gordura tende a se solidificar, provocando entupimentos e extravasamentos na rede coletora (MOGAMI, 2017).

As caixas de gorduras de bares e restaurantes tem uma grande contribuição nessa problemática. Muitos restaurantes não fazem a manutenção adequada de suas caixas de gordura, e com isso geram problemas de excesso de óleos, gorduras e graxas refletindo diretamente nas condições de higiene do estabelecimento e nas redes coletoras de esgoto.

A matéria orgânica resultante da caixa de gordura pode servir de substrato para diversos microrganismos existentes na natureza, esses microrganismos quando inseridos no tratamento de efluentes são capazes de fazer a biodegradação dessa matéria e assim, reduzindo parcialmente ou totalmente a quantidade de óleos, gorduras e graxas gerados pelas atividades exercidas por esses estabelecimentos alimentícios.

A utilização da biotecnologia para redução da matéria orgânica contida nas caixas de gordura é uma proposta a ser aplicada nos restaurantes, pois, os microrganismos degradam a matéria orgânica, ajudando a manter a eficiência da caixa de gordura e diminuindo os riscos de se serem lançados nas redes coletoras efluentes com altos níveis de óleos e graxas.

1.1 JUSTIFICATIVA

Segundo Mogami (2017), diversas campanhas têm sido realizadas para conscientizar a população sobre o correto descarte do óleo de cozinha e o quão prejudicial o óleo é ao solo e ao corpo hídrico, pois com 1 litro de óleo é possível contaminar 25 mil litros de água.

Além da contaminação da água, o descarte impróprio do óleo ou o baixo funcionamento de uma caixa de gordura pode acarretar problemas como entupimentos e

extravasamentos nas redes coletoras de esgoto, ocasionando assim, prejuízos para as empresas de saneamento.

Devido a essas questões, pretende-se apresentar uma tecnologia de tratamento dos efluentes gordurosos com o uso de bactérias capazes de decompor a matéria orgânica gerada no processo produtivo de bares e restaurantes trazendo benefícios não somente ao o meio ambiente, mas também para o estabelecimento comercial, pois muitos estabelecimentos sofrem com mal odor de suas caixas de gordura, fator esse que coloca em dúvida a qualidade e higiene do estabelecimento.

Na alta temporada, as capitais litorâneas recebem muitos turistas aumentando conseqüentemente o movimento dos estabelecimentos alimentícios, esse aumento implica com o funcionamento da caixa de gordura pois muitas vezes elas são projetadas para uma média de refeição diária que se excede durante a alta temporada.

A aplicação da biotecnologia apresentada nesse trabalho, é uma alternativa viável que tem o intuito de auxiliar no bom funcionamento das caixas de gordura, evitando transbordamentos, mal cheiro e diminuindo a frequência de limpeza nos períodos de grande fluxo de clientes, especialmente durante o período de alta temporada. Os microrganismos inseridos têm capacidade de produzir lipase, assim, conseguem degradar o material gorduroso (óleos e graxas) que são os resíduos de mais difícil degradação e de maior volume gerados nos estabelecimentos alimentícios.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficiência de um bioaditivo na redução de óleos e graxas no efluente proveniente da caixa de gordura de um restaurante.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Utilizar um bioaditivo comercial à base de microrganismos para degradação de óleos e graxas.
- Avaliar a concentração do bioaditivo no processo de redução de óleos e graxas.
- Avaliar o tempo de reação do bioaditivo na redução de óleos e graxas.

- Avaliar a influência da temperatura no processo de redução dos óleos e graxas com a adição do bioaditivo.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Serão apresentados neste capítulo alguns aspectos relacionados a caixa de gordura e microrganismos que são utilizados como biotecnologia na degradação de óleos e graxas presentes em efluentes de caixa de gordura.

2.1 RAMO ALIMENTÍCIO NO BRASIL

De acordo com a pesquisa de monitoramento do *foodservice* brasileiro CREST® realizada em 2019 pela GS&NPD no Brasil, o ramo alimentício é um dos setores mais relevantes do país, com faturamento de R\$ 230 bilhões, com mais de 14 bilhões de clientes aos restaurantes em 2018, apresentando um crescimento de 34% dos gastos com alimentos das famílias brasileiras, crescendo em 5% o gasto com alimentação fora do lar, favorecendo especialmente as refeições realizadas em dias úteis, onde os trabalhadores estão fora de casa. Segundo a pesquisa, os dias úteis (segunda a sexta) representam 70% das refeições consumidas fora do lar. O ramo alimentício é um dos principais indicadores da economia englobando quatro variantes econômicas: emprego, massa salarial, disponibilidade de renda (inflação) e confiança do consumidor.

Os restaurantes e bares precisam ser planejados para atender confortavelmente seus clientes. A divisão da área precisa respeitar três ambientes: salão de refeições, cozinha e depósito, além de espaços como sanitários feminino e masculino; banheiros e vestiários (separados do público) para funcionários; e área de armazenamento de lixo (SEBRAE, 2016).

Dentre os inúmeros tipos de estabelecimentos alimentícios, podemos encontrar: restaurantes de auto-estrada, lanchonetes, doçarias, restaurantes a lá carte, restaurantes tradicionais de auto-serviço, entre outros (LIPPEL, 2002).

Os restaurantes tradicionais oferecem um auto-serviço, onde os clientes escolhem e servem-se de acordo com sua alimentação, proporcionando um baixo custo e rápido atendimento. Esses restaurantes atendem um público que trabalha de forma exaustiva não tendo tempo de ir as suas residências para almoçar ou até mesmo preparar e levar suas próprias refeições ao local de trabalho. Desse modo, esses estabelecimentos foram criados para atender as necessidades cotidianas dos consumidores, variando os cardápios (disponibilizando uma variedade de pratos no buffet), oferecendo um preço mais acessível e facilitando o dia-a-dia de seus consumidores (LIPPEL, 2002).

2.2 CARACTERÍSTICAS DOS RESÍDUOS GERADOS EM RESTAURANTE

De acordo com a NBR 7229 (1993), um restaurante e similares gera em média um volume de 25 litros por pessoa por dia de efluente. Os efluentes gerados nas cozinhas industriais geralmente são compostos de carboidratos, proteínas e material gorduroso (óleos e graxas) originados da preparação e manipulação dos alimentos e constituídos também de produtos químicos que podem ser alcalinos e/ou ácidos (detergentes e materiais de limpeza) utilizados para lavagem das louças, panelas, frigideiras e utensílios de cozinha (GURD et al., 2019).

Os efluentes gerados nos estabelecimentos alimentícios são caracterizados com uma quantidade relevante de óleos e graxas residuais que devem ser removidos antes de entrar nos sistemas de coleta, a fim de evitar bloqueio nas linhas de esgotos municipais e prejudicar o processo de tratamento das estações (OLIVEIRA et al., 2014).

A tabela 1 apresenta as quantidades de óleos e graxas em diferentes efluentes:

Tabela 1: Níveis de óleos e graxas residuais (mg/L) em diferentes efluentes.

Tipo de efluente	O&G (mg/L)
Restaurante	98
Laticínios	4.680
Fábrica de batata frita	102 - 200
Fábrica de sorvete	845
Esgoto sanitário	55 – 170

Fonte: Adaptado Oliveira, 2014.

Segundo Oliveira et al. (2014) a quantidade de óleos e graxas encontrados nos efluentes gerados principalmente nas cozinhas podem representar até 50% dos compostos orgânicos em suspensão, as gorduras presentes nesta suspensão são ésteres com peso molecular elevado, formados a partir de ácidos graxos superiores e glicerol.

O termo “graxa” engloba as variedades de substâncias bioquímicas que apresentam a propriedade comum de se dissolver em solventes orgânicos como o hexano e são pouco solúveis em água. Quimicamente, gorduras e óleos de origem vegetal e animal são classificados

como ésteres de ácidos graxos e ésteres de álcoois ou gliceróis. Os ésteres graxos podem se apresentar na forma líquida conhecidos como óleos e na forma sólida denominados gorduras. A matéria graxa popularmente denominada como gordura tem alta estabilidade e por isso pode permanecer por longo período dentro das caixas de gorduras (HAMMER, 1979).

O material acumulado nas caixas de gordura é chamado de espuma, essa espuma é constituída por materiais flutuantes que são óleos, gorduras, sabões, resíduos alimentares, cascas de vegetais e frutas, fios de cabelo, papel e materiais similares (OLIVEIRA et al., 2014). A espuma retida apresenta baixa solubilidade e altamente resistente à degradação, se lançados diretamente na natureza acarretam sérios problemas tanto para o solo quanto para o corpo hídrico. Além de causar danos na natureza, ao chegarem nas estações de tratamento de efluente, esses resíduos associados a outros compostos intermediários gerados durante sua biodegradação, acarretam problemas nas etapas de tratamento da estação, como por exemplo, causam toxicidade, efeitos inibitórios aos microrganismos, varredura de lodo, entre outros (ORSSATTO et al., 2010).

Oliveira et al (2014) ressalta que pesquisas indicam que a espuma retida ao longo do tempo nas caixas de gorduras e lipídeos contidos no lodo das estações de tratamento de efluente podem ser usados como matéria prima para a produção de biodiesel. Cerca de 20% do lodo das estações de tratamento de efluente são formados por óleos e graxas solúveis em éter, os quais podem ser convertidos em ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos.

Para evitar problemas relacionados aos altos níveis de óleos e graxas é obrigatório que seja realizada a instalação de uma caixa de gordura no local de geração dos resíduos. Além da instalação é necessário também que a caixa de gordura funcione corretamente, o desempenho das caixas de gorduras está relacionado diretamente com as condições processuais e hidrodinâmicas que ocorrem em seu interior (JUNQUEIRA et al., 2016).

2.3 CAIXA DE GORDURA

A NBR 8160 (1999) define caixa de gordura como um pré-tratamento que tem a função de reter material gorduroso (origem vegetal e animal) presentes no efluente gerado por meio de processos alimentícios de restaurantes e residências que poderiam obstruir as tubulações em uma instalação hidro sanitária.

As caixas de gordura devem ser posicionadas no mesmo pavimento em edifício térreo, onde irão receber os despejos de pias, um dispositivo geralmente presente em cozinhas,

salões de festas e restaurantes onde se manipula alimentos e se lava louças. Em caso de uma edificação com mais de um andar, o efluente é recebido separadamente através de um tubo de queda. Nesses casos utilizam-se tubos de queda separadamente para transportar o efluente gerado em pias até o térreo devido ao fato da NBR 8160 (1999) não permitir que seja instalado caixas de gordura dentro ou em cada pavimento de um prédio com o propósito de evitar transtornos como sujeiras ou odor no interior da residência, facilitando a manutenção e melhorando a operação do sistema.

