

Sequence of the experimental stages posit.

Fonte: Autores (2018)

TRATAMENTO DE RESÍDUOS DE FORMALDEÍDO POR MEIO DE TÉCNICAS FÍSICAS E BIOLÓGICAS

Beatriz C. de Oliveira Vieira, Marilha Caetano de Lima* e Marina Bez Gório, André Luis Fachini de Souza, Anelise Destefani, Cristiane Vanessa Tagliari Corrêa.

Curso Técnico em Química, Instituto Federal Catarinense - *Campus Araquari*, Rodovia BR 280 - Km 27 - 89245-000 - Araquari-SC, Brasil.

(X) Manuscrito com material suplementar

() Manuscrito sem material suplementar

*e-mail: marilhacaetano@gmail.com

TREATMENT OF FORMALDEHYDE RESIDUES BY PHYSICAL AND BIOLOGICAL TECHNIQUES

The formaldehyde is a liquid extremely irritant to the mucous membranes and very aggressive to the environment, due to its high toxicity and volatilization. Currently, Instituto Federal Catarinense - *Campus Araquari*, has no viable techniques for the recovery and treatment of aqueous solutions of formalin for use in the anatomy laboratory. In order to minimize the costs involved and the environmental impacts generated, physical and biological tests involving sewage sludge residues were carried out to treat the effluent produced in institutional activities. Biological tests were carried out to prospect for microorganisms from activated sludge, where only fungi resistant to concentrations of 0.1% formaldehyde were isolated. It is presumed that this fungus belongs to the genus *Aspergillus*, due to structural similarities and the resistance itself to the antimicrobial action of the formalin. Also, the possibility of generating activated carbon from the sludge cake was tested. However, it was mineralized rather than carbonized, a factor that prevented the formation of coal and the possible use as an adsorbent.

Keywords: Formaldehyde; Sewage Sludge; Active Carbon; Treatment; Fungal Resistance.

INTRODUÇÃO

A contaminação dos recursos hídricos proveniente do despejo indevido de formaldeído resulta em uma cadeia de problemas ambientais e de saúde pública. A formalina (CH_2O) é um composto orgânico extremamente tóxico e volátil, largamente utilizado em solução aquosa na conservação de peças anatômicas empregadas em laboratórios de anatomia humana e animal. O descarte inadequado de efluentes domésticos ou industriais pode levar a desequilíbrios ambientais, exigindo-se assim tratamento prévio.¹ Esses efluentes são recebidos e tratados em estações de tratamento de esgoto (ETEs), cujo principal processo de tratamento é a nitrificação, que utiliza microrganismos nitrificantes para a remoção de formas reduzidas de nitrogênio e de organismos degradantes de matéria orgânica. A matéria sólida, contendo a massa microbiana, proveniente do processo de tratamento, se deposita formando o lodo ativado.²⁻⁴ Este lodo, na sequência, é desidratado e torna-se a torta de lodo, a qual não possui aplicação direta pelas ETEs e representa um custo para a destinação.⁵ Uma alternativa viável para este descarte seria a produção de carvão a partir da torta de lodo e a exploração da massa microbiana do lodo ativo para o tratamento e recuperação de efluentes contaminados com formol.⁵⁻⁸ Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi buscar formas alternativas (física e biológica) para tratar resíduos de formaldeído. Assim, buscou-se isolar microrganismos a partir de lodo ativado capazes de metabolizar formaldeído, além da preparação de carvão ativado a partir da torta de lodo, com o intuito de tratar fisicamente amostras aquosas de formaldeído provenientes da conservação de peças anatômicas do laboratório de anatomia do IFC *Campus* Araquari.

PARTE EXPERIMENTAL

Amostragem

As amostras de efluentes de formol foram coletadas no laboratório de anatomia do IFC - *Campus* Araquari, onde estão acumulados quatro galões de 50 L cada, contendo resíduos de formalina com concentração desconhecida. Foram coletadas duas amostras de um litro de apenas um dos galões, selecionado aleatoriamente. As amostras foram preservadas em frascos escuros de capacidade para um litro e armazenadas sob refrigeração a 6°C.

As amostras de lodo ativado e torta de lodo foram obtidas a partir da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) do Serviço Autônomo Municipal de Água e Esgotos (SAMAE), localizada no município de Jaraguá do Sul - SC, bairro São Luís. Essas amostras foram armazenadas em recipientes de três litros e mantidas refrigeradas à 6°C.

Caracterização Físico-Química do Efluente de Formol

A caracterização dos resíduos de formol foi realizada considerando-se os seguintes parâmetros físico-químicos: pH, Demanda Química de Oxigênio (DQO) e sólidos totais. Os procedimentos foram executados como descrito pelo *Standart Methods for Examination of Water of Wastewater*.⁹

Isolamento de Microrganismos e Preparação de Carvão Ativado

As amostras de lodo ativado e torta de lodo coletadas na ETE foram utilizadas para a prospecção e isolamento de microrganismos com potencial para degradação de formaldeído e preparação de carvão ativado para o tratamento físico de resíduos de formol.