A caixa de gordura é constituída por um tubo receptor onde permitirá a entrada dos despejos, do outro lado encontra-se um septo não removível contendo uma saída com tubo em diâmetro nominal superior ao da entrada, além de um joelho e outro pequeno tubo voltado para baixo onde formará uma saída sifonada, podendo ser confeccionada em alvenaria com revestimento argamassado contendo uma tampa que permita fechamento e remoção para manutenção ou também pode-se utilizar caixas de gorduras produzidas em PVC, em ambos os casos deve-se respeitar o volume dimensionado para escolha de acordo com a NBR 8160 (Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1999).

2.4 DIMENSIONAMENTO DA CAIXA DE GORDURA

Para dimensionar uma caixa de gordura deve-se respeitar os seguintes parâmetros que estão determinados na NBR 8160 (1999) como mostra a tabela 2 abaixo:

Tabela 2: Parâmetros de dimensionamento de uma caixa de gordura.

Tipo da caixa	Nº de cozinhas	Formato	Φ (m)	Dimensões		
				Comprimento submerso do septo (m)	V (L)	DN saída (mm)
Pequena	1	Cilíndrica	0,30	0,20	18	75
Simplex	2	Cilíndrica	0,40	0,20	31	75
Dupla	Até 12	Cilíndrica	0,60	0,35	120	100
Especial	Acima de 12	Prismática	-	0,40	2N+20	100

Fonte: Adaptado NBR 8160 (1999).

De acordo com a NBR 8160 (1999) em casos de caixas de gorduras atenderem mais de doze cozinhas ou estabelecimentos como restaurantes, escolas e quartéis por exemplo, deve-se dimensionar uma caixa prismática retangular, denominada especial, usando a equação 1:

$$V = 2N + 20 \quad (1)$$

Onde:

V = É o volume, em litros, da câmara de retenção de gordura;

N = O número de pessoas que são servidas no turno de maior uso daquela cozinha.

A caixa de gordura especial deve possuir altura molhada de 60 cm e distância mínima entre o septo e a saída de 20 cm.

O cálculo do volume de retenção leva em consideração dimensões como **Profundidade útil (cm)**, **Diâmetro (cm)**, **Comprimento (cm)** e **Largura (cm)**, dependendo se a seção é circular ou prismática com base retangular. O volume de retenção é obtido através da equação (2):

$$V = \frac{Ab \times Hu}{1000} \quad (2)$$

Onde:

V: volume de retenção da caixa de gordura, em L;

Ab: área da base da caixa de gordura, que depende do formato da seção considerada, em cm²;

Hu: profundidade útil, correspondente à distância entre o fundo da caixa e a geratriz inferior do tubo de saída, em cm;

1/1000: conversão de unidade cm³ para litro.

Para calcular uma caixa de gordura com formato circular geralmente usado para caixas de gordura pequena, caixa de gordura simples e caixa de gordura dupla adota-se a equação (3):

$$Ab = \frac{\pi \times D^2}{4} \quad (3)$$

Onde:

Ab: área da base;

D: diâmetro interno definido para a caixa de gordura.

Para caixa de gordura com formato prismático usados para dimensionar caixa de gordura especial é utilizado a equação (4):

$$Ab = \frac{Ve \times 1000}{Hu} \quad (4)$$

Onde:

Ve: volume estimado de retenção da caixa de gordura, em L;

Hu: profundidade útil, correspondente à altura molhada prescrita na NBR 8160/1999, igual a 60 cm;

1000: conversão de unidades.

Com a área da base estipulada, determina-se uma proporção para esta face da caixa e tais valores são admitidos no cálculo do comprimento e largura da seção prismática de acordo com a equação (5):

$$C = \left(\frac{Ab}{X}\right)^{0,5} \quad (5)$$

Onde:

C: comprimento da caixa, em cm;

Ab: área da base da caixa de gordura de seção prismática, em cm²;

X: proporção da base, (X:1).

A largura da caixa de gordura da base da caixa é determinada de acordo com a equação (6):

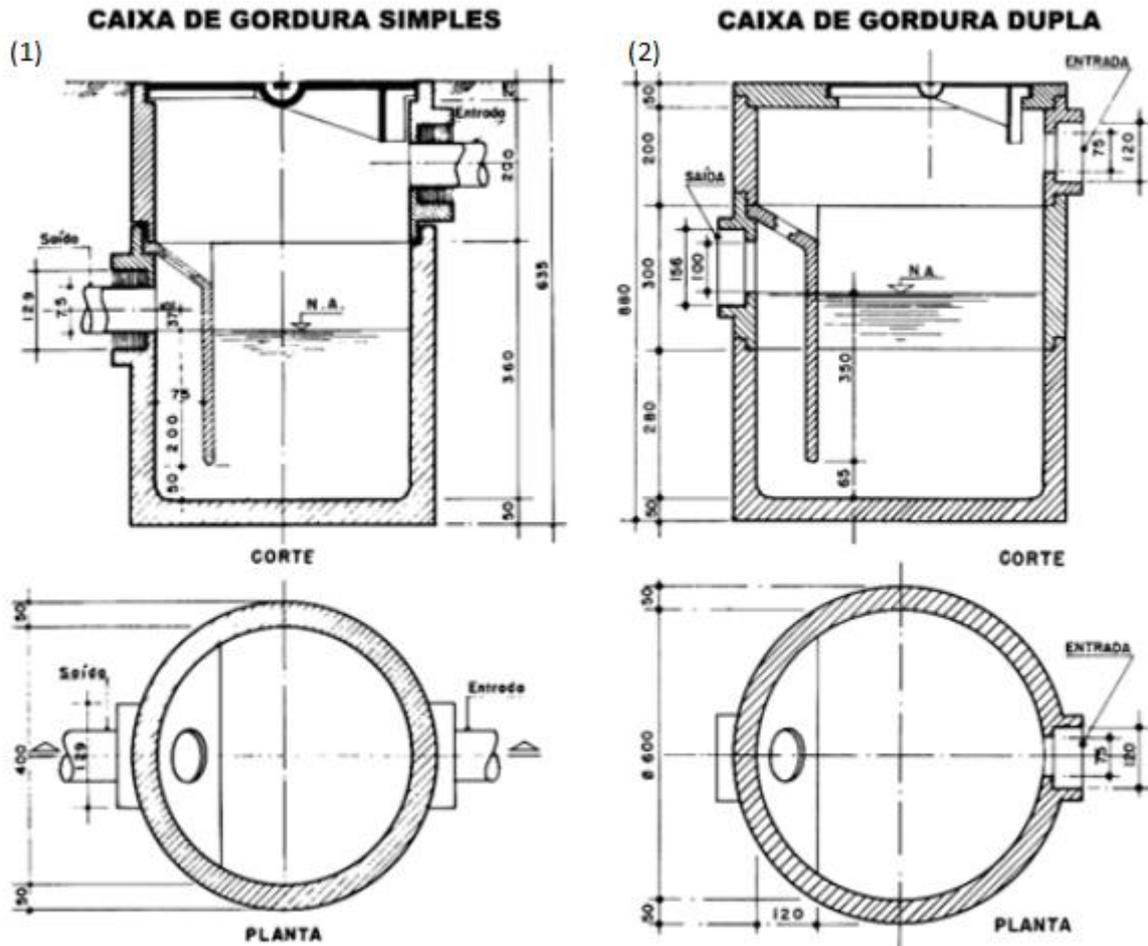
$$L = \frac{Ab}{c} \quad (6)$$

Onde:

L: largura da base da caixa, em cm;

Ab: área da base da caixa de gordura de seção prismática, em cm^2 ;
 C: comprimento da base da caixa, em cm.

Figura 1: Caixa de gordura simples (imagem 1) e Caixa de gordura dupla (imagem 2).



Fonte: GNIPPER, 2008.

Após dimensionada e ao decorrer do funcionamento, a caixa de gordura acumulará no seu interior uma película/camada de gordura, em sua porção superior, similar a um tanque séptico, onde microrganismos irão degradar a matéria orgânica presente, mas em velocidade inferior a recomposição precisando assim, remover periodicamente, num período máximo de seis meses esta camada de gordura, ou em caso de transbordamento como cita a NBR 8160 (Norma Técnica Brasileira, 1999).

2.5 MANUTENÇÃO DA CAIXA DE GORDURA

Para o bom funcionamento de uma caixa de gordura é necessário que seja feita periodicamente uma limpeza e remoção do conteúdo retido, assim evitando que os materiais graxos cheguem nas redes coletoras. A frequência da limpeza depende da vazão do efluente, ela que determina uma capacidade mínima e uma frequência mínima de limpeza que deve adotar (DELATORRE E MORITA et al., 2007).

Sydney Water Corporation, (2004) apud DELATORRE E MORITA (2007) orienta que as caixas de gordura devem ser limpas antes que aconteça as seguintes situações:

- A espessura da camada superficial, composta de óleos, graxas e materiais flutuantes, seja maior ou igual a 10% da profundidade total da caixa;
- A espessura da camada de sólidos no fundo da caixa seja maior ou igual a 20% da profundidade total da caixa;
- O fundo da caixa apresente uma camada de sólidos maior que 400 mm;
- A somatória das espessuras das camadas superficial e de fundo seja maior que 25% da profundidade da caixa.

O não cumprimento das limpezas periódicas ou uma caixa de gordura com capacidade inferior a vazão recebida compromete todo o processo de tratamento e consequentemente facilita a passagem direta dos óleos e graxas para as redes coletoras de esgoto (DELATORRE E MORITA et al., 2007).

O pré-tratamento realizado através da caixa de gordura contribui diretamente para a funcionalidade das estações de tratamento de efluentes, pois quando concentrações elevadas de óleos e graxas se fazem presente nas águas residuárias ao chegarem nas estações de tratamento provocam uma resistência à digestão anaeróbia, causando acúmulos de escumas nos digestores e inviabilizando o uso do lodo na prática da fertilização ocasionando problemas operacionais à etapa do tratamento primário podendo interferir nos tratamento secundário (GUIMARÃES E MELO et al., 2002).

2.6 POTENCIAL MICROBIANO

Em um sistema biológico de tratamento de efluentes, os microrganismos são capazes de transformar moléculas presentes no efluente utilizando mecanismos específicos do seu metabolismo (FEITOSA, 2002). Nas estações de tratamento de efluente, os biorreatores

podem trabalhar conforme a atividade metabólica de uma bactéria em particular levando em consideração a composição dos resíduos poluentes como, por exemplo, os esgotos domésticos que são ricos em fósforo e nitrogênio que são consumidos pelo crescimento microbiano (FEITOSA, 2002).

Em decorrência do metabolismo dos microrganismos as bactérias, fungos e leveduras possuem a propriedade de produzir enzimas. Dentre as mais variadas enzimas produzidas destacam-se as lipases. Esses microrganismos produzem lipases extracelulares durante o crescimento em meios hidrofóbicos. As lipases atuam como catalizadores bioquímicos das reações de hidrólise de gorduras, mono- e di-glicérides liberando ácidos graxos e glicerol (HABA et al., 2000).

As lipases (triacilglicerol acil-hidrolases; EC 3.1.1.3) são um grupo importante de enzimas com uma variedade de aplicações na indústria alimentícia, na produção de detergentes, indústria farmacêutica, no tratamento de efluentes e no campo da bioenergia (SALIHU et al., 2012). Na última década, atenção especial foi dada ao uso de lipases como enzimas hidrolíticas que catalisam as reações de hidrólise de triacilgliceróis (TAGs) e de mono- e diglicérides liberando ácidos graxos e glicerina, e as reações de esterificação de resíduos de óleo vegetal e animal, sendo um processo ambientalmente amigável para produzir éster metílico de ácidos graxos, isto é biodiesel (GOG et al., 2012; KUO et al., 2015).

Haba et al. (2000) testou a atividade lipídica de cerca de 47 cepas de bactérias e leveduras cultivadas em resíduos de óleo de cozinha, entre os resultados obtidos as leveduras tiveram baixa produção de lipase, já as bactérias em geral se mostraram boas produtoras de enzimas, destacando com melhores resultados as bactérias do gênero *Pseudomonas* e *Bacillus*.

As lipases apresentam características particulares como regioseletividade e estereosseletividade, são encontradas em grandes quantidades por serem produzidas com altos rendimentos de organismos microbianos (JAEGER E EGGERT et al., 2002).

2.7 BIOTECNOLOGIA

A biotecnologia representa o conjunto de técnicas que abrangem conhecimentos científicos biológicos e tecnológicos onde é possível modificar ou atualizar parte ou todo o sistema biológico, principalmente de células e bactérias para a produção de diversos produtos para uso industrial e humano. Pode se aplicar em diferentes áreas como por exemplo, na

agricultura (criação de animais, ciência do solo), nas indústrias de alimentos e farmacêuticos e na conservação ambiental (NAZ, 2015).

O nome biotecnologia foi designado em 1919 pelo engenheiro húngaro Karoly Ereky para descrever uma tecnologia baseada na conversão de matérias primas em um produto mais útil, porém essa tecnologia já era usada a mais de 4.000 anos atrás pelos egípcios que faziam a fermentação para aumentar a massa durante a panificação (NAZ, 2015).

Após a segunda guerra mundial algumas descobertas importantes foram relatadas abrindo o caminho para a biotecnologia moderna até os dias atuais.

A biotecnologia moderna desenvolve produtos e tecnologias a fim de combater doenças raras, ajuda na preservação ambiental usando uma energia mais limpa e mais segura contribuindo para processos industriais mais eficientes (NAZ, 2015).

Zahra Naz (2015) menciona os seguintes dados:

- Mais de 250 produtos e vacinas de biotecnologia foram disponibilizados para pacientes, muitos deles com doenças anteriormente intratáveis;
- Mais de 13,3 milhões de agricultores em todo o mundo usam a biotecnologia agrícola para aumentar a produtividade;
- Mais de 50 biorrefinarias estão sendo construídas na América do Norte para testar e refinar tecnologias para produz biocombustíveis e produtos químicos a partir de biomassa renovável, o que pode ajudar a reduzir os gases de efeito estufa.

2.7.1 Impacto da Biotecnologia

A biotecnologia está transformando o mundo utilizando recursos que a natureza oferece e o impacto que está causando na vida das pessoas e no meio ambiente é visivelmente extraordinário.

De acordo com Naz (2015) a eficiente utilização da Biotecnologia é:

- Reduzir as taxas de doenças infecciosas;
- Adaptação de tratamentos a indivíduos para minimizar riscos à saúde e efeitos colaterais;
- Criar ferramentas mais precisas para detecção de doenças;
- Combater doenças graves e ameaças cotidianas confrontando o mundo em desenvolvimento;
- Reduzir o uso e a dependência de petroquímicos;

- Diminuição do uso da água e geração de resíduos;
- Gerar rendimentos mais altos com menos insumos;
- Redução dos volumes de produtos químicos agrícolas exigidos pelas culturas, limitando o escoamento desses produtos no meio ambiente;
- Desenvolver culturas com perfis nutricionais aprimorados que resolvem as deficiências de vitaminas e nutrientes;
- Produzir alimentos livres de alérgenos e toxinas;
- Melhorar o conteúdo de alimentos e óleos vegetais para ajudar a melhorar a saúde cardiovascular;
- Ajudar no aumento da produtividade e na melhoria da produção e conservação de energia, conduzindo trabalho de pesquisa e desenvolvimento;
- Trabalhar com processos químicos, engenharia genética, desenvolvimento têxtil, desenvolvimento cosmético;
- Explorar e controlar o potencial de microrganismos e sistemas vivos em benefício da humanidade como usando microrganismos na produção de bebidas, pão, queijo e iogurte;
- Combater a poluição ambiental, desenvolvendo o uso de biossensores para detecção precoce de poluentes.

2.8 BIOADITIVOS COMERCIAIS

Os bioaditivos são compostos formados por micro-organismos selecionados para degradação da matéria orgânicos além de macro e micronutrientes indispensáveis para uma boa atividade biológica. Esta tecnologia é denominada bioaumentação e se constitui em uma das técnicas mais utilizadas de biorremediação. A bioaumentação pode ser definida como uma suplementação externa de microrganismos selecionados de ocorrência natural, como as bactérias e fungos (MÁCEDO, 2000). Os aditivos bioquímicos para a bioaumentação são produtos biotecnológicos formados por uma mistura de bactérias saprofíticas, ou de microrganismos modificados geneticamente, não patogênicas, de enzimas e de nutrientes para aumentar a atividade degradativa desses microrganismos (ROSA, 1995). Estes aditivos utilizam à ação sinérgica de microrganismos previamente selecionadas de seus ambientes naturais (solo, água e efluentes).

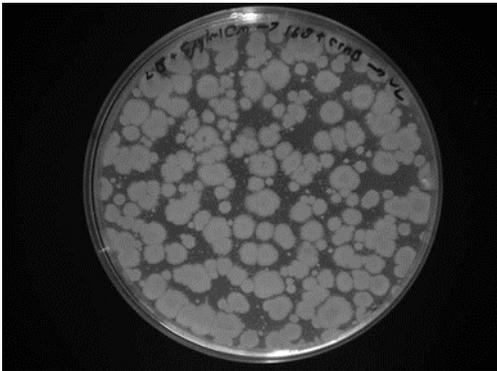
O Art. 2º da Resolução CONAMA 463 de 2014 define como remediador: “o produto ou agente de processo físico, químico ou biológico destinado à recuperação de

ambientes e ecossistemas contaminados e ao tratamento de efluentes e resíduos” e como biorremediador: “o remediador que apresenta como ingrediente ativo microrganismos capazes de se reproduzir e de degradar bioquimicamente compostos e substâncias contaminantes”.

De acordo com a ficha técnica fornecida pelo fabricante (Texas Chemical LTDA) o bioaditivo utilizado como inoculante comercial neste trabalho, é formado por um consórcio de bactérias do gênero *Bacillus*, de quatro espécies diferentes, *Bacillus subtilis* (Figura 1 e 2), *Bacillus licheniformis*, *amyloliquefaceans* e *polymyxa* (Figura 3, 4 e 5) e por duas espécies de *pseudomonas* (*fluorescens* e *putida*) dispersos numa carga orgânica (farelo de cereais). Essa combinação de microrganismos naturais foi desenvolvida com o propósito de reduzir a DBO, sólidos totais dissolvidos e óleos e graxas.

Os bacillus são bactérias gram positivas não patogênicas que possuem formato de bastão podendo ser aeróbias ou aeróbias facultativas, com capacidade de produzir esporos quando submetidas a meios de cultura contendo poucos nutrientes. Os esporos do *B. subtilis* são altamente resistentes a meios adversos, devido a sua capacidade de resistência conseguem sobreviver por longos períodos sob condições de estresse suportando altas temperaturas, dessecação, ausência de nutrientes e exposição a solventes químicos (ALVES et al., 2018).

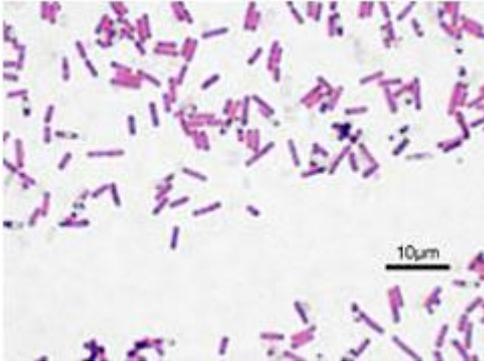
Figura 2: Colônias de *Bacillus subtilis*



Fonte: Página defesa vegetal^{1*}

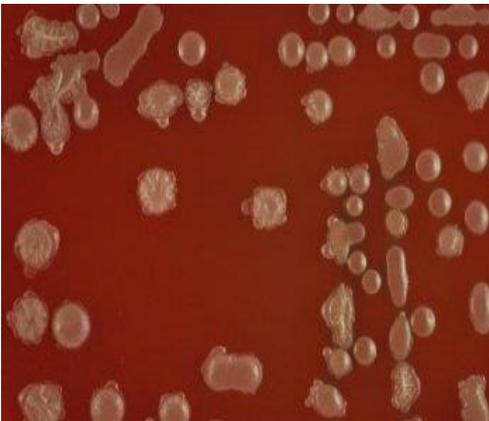
* 1- Disponível em: <http://www.defesavegetal.net/bacillus-subtilis-linhagem-qst-713> Acesso em nov. 2019.

Figura 3: Bacillus gram positivo na forma de bastão.



Fonte: Página Citizendium^{2*}

Figura 4: Bacillus *licheniformis*



Fonte: Página do atlas^{3*}

Figura 5: Bacillus *amyloliquefaciens*.



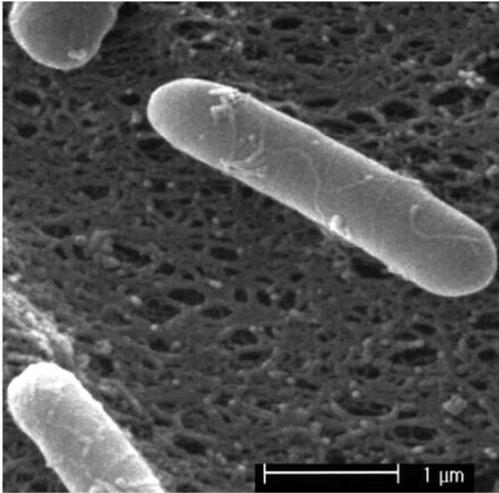
Fonte: Página do Indiamart^{4*}

* 2- Disponível em: http://en.citizendium.org/wiki/Bacillus_subtilis Acesso em nov. 2019.

* 3- Disponível em: http://atlas.sund.ku.dk/microatlas/food/bacteria/Bacillus_licheniformis/closeup.html Acesso em nov. 2019.

* 4- Disponível em: <https://www.indiamart.com/proddetail/bacillus-amyloliquefaciens-11427341691.html> Acesso em nov. 2019.

Figura 6: *Bacillus polymyxa*



Fonte: Página do Microbewiki^{5*}

Os bacillus da espécie *subtilis* são cultivadas desde 1946, em toda América e Europa, nessa época esses microrganismos já eram utilizados como agentes imunoestimulantes no auxílio de tratamentos gastrointestinais (ALVES et al., 2018).

As bactérias do gênero *Bacillus* tem sido descrita na literatura como um excelente produtor de bioprodutos de origem microbiana, principalmente através de processos fermentativos (LOISEAU et al., 2015). Essas bactérias possuem como habitat natural o solo e a água, seu formato é do tipo bastonetes com extremidades retas ou arredondadas de tamanhos variáveis (0,5 X 1,2 μm até 2,5 x 10 μm), geralmente móveis graças aos cílios peritríquios. Apresentam elevada taxa de crescimento e de grande capacidade de secretar proteínas para um meio extracelular, apresentando o selo de GRAS (*Generally Recognized As Safe*), exigência da FDA (*Food and Drug Administration*) para aplicação na área de alimentos (SCHALLMEY et al., 2004).

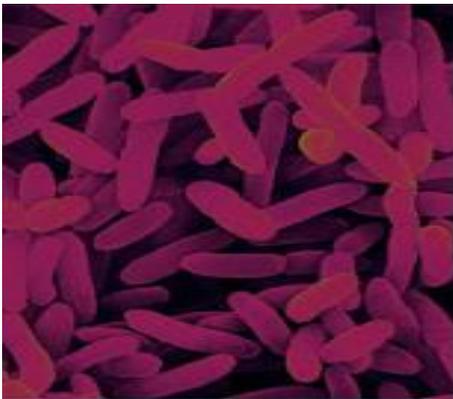
Esse grupo de bactérias tem uma ampla versatilidade metabólica, faz parte da diversidade bacteriana de diversos ambientes naturais e antropogênicos (solo, ar, água, poeira de ossos em decomposição), estando também presentes na biota intestinal, e apresentam como característica marcante a capacidade de formar endósporos (LEE, TIN, KELLEY, 2007).

Já as bactérias do gênero *Pseudomonas fluorescens* são encontradas na superfície do solo, da água e das plantas que habitam a rizosfera, possuem versatilidade nutricional e facilidade de crescerem em diferentes ambientes. Esses gêneros de bactérias são capazes de

* 5- Disponível em: https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Paenibacillus_polymyxa Acesso em nov. 2019.

crescer em baixa temperatura, algumas pseudomonas praticam o comensalismo com as plantas utilizando nutrientes que são transpirados das superfícies das plantas e sobrevivendo ao estresse ambiental. Essa relação de comensalismo entre pseudomonas e plantas acarreta efeitos benéficos para as plantas, prevenindo pragas, melhorando o acesso aos principais nutrientes, alterando processos fisiológicos ou degradando poluentes ambientais, além de produzir uma variedade de metabólitos como antibióticos que são tóxicos aos patógenos vegetais. Os antibióticos produzidos através das monapseudos tem a capacidade de melhorar a aptidão da cepa produtora e eliminam os patógenos que possam prejudicar a saúde das plantas contribuindo para positivos efeitos na produtividade agrícola (PAULSEN et al., 2005).

Figura 7: *Pseudomonas fluorescens*.



Fonte: Página Fineartamerica^{6*}

*6- Disponível em: <https://fineartamerica.com/featured/pseudomonas-fluorescens-bacteria-dennis-kunkel-microscopyscience-photo-library.html> Acesso em nov. 2019.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 EQUIPAMENTOS

Para realização das análises físico-químicas foram utilizados os seguintes equipamentos: balança analítica; termômetro; autoclave (Fanem); estufa (De Leo); DBO Sensor (Velp Científica); pH-metro (Sensoglas); banho maria; bomba de vácuo; aparelho de destilação; agitador magnético; capela de fluxo laminar.

3.2 VIDRARIAS E UTENSÍLIOS

Para realização das análises físico-químicas foram utilizados as seguintes vidrarias e utensílios: caixa térmica de isopor; bambona plástica; becker de 1000 ml; becker de 600 ml; becker de 50 ml; bastão de vidro; peneira de 150 microns; placas de Petri; Swab; espátula; bico de Bunsen; frascos padrão de DBO_{5,20}; pipetas volumétricas; provetas com tampas; frascos de diluição de leite; frasco de Mario; garra metálica; cápsula de metal; funil de Buchner; kitasato; dessecador; balão de fundo chato, gargalo curto, junta esmerilhada de 250 mL; conjunto de extração Soxhlet; bagueta; vidro de relógio com 10 cm de diâmetro; cartucho de extração; papel de filtro Whatman n°40; filtro de musseline, diâmetro de 11cm; almofariz e pistilo; pinças; tubos de ensaio.

3.3 REAGENTES

Para realização das análises físico-químicas foram utilizados os reagentes listados: composto bioaditivo (RP BACTEX); meio Ágar Nutriente; água esterilizada; fosfato monobásico de potássio, KH_2PO_4 P.A; fosfato dibásico de potássio, K_2HPO_4 P.A, fosfato dibásico de sódio heptahidratado, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ P.A; cloreto de amônio, NH_4Cl P.A; sulfato de magnésio heptahidratado, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ P.A; cloreto de cálcio, CaCl_2 anidro P.A; cloreto férrico hexahidratado $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ P.A; hidróxido de sódio, NaOH P.A.; ácido sulfúrico, H_2SO_4 concentrado P.A; sulfito de sódio P.A, Na_2SO_3 ; inibidor de nitrificação 2-cloro-6 (tricloro-metil) piridina, P.A; dicromato de potássio P.A, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$; hidróxido de sódio, NaOH P.A; ácido glutâmico $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$ P.A; glicose P.A, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$; solução tampão pH 7; solução tampão pH 4,

ácido clorídrico, HCl, P.A.; sílica diatomácea; N-hexano, CH₃(CH₂)₄CH₃ P.A; sulfato de magnésio mono-hidratado, MgSO₄.H₂O.

3.4 COLETA DO EFLUENTE

O efluente usado nos experimentos foi proveniente da caixa de gordura de um restaurante localizado no município de Santo Amaro da Imperatriz-SC. O restaurante serve em média 150 refeições por dia. O funcionamento da cozinha inicia-se às 6 horas da manhã e termina às 16 horas da tarde após limpeza total da cozinha. A grande parte da preparação do cardápio e manipulação dos alimentos acontece entre às 6 horas (início das atividades na cozinha) e 11 horas da manhã (acesso dos clientes ao buffet). Após as 11 horas são preparados somente os alimentos que precisam ser repostos no buffet (geralmente frituras). A lavagem das louças e utensílios também acontecem durante esse período.

A amostra do efluente foi coletada com a ajuda de uma funcionária do restaurante no dia 10 de setembro de 2019 às 13 horas, utilizando uma espátula e um funil, foi retirado o material orgânico em estado sólido e líquido presente na caixa de gordura e transferido para duas bambonas de plástico de 5 litros que foram devidamente homogeneizadas e resfriadas em uma caixa térmica de isopor e encaminhada para o laboratório de Engenharia Ambiental e Sanitária (LEA) da Universidade do Sul de Santa Catarina para a realização do experimento. O horário de coleta do efluente foi estabelecido levando em consideração aos horários de funcionamento do restaurante (maior período de atividade da cozinha) e ao tempo de chegada do efluente ao laboratório (LEA) para realização das análises físico-químicas.

3.5 PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE

Antes da realização do experimento, o efluente coletado foi peneirado para retenção de matéria orgânica de tamanho grosseiro, assim, evitando possíveis interferências nos resultados das análises.

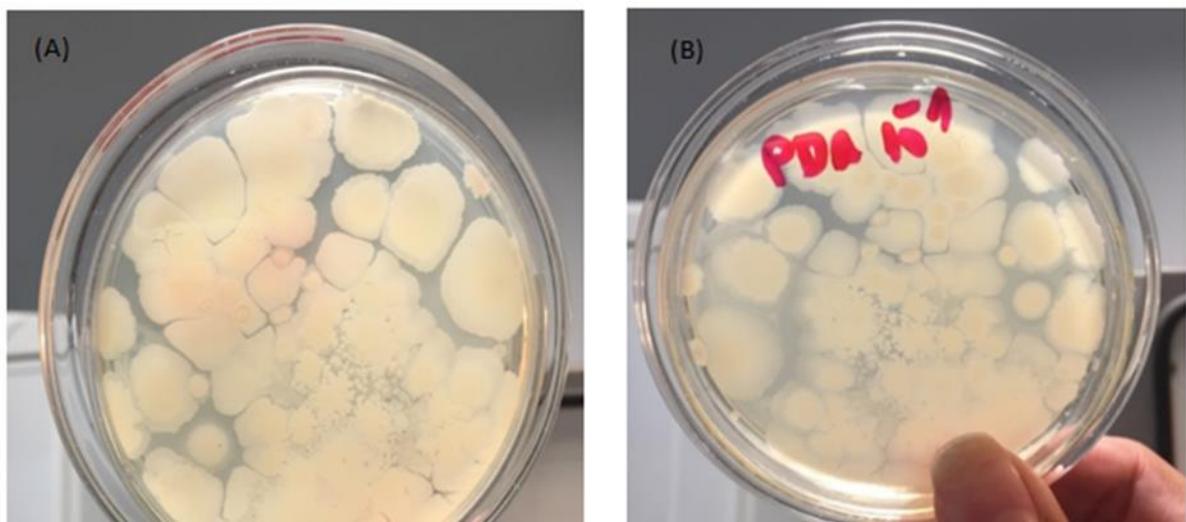
Parte do efluente peneirado foi armazenado em um recipiente de plástico de 1000 ml e resfriado para ser analisado, caracterizando o efluente bruto. A caracterização do efluente foi feita quatro horas após a coleta do material.

3.6 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

De acordo com a ficha técnica o bioaditivo é composto de uma mistura concentrada e balanceada de bactérias não patogênicas, que produzem enzimas hidrolíticas, dispersos em farelo de cereais e na presença de um estabilizante, o cloreto de sódio.

Para verificar se os microrganismos presentes no biocomposto realmente estavam ativos, foram realizados ensaios microbiológicos, onde os microrganismos são isolados em placas de Petri contendo nutrientes Ágar de Contagem de Placas (PCA) e Ágar de Dextrose de Batata (PDA) à temperatura ideal (35 °C) que contribuem para sua reprodução e observados após 48 horas se ocorreu ou não formação de colônias bacterianas como apresenta a figura 7:

Figura 8: Colônias bacterianas em placa com nutrientes PCA (A) e PDA (B).



Fonte: Autora, 2019.

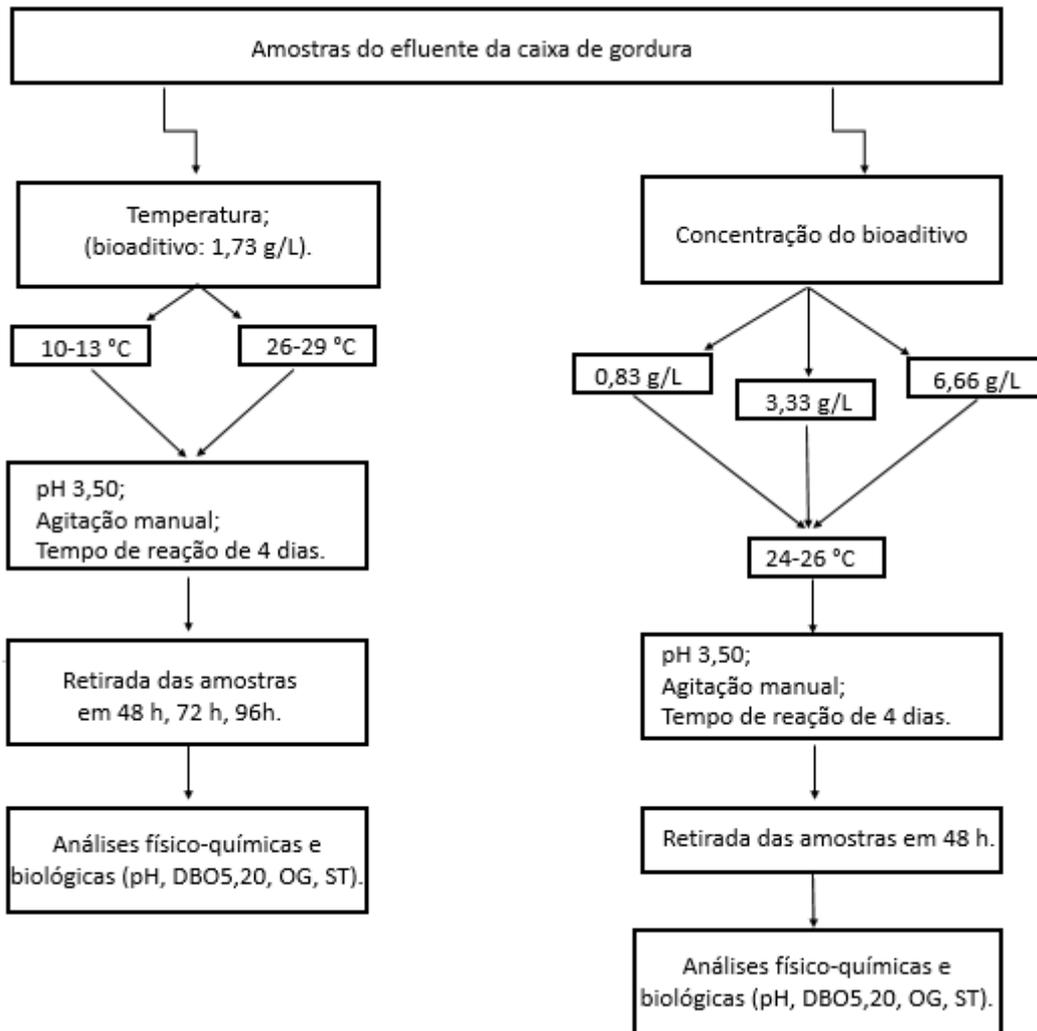
3.7 ENSAIO COM BIOADITIVO

Devido ao custo e falta de espaço físico para realização do estudo em escala real, optou-se por executar a pesquisa em escala reduzida, através de ensaios realizados em bancada no laboratório da Engenharia Ambiental (LEA) da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL). Esta opção ofereceu melhores condições de controle e monitoramento da atividade metabólica dos microrganismos inseridos no efluente em estudo, simulando o funcionamento de uma caixa de gordura.

Os ensaios foram realizados em quatro etapas, sendo a primeira como caracterização do efluente e as demais variando o tempo de atuação, temperatura e concentração do composto bioativo, respectivamente. A quantidade do bioaditivo utilizada em cada etapa do experimento foi calculada proporcionalmente ao volume do efluente utilizado de acordo com a indicação inicial do fabricante.

Foram realizados diferentes experimentos considerando tempo, temperatura e concentração do composto ativo. O fluxograma da figura 9 apresenta as etapas do experimento realizado durante o estudo:

Figura 9: Fluxograma dos experimentos realizados com o bioaditivo.



Fonte: Autora,2019.

3.7.1 Variação da temperatura e tempo

Nestes experimentos foram empregados duas faixas de temperatura: abaixo da temperatura ambiente (10 a 13 °C) e acima da temperatura ambiente (26 a 29 °C).

Em ambos os experimentos, foi colocado 500 mL de efluente em três Bécker de 600 ml juntamente com o 1,73 g/L do bioaditivo. Os frascos de Bécker foram armazenados em uma caixa térmica numa temperatura entre 10°C e 13°C, e no segundo experimento a temperatura permaneceu entre 26 a 29 °C, o pH das amostras foi mantido em 3,5, com uma agitação manual de um minuto a cada 24 horas durante 4 dias. Nesses experimentos, amostras foram retiradas após 48 horas, 72 horas e 96 horas e submetidas aos ensaios de pH, DBO_{5,20}, óleos e graxas (OG) e sólidos totais (ST).

3.7.2 Variação da concentração

No terceiro experimento o efluente (500 mL) foi colocado em três frascos de Bécker de 600 ml, em cada Bécker foi adicionado 0,83 g/L; 3,33 g/L e 6,66 g/L do bioaditivo respectivamente, ambos foram armazenados em uma caixa térmica à temperatura ambiente que variou entre 24°C e 26°C, o pH foi mantido em 3,5 com uma agitação manual de um minuto por dia. Nesse experimento, as amostras foram retiradas após 48 horas do seu início.

Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

3.8 ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS E BIOLÓGICOS

3.8.1 Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO_{5,20})

A análise da DBO_{5,20} foi realizada usando o equipamento DBO SENSOR, da marca VELD SCIENTIFICA, pelo método manométrico. A determinação da DBO pelo Método Manométrico é limitada somente à medida do consumo de oxigênio para à oxidação do carbono enquanto a oxidação da amônia é inibida. A amostra é mantida em um recipiente âmbar (para evitar que haja fotossíntese, o que resultaria na produção de oxigênio adicional) fechado equipado com um sensor de pressão. Dentro do frasco, acima da amostra, contém uma concentração de oxigênio de 21%. As bactérias presentes na amostra utilizam o oxigênio contido na amostra para oxidar a matéria orgânica presente. O ar presente acima da amostra

reabastece a quantidade de oxigênio utilizado pelas bactérias para degradação da matéria orgânica. Durante o período de incubação do teste (cinco dias) a amostra é agitada continuamente com um agitador magnético. O agitador ajuda a transferir o oxigênio da atmosfera para a amostra e simula condições naturais. O dióxido de carbono produzido pelos microrganismos durante a oxidação do material orgânico deve ser removido do sistema, pois a diferença de pressão no sistema é proporcional somente à quantidade de oxigênio usado. O dióxido de carbono é removido adicionando-se cristais de hidróxido de potássio no recipiente acima do nível da amostra nos frascos contendo amostra. Para manter a padronização do teste, submeteu-se as amostras a uma agitação constante com agitador magnético durante 5 dias, em incubadora a uma temperatura constante de 20 °C. O valor de oxigênio consumido em mg O₂/L foi lido diretamente no sensor.

3.8.2 Determinação do Potencial Hidrogeniônico (pH)

O índice de pH determina o potencial de íons hidrogênio presente em uma solução. A escala de pH vai de 0 a 14, onde a solução que apresenta pH 7 é considerada uma solução neutra, abaixo de 7 solução ácida e acima de 7 uma solução alcalina (FUNASA, 2009).

Para determinação do pH foi seguido os passos do manual prático de análise de água da FUNASA (2009), onde descreve o método potenciométrico. Este método baseia-se na medida da diferença de potencial de uma célula eletroquímica ausente de corrente. A medida do pH é realizada utilizando um equipamento chamado pHmetro, que foi calibrado (com solução tampão 4 e 7) e manuseado conforme manual do equipamento.

3.8.3 Determinação dos Sólidos Totais (ST)

Os sólidos totais representam o conjunto de todas as substâncias orgânicas e inorgânicas de diferentes tamanhos e dimensões presentes nas amostras líquidas que podem ser classificados quimicamente em voláteis (instáveis) que volatilizam a temperaturas inferiores a 65°C e fixos (estáveis) que permanecem após a evaporação da água (LAURENTI, 1997).

Para determinação dos sólidos totais, foi seguido os passos da apostila de Qualidade de Água I, (LAURENTI, 1997) onde descreve que a obtenção dos valores dos sólidos se dá pela diferença de massa de um cadinho sem amostra e outro com a amostra após o processo de evaporação do líquido e aplicado na equação 7 para obtenção dos resultados:

$$SST = (P1 - P2) \text{ mg} \times \frac{1000}{V} (\text{ml}) = \text{mg/L} \quad (7)$$

Onde:

P1= Peso do cadinho sem amostra;

P2= Peso do cadinho mais o resíduo da amostra;

V = Volume da amostra.

3.8.4 Determinação dos Óleos e Graxas (OG)

Seguindo os passos da Norma Técnica Interna da SABESP (NTS 005, 1997), os óleos e graxas foram determinados seguindo o método de extração conforme descrito abaixo:

Preparação das vidrarias:

- Deixado em refluxo todo o sistema, inclusive o cartucho de extração, o extrator e o balão de fundo chato de 250 mL, durante 1 hora utilizando-se 170 mL de n-hexano;

- Após a simulação, foi deixado o balão de fundo chato de 250 mL, o cartucho de extração e o extrator na estufa a 70°C até evaporar todo o solvente;

- O balão foi esfriado em dessecador, pesado e anotado o peso inicial (P0);

OBS: O balão não deve ser manuseado diretamente com as mãos e sim através de pinça, pois pode haver absorção da gordura da mão e ocorrer alteração no peso inicial durante o teste.

Filtração e secagem da amostra

- Para o procedimento descrito a seguir, foi executado um controle de uma prova em branco, utilizando um volume de 1000 mL de água deionizada;

- Transferida a amostra, do frasco de coleta, para um bécher de 2000 mL;

- Foi deixado a amostra em agitação magnética por aproximadamente 30 minutos e transferido para uma proveta de 250 mL;

- Montado o conjunto de filtração acoplado-se o funil de Buchner a um kitassato e este a bomba de vácuo;

- Colocado o filtro de musseline no funil de Buchner e fixado com água deionizada;

- O papel de filtro foi colocado sobre o filtro de musseline e fixado com água deionizada;

- Adicionado no funil de Buchner, com uma proveta, 100 mL de suspensão de terra diatomácea, uniformemente e aplicando-se vácuo no sistema;

- Filtrado 1000 mL de água deionizada no funil de Buchner;

- Retirado do funil de Buchner, com o auxílio de pinças, o papel de filtro com o resíduo e transferido a um vidro de relógio;
- Adicionado no vidro de relógio o material que aderiu ao filtro de musseline;
- O funil de Buchner foi imo com pedaços do papel de filtro umedecidos no solvente e transferido também para o vidro de relógio;
- Inserido todo o material do vidro de relógio no cartucho de extração;
- Retirado todo material impregnado do vidro de relógio com um pedaço de papel de filtro umedecido com o solvente e transferi-lo ao cartucho de extração;
- O cartucho foi inserido à estufa (103°C) por 30 minutos;

Extração dos óleos e graxas

- Adicionado 150 mL de n-hexano, através de uma proveta, no balão de 250 mL;
- Introduzido o cartucho no extrator e conectado ao balão;
- Conectado o conjunto extrator-balão no condensador do aparelho de Soxhlet;
- Regulado a temperatura tal que a taxa de extração seja de 1 ciclo a cada 3 minutos;
- Deixado o sistema em refluxo por 4 horas;

Destilação do solvente

- Retirado o balão-extrator do conjunto de extração;
- Desconectado o extrator do balão e retirado o cartucho de extração;
- Transferido o n-hexano que sobrou no extrator ao balão;
- Conectado o balão num sistema de destilação;
- Destilado o solvente a uma temperatura de 70°C, deixando aproximadamente 10mL do n-hexano no balão;
- Após a destilação ter finalizado, foi transportado o balão para a estufa e deixado por 30 minutos a 70°C;
- O balão ficou esfriando em dessecador;
- Pesado e anotado o peso 1 (P1).

Para determinação dos óleos e graxas foi utilizada a equação 8:

$$\text{mg de MSH/L} = \frac{(P1 - P0) \times 10^6}{V} \quad (8)$$

Onde:

MSH = material solúvel em n-hexano;

P_0 = massa inicial em gramas;

P_1 = massa final em gramas;

V = volume da amostra em mL.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Este capítulo apresenta os resultados obtidos através da atividade metabólica dos microrganismos inseridos no efluente com o intuito de reduzir a matéria gordurosa presente em grande quantidade no efluente.

4.1 ENSAIOS LABORATORIAIS

O efluente bruto coletado da caixa de gordura à uma temperatura de $22,5 \pm 0,21$ °C, após ser submetido ao peneiramento, foi caracterizado por meio de quatro parâmetros: DBO_{5,20}, sólidos totais (ST), pH e óleos e graxas (OG). Os resultados são apresentados na Tabela 3:

Tabela 3: Resultados das análises físico-químicas de caracterização do efluente bruto da caixa de gordura (peneirado).

Parâmetros	Efluente da caixa de gordura*
Demanda Bioquímica de Oxigênio (mg/L)	14.660 ± 7,77
Sólidos Totais (mg/L)	26.210 ± 1,41
pH	3,5 ± 0,021
Óleos e Graxas (mg/L)	3.520 ± 3,5

*Valor médio (duplicata) e desvio padrão; Fonte: Elaboração da autora, 2019.

O efluente coletado da caixa de gordura foi proveniente da manipulação dos alimentos e preparação do cardápio (aproximadamente 150 pessoas) oferecido pelo restaurante no dia da coleta e de atividades como lavagem das louças e utensílios utilizados na cozinha.

De acordo com a média de pessoas atendidas, a caixa de gordura do restaurante foi projetada em formato prismático com base retangular para suportar um volume de 340 litros. Segundo a gerente do restaurante, a frequência da limpeza acontece a cada 15 dias. A caixa de gordura no dia da coleta estava com alta carga orgânica pois a próxima limpeza estava programada para ser feita dia 12 de setembro (dois dias após a coleta da amostra).

Analisando os resultados obtidos, é possível verificar elevada concentração de DBO_{5,20}, sólidos totais e óleos e graxas. No trabalho realizado por Gaspari em 2012, os resultados das análises de DBO_{5,20} e ST (após a peneiramento) foram de 14.380 mg/L e 22.628

mg/L respectivamente. O pH do efluente tem perfil 3,50. De acordo com a ficha técnica do bioaditivo, a temperatura entre 25 e 35°C e pH de 6,5 a 7,5 propicia a máxima eficiência de degradação da matéria orgânica.

Para avaliar a capacidade de degradação da matéria orgânica pelo bioaditivo, experimentos foram realizados usando 1,73 g/L do produto e mantendo a temperatura abaixo da temperatura ambiente ($11,5 \pm 1,5$ °C) e pH em 3,50. Amostras foram retiradas em 48 h, 72 h e 96 h e submetidas a análise de DBO_{5,20}, ST, pH e OG (Tabela 4).

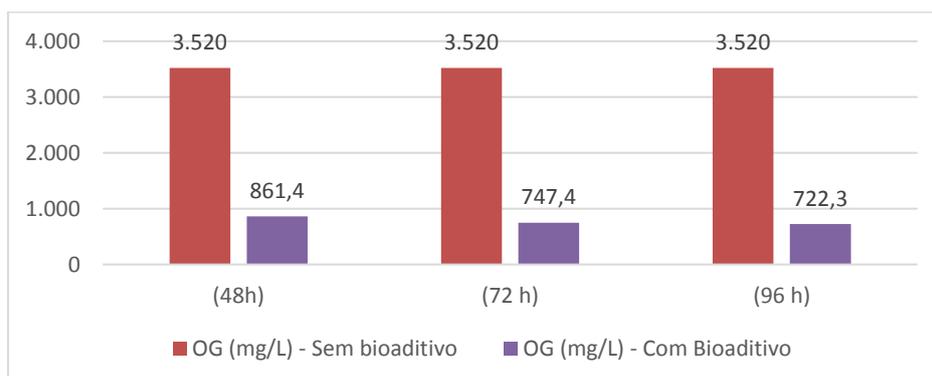
Tabela 4: Resultados das análises físico-químicas para avaliar a degradação da matéria orgânica na presença do bioaditivo com temperatura $11,5 \pm 1,5$ °C e variando o tempo.

Parâmetros	Tempo		
	48 h*	72 h*	96 h*
DBO _{5,20} (mg/L)	14.688 ± 6,66	14.123 ± 7,21	14.321 ± 6,54
Sólidos Totais (mg/L)	26.041 ± 1,54	26.237 ± 1,88	25.760 ± 1,72
pH	3,7 ± 0,30	3,8 ± 0,23	3,8 ± 0,26
Óleos e Graxas (mg/L)	861,4 ± 0,63	747,4 ± 0,82	722,3 ± 0,94

*Valor médio (duplicata) e desvio padrão; Fonte: Elaboração da autora, 2019.

Com a aplicação do bioaditivo não foi observada redução nos valores de DBO_{5,20} durante as 96 horas de experimento, enquanto o teor de óleos e graxas apresentou elevada redução. Na Figura 10 é possível observar que após 48h degradou (75,5%), 72h (78,7%) e 96 h (79,5%) em relação ao efluente bruto.

Figura 10: Degradação de óleos e graxas na presença do bioaditivo com temperatura $11,5 \pm 1,5$ °C e variando o tempo.



Fonte: Autora, 2019.

Na Tabela 5 são apresentados os resultados referentes aos experimentos realizados com temperatura entre $27,2 \pm 1,5$ °C, e usando 1,73 g/L de bioaditivo, pH 3,50.

Tabela 5: Resultados das análises físico-químicas para avaliar a degradação da matéria orgânica na presença do bioaditivo com temperatura $27,2 \pm 1,5$ °C e variando o tempo.

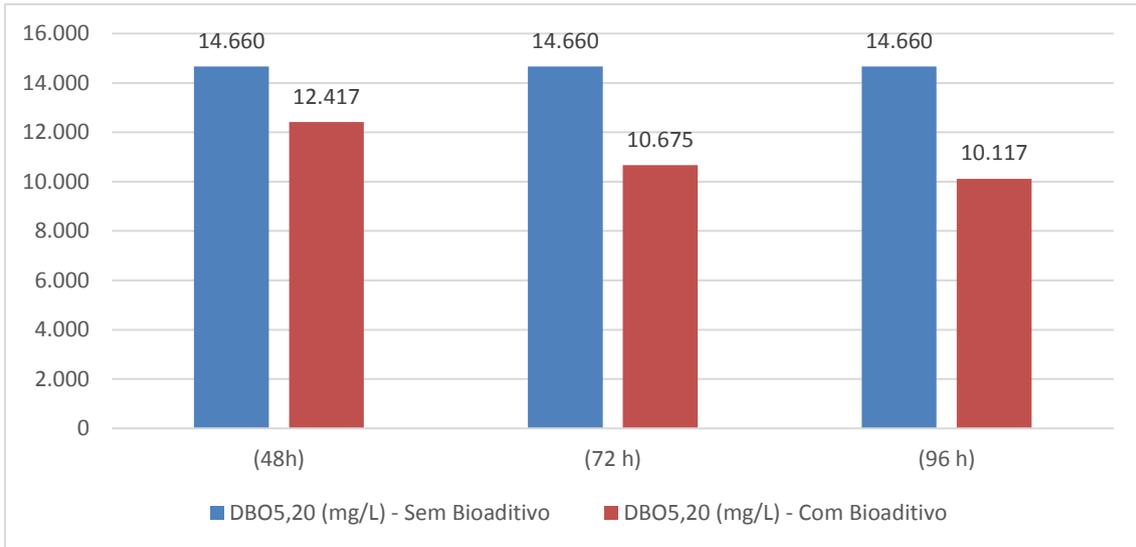
Parâmetros	Tempo		
	48 h*	72 h*	96 h*
DBO_{5,20} (mg/L)	12.417 ± 5,77	10.675 ± 5,6	10.117 ± 6,68
Sólidos Totais (mg/L)	26.765 ± 2,34	26.412 ± 3,33	26.278 ± 2,65
pH	3,67 ± 0,8	4,06 ± 0,5	4,17 ± 0,4
Óleos e Graxas (mg/L)	285,7 ± 1,2	221,8 ± 1,5	188,5 ± 1,62

*Valor médio (duplicata) e desvio padrão; Fonte: Elaboração da autora, 2019.

Analisando os resultados descritos na Tabela 5, pode-se observar uma redução na concentração de DBO e de óleos e graxas e um aumento no pH. A quantidade de ST permaneceu praticamente constante.

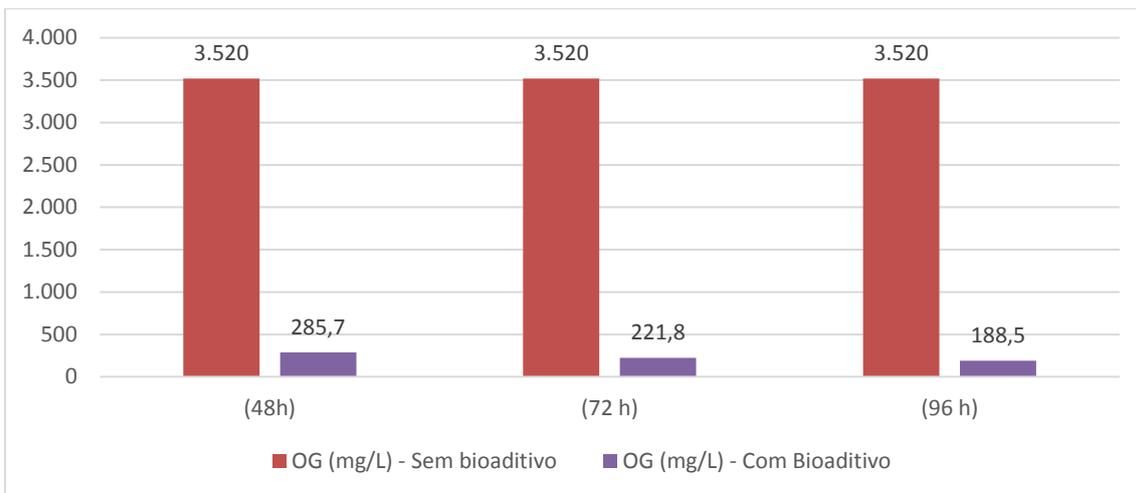
Nas Figura 11, observa-se que na temperatura ótima do bioaditivo ocorreu uma redução em 48h (15,3%), 72 h (27,1%) e 96 h (30,9%) da DBO_{5,20} comparado ao efluente bruto e na Figura 12 observa-se uma degradação em 48h (91,8%), 72 h (93,7%) e 96h (94,6%) de óleos e graxas comparado ao efluente bruto.

Figura 11: Redução da DBO_{5,20} variando o tempo e temperatura ($27,2 \pm 1,5 \text{ }^\circ\text{C}$).



Fonte: Autora,2019.

Figura 12: Degradação dos óleos e graxas variando o tempo e Temperatura ($27,2 \pm 1,5 \text{ }^\circ\text{C}$).



Fonte: Autora,2019.

Analisando os resultados obtidos nos experimentos onde se variou a temperatura e tempo, a atuação do bioaditivo é mais eficiente em temperaturas mais elevadas ($27,2^\circ\text{C} \pm 1,5$) com uma diferença na redução de 24,3 % de DBO_{5,20} e 15,5 % de óleos e graxas de uma faixa de temperatura para outra.

Na Tabela 6 são apresentados os resultados referentes aos ensaios realizados com diferentes concentrações do bioaditivo. Os ensaios foram realizados mantendo a temperatura em ($26 \pm 1,6 \text{ }^\circ\text{C}$) e pH em 3,5 e o tempo de reação de 48 h.

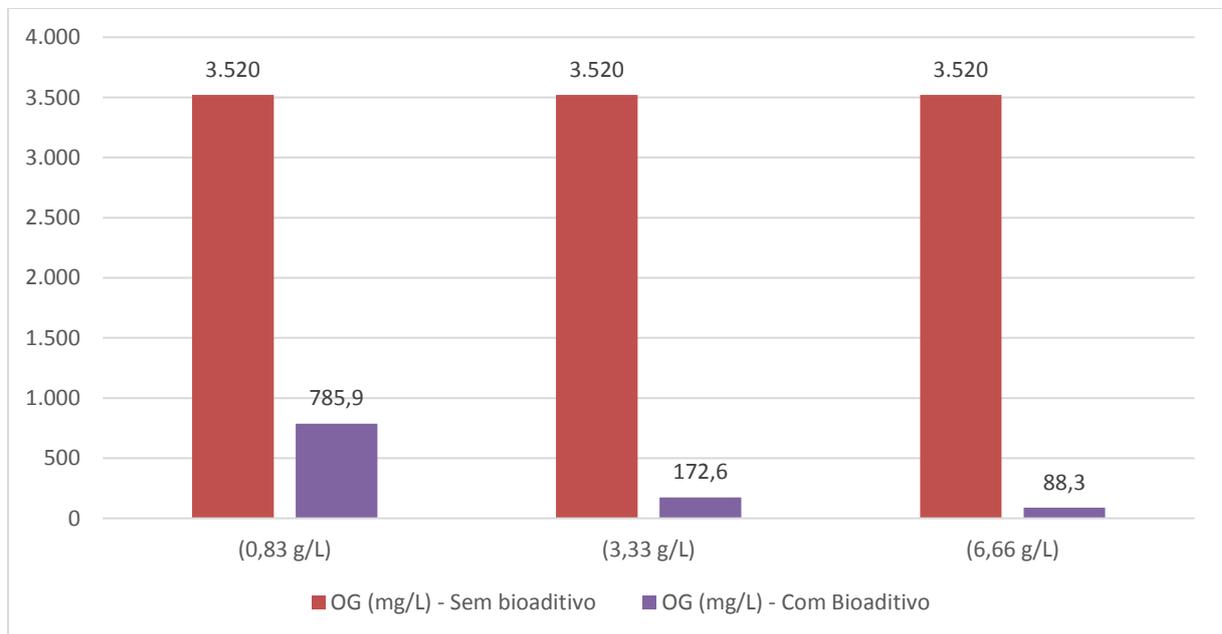
Tabela 6: Resultados das análises físico-químicas para avaliar a degradação da matéria orgânica na presença do bioaditivo com temperatura ($26 \pm 1,6 \text{ }^\circ\text{C}$) e variando a concentração, em 48h.

Parâmetros	Concentração		
	0,83 g/L*	3,33 g/L*	6,66 g/L*
DBO _{5,20} (mg/L)	22.468 ± 8,77	10.079 ± 7,89	8.966 ± 8,54
Sólidos Totais (mg/L)	24.896 ± 3,56	27.135 ± 4,34	27.876 ± 5,66
pH	3,57 ± 0,5	3,7 ± 0,4	3,9 ± 0,3
Óleos e Graxas (mg/L)	785,9 ± 2,36	172,8 ± 3,41	88,3 ± 4,12

*Valor médio (duplicata) e desvio padrão; Fonte: Elaboração da autora, 2019.

Analisando os resultados apresentados na Tabela 6 e Figura 13, observou-se que a redução de óleos e graxas ocorreu com o aumento da concentração do bioaditivo.

Figura 13: Degradação dos óleos e graxas variando a concentração do composto bioativo.



Fonte: Autora, 2019.

Analisando a Figura 13, se observou uma degradação em 0,83 g/L (77,7%), em 3,33 g/L (95,1%) e 6,66 g/L (97,5%) de óleos e graxas na concentração comparado ao efluente bruto.

O tempo de reação de 48 h estabelecido nesse ensaio, foi decorrente aos experimentos realizados nas etapas anteriores, onde se observou uma boa redução de óleos e graxas após 48 horas do início dos experimentos.

No decorrer das análises físico-químicas a concentração de sólidos totais aumentou em quase todos os experimentos realizados, esse aumento pode ser oriundo do farelo de trigo presente na composição do bioaditivo (79%), e em função do desenvolvimento dos microrganismos, gerando maior biomassa.

Analisando a Tabela 7 observou-se redução de $DBO_{5,20}$ nas concentrações de 3,33 g/L e 6,66 g/L e no mesmo tempo de 48 h de reação. Quando foi aumentada a concentração para 3,33 g/L a $DBO_{5,20}$ reduziu de 31,24% e na concentração de 6,66 g/L a redução foi de 38,84% em relação ao efluente bruto.

Tabela 7: Redução de $DBO_{5,20}$ nas diferentes concentrações do Bioaditivo.

Concentração Bioaditivo	degradação $DBO_{5,20}$ após 48 horas de reação (%)
0,83 g/L	SR*
3,33 g/L	31,24
6,66 g/L	38,84

*SR – Sem redução, houve um aumento na concentração de $DBO_{5,20}$.

Fonte: Autora,2019.

Na Tabela 8 são apresentados os percentuais de redução da OG com diferentes concentrações do bioaditivo.

Tabela 8: Degradação dos óleos e graxas nas diferentes concentrações do Bioaditivo.

Concentração Bioaditivo	degradação OG após 48 horas de reação (%)
1,73 g/L	91,8
0,83 g/L	77,7
3,33 g/L	95,1
6,66 g/L	97,5

Fonte: Autora,2019.

Observando os resultados da Tabela 8, na concentração de 0,83 g/L ocorreu uma redução de 77,7 % de OG, usando a concentração (1,73 g/L) recomendada pelo fabricante submetidas a faixa ótima de temperatura (entre 25 e 35 °C) degradou (91,8%) em 48 h. Nas concentrações 3,33 g/L e 6,66 g/L a diferença de degradação do OG é pequena (2,4%) , ou seja, no mesmo tempo de reação (48h) não é recomendado dobrar a concentração do bioaditivo, pois só vai aumentar nos custos do tratamento e não na eficiência.

Fazendo uma análise global dos dados, observou-se que em temperatura mais elevada ($26 \pm 1,6$ °C) e com a menor concentração do bioaditivo (0,83 g/L) comparando com a baixa temperatura ($11,5 \pm 1,5$ °C) e a concentração recomendada pelo fabricante (1,73 g/L) no mesmo tempo de reação (48h) a diferença de degradação de OG de uma para outra foi de apenas 2,2%, ou seja, as atividades enzimáticas dos microrganismos testados tem maior eficiência na faixa ótima de temperatura (entre 25 e 35°C).

Os melhores resultados obtidos durante os experimentos se deu quando os microrganismos foram submetidos a uma faixa de temperatura mais elevada (entre 26 e 29 °C) durante um tempo de reação de 96 horas, onde se degradou 94,6% dos óleos e graxas em relação ao efluente bruto, utilizando uma concentração de 1,73 g/L do bioaditivo.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação do bioaditivo nos permitiu verificar que os microrganismos testados são capazes de degradar $DBO_{5,20}$ e óleos e graxas em temperaturas baixas e altas, podendo ser inseridos nos sistemas de pré-tratamento (caixa de gordura) em qualquer época do ano.

O bioaditivo foi submetido ao decorrer dos ensaios à uma faixa de temperatura que variou entre 10 e 29 °C, entre essa faixa de temperatura obteve-se bons resultados de degradação de óleos e graxas (entre 75,5 e 94,6 %), porém quando variou-se a concentração do bioativo pode-se observar que a temperatura influencia nas suas atividades enzimáticas, uma menor concentração de microrganismos (0,83 g/L) são capazes de degradar maiores níveis óleos e graxas se submetidos à temperaturas mais elevadas ($26 \pm 1,5$ °C).

De acordo com os resultados obtidos dos ensaios, o bioaditivo testado mostrou-se capaz de atuar em temperaturas altas e baixas mas principalmente em temperaturas mais elevadas, podendo ser inseridos nas caixas de gordura afim de ajudar no pré-tratamento e, com isso, evitar que altos níveis de óleos e graxas cheguem nas estações de tratamento de efluente e no meio ambiente. Para a determinação da concentração ideal do bioaditivo, deve ser consultado rigorosamente as recomendações do fabricante, bem como as características do efluente.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para uma confirmação mais abrangente da eficiência do bioaditivo, são sugeridos os seguintes estudos:

- Estudar a viabilidade do uso do bioaditivo em pré-tratamento de efluentes.
- Variar a concentração do bioaditivo e testar a eficiência no tempo de melhor degradação (96h).
- Submeter o bioaditivo em outro tipo de efluente (ex.: indústria petroquímica).

REFERÊNCIAS

- ABIA, Associação Brasileira de Indústria de Alimentos - **Indústria de alimentos fecha 2018 com crescimento e geração de empregos, 2019**. Disponível em: <https://www.abia.org.br/vsn/> Acesso em: novembro de 2019.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 7229:1993. **Projeto, construção e operação de sistemas de tanques sépticos**. Rio de Janeiro, 1993.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 8160:1999. **Sistemas prediais de esgoto sanitário – Projeto e execução**. Rio de Janeiro, 1999.
- ALVES, S., C., K. **Bacillus subtilis: uma versátil ferramenta biotecnológica**, Scientia Amazonia, v. 7, n.2, B15-B23, 2018.
- BRASIL. MINISTÉRIO do Meio Ambiente - MMA. Resolução CONAMA Nº 463, de 29 de julho de 2014.
- DELATORE. I., J. and MORRITA, M., D. **Avaliação da eficácia dos critérios de recebimento de efluentes não domésticos em sistemas de coleta e transporte de esgotos sanitários em São Paulo**, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/esa/v12n1/a08v12n1.pdf> Acesso em: Novembro, 2019.
- FEITOSA, J. L.I. **Isolamento de microrganismos degradadores de compostos lipídicos de origem vegetal de amostras de águas da barragem do passaúna, situada no município de araucária, paraná**, 2002.54 f. Monografia , 2002.
- FUNASA, Fundação Nacional de Saúde. Manual Prático de Análise de Água. 3ª edição, Brasília, 2009. Disponível em: http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/eng_analAgua.pdf Acesso em: novembro de 2019.
- GURD, E et. al. **Characterisation of food service establishment wastewater and its implication for treatment**, Journal of Environmental Management, 252, 109657, 2019.
- GOG, A., ROMAN, M., TOÇA, M., et al. **Biodiesel production using enzymatic transesterification current state and perspectives**. Renovar. Energ v. 39, p.10–16, 2012.
- GUIMARÃES, V., K., A., et al. **Vi-022 - avaliação estatística da determinação do teor de óleos e graxas em efluente doméstico**, ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2002. Disponível em: https://pdfs.semanticscholar.org/9d8e/c7f4d41a9f5ed78b0175b0d1453d4569f892.pdf?_ga=2.174405218.171024806.1571848932-1315139432.1571848932 Acesso em: Novembro, 2019.
- HABA, E., et. al. **Isolation of lipase-secreting bacteria by deploying used frying oil as selective substrate**. Enzyme and Microbial Technology, v.7, p. 40-44, 2000.
- HAMMER, M. J. **Sistemas de abastecimento de água e esgotos**. Rio de Janeiro, LTC, 1979. 563 p. (Tradução de Water and Wastewater Technology, 1977).

JUNQUEIRA, C., B., W., et. al. **Estudos hidrodinâmicos do escoamento em caixa de gordura empregada no tratamento preliminar dos efluentes de cozinha industrial**, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/esa/v22n5/1809-4457-esa-22-05-00911.pdf> Acesso em: Novembro, 2019.

KARL, E.J. and EGGERT, T. **Lipases for biotechnology**. Institute for Molecular Enzyme Technology, v.13, p.390-397,2002.

KUO, T. C., SHAW, J. F., LEE, G. C. **Conversion of crude Jatropha curcas seed oil into biodiesel using liquid recombinant Candida rugosa lipase isozymes**. Bioresour. Technol. v.192, p. 54–59, 2015.

LAURENTI, A. **Qualidade de água I**. Departamento de engenharia sanitária e ambiental, Universidade federal de Santa Catarina, p. 83-87, 1997.

LEE, L.; TIN, S.; KELLEY, S.T. **Culture-independent analysis of bacterial diversity in a child-care facility**. Biomedical Central, v.7, p. 1-13, 2007.

LIPPEL, L.I. **Gestão de custos em restaurantes – utilização do método abc**.168 f. Mestrado,2002.

MACÊDO, J. A. B. **Programa de Bioaugmentação (bioaugmentation), uma tecnologia avançada para tratamento de efluentes laticínios**. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v.55, n.315, p. 47-52, jul/ago 2000.

MERCADO E CONSUMO – Pesquisa CREST®: Foodservice brasileiro segue tendência de crescimento,2019. Disponível em: <https://www.mercadoeconsumo.com.br/> Acesso em: novembro de 2019.

MOGAMI, Sandra. **Caixa de gordura de restaurantes**. Hydro, São Paulo, p. 06, set. 2017.

NAZ, Z. **Introduction to biotechnology**. Institute of Molecular Biology and Biotechnology, Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan, 2015.

OLIVEIRA, J. P. et al. **Caracterização físico-química de resíduos oleosos do saneamento e dos óleos e graxas extraídos visando a conversão em biocombustíveis**. Química Nova, v. 37, n.4, São Paulo, 2014.

ORSSATO, F.; HERMES, E.; VILAS BOAS, M.A. **Eficiência da remoção de óleos e graxas de uma estação de tratamento de esgoto sanitário**, Cascavel. Engenharia Ambiental, Espírito Santo do Pinhal, v. 7, n. 4, p. 249-256, 2010.

PAULSEN, T., I., PRESS, M., C., and LOPER, E. **Complete genome sequence of the plant commensal *pseudomonas fluorescens* pf-5**, Nature Biotechnology, v.23, p. 873-878, 2005.

ROSA, J. **Programa de Bioaugmentação para Aplicação em Processos Biológicos de Tratamento de Águas e Resíduos Orgânicos em Geral**. Revista Nacional da Carne, n. 223, p. 48-50, setembro, 1995.

SABESP, Saneamento Básico do Estado de São Paulo -Norma Técnica Interna SABESP NTS 005. São Paulo: SABESP, 1997.

SALIHU, A.; ALAM, M.Z.; ABDULKARIM, M. I.; SALLEH, H. M. **Lipase production: an insight in the utilization of renewable agricultural residues**, v.58, p.36–44,2012.

SCHALLMEY, M., SINGH, A. and WARD, O. P. **Developments in the use of *Bacillus* species for Industrial Production**, Canadian Journal Microbiology, v.50, p. 1-17, 2004.

SEBRAE, Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas – Bares e restaurantes: um setor em expansão, Brasília: Sebrae, 2016. Disponível em: www.sebrae.com.br Acesso em: novembro de 2019.

TEXAS CHEMICAL. **Ficha técnica RP BACTEX**, 2019. Disponível em: <http://texaschemical.com.br/> Acesso em: novembro 2019.