Prospecção e Isolamento Microbiano

A prospecção e isolamento de microrganismos capazes de degradar resíduos de formaldeído a partir de lodo ativado foi primeiramente realizado em meios de cultivo sólido ágar nutriente (extrato de carne 1,0 g.L⁻¹; extrato de levedura 2,0 g.L⁻¹; peptona 5,0 g.L⁻¹; NaCl 5,0 g.L⁻¹ e ágar 15,0 g.L⁻¹, pH 6,8) para o crescimento de bactérias e ágar Sabouraud Dextrose (peptona 10,0 g.L⁻¹; D-glicose 40,0 g.L⁻¹ e ágar 15,0 g.L⁻¹, pH 5,3) para o crescimento fúngico. Uma amostra de 1,0 mL de lodo ativado foi semeada nos meios, seguido de incubação a 30°C por 24 a 48 horas, ou até a observação do crescimento de microrganismos. Estes foram então repicados e inoculados em meio livre e suplementado com formaldeído (0,1%, 0,5% e 1,0%) e seu crescimento foi monitorado por 5 dias. A caracterização microscópica dos isolados foi efetuada de acordo com a metodologia proposta pela ANVISA, módulo VII.¹⁰ Primeiramente, colocou-se sobre uma lâmina para microscopia esterilizada um cubo de meio de cultivo ágar Sabouraud Dextrose. Os fungos foram semeados em duplicata a partir de repiques nos quatro lados dos cubos de ágar e recobertos com uma lamínula esterilizada e mantidos em um placa de Petri esteril. Uma câmara úmida foi feita adicionando 1,0 a 2,0 ml de água destilada esteril no fundo de cada placa para que se evitasse o ressecamento do meio de cultura durante o crescimento do fungo (Figura 1). Por fim, as placas foram tampadas e incubadas à 30°C em torno de 5 a 7 dias, até que o crescimento das hifas fossem observadas.

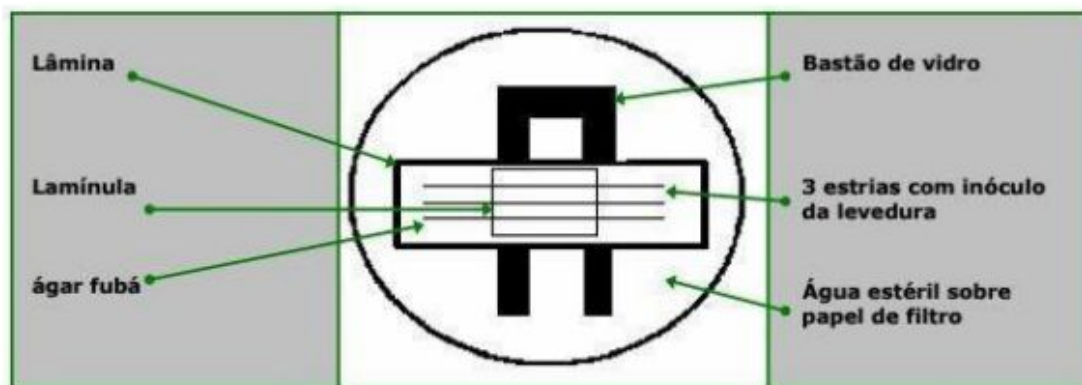


Figura 1. Método de isolamento de fungo para posterior caracterização

Fonte: ANVISA (2004)

Os microrganismos isolados a partir de meio de cultivo suplementado com formaldeído foram também inoculados em meio líquido (Caldo Sabouraud Dextrose), suplementado com a mesma concentração de formaldeído para acompanhamento do crescimento celular. O crescimento microbiano foi monitorado espectrofotometricamente no comprimento de onda de 660 nm.

Para o armazenamento, a espécie fúngica isolada foi cultivada em caldo Sabouraud Dextrose nas mesmas condições descritas acima, seguido da adição de glicerol para uma concentração final de 50% e armazenamento à -20°C.

Produção de Carvão Ativado

O carvão ativado foi preparado por meio da carbonização total de aproximadamente 30 g da torta de lodo (lodo desidratado) durante variadas temperaturas e intervalos de tempo (800°C/2h, 800°C/3 h, 800°C/6h e 1000°C/5h) em forno mufla.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização das amostras de resíduo de formaldeído

Primeiramente, caracterizou-se os resíduos de formaldeído provenientes do laboratório de anatomia do IFC Araquari. Os valores de pH medidos se mostraram relativamente baixos, assim como os valores de sólidos suspensos totais (SST) (Tabela 1), quando comparados com os dados obtidos por Limberger (2011), (cujas amostras apresentaram sólidos totais variando entre 2.300 mg/L e 7.414 mg/L) para análise de um resíduo semelhante. Em relação a DQO, os resultados se mantiveram dentro dos valores relatados na literatura, uma vez que conhecendo-se o teor de matéria orgânica, é possível definir o melhor tratamento para o resíduo.

Tabela 1 - Resultados das análises físico-químicas das amostras de resíduos

Amostras	pH	SST (mg.L ⁻¹)	DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)
1	3,69	2420	8767.23
2	4,16	2380	9486.41

Fonte: Autores (2018)

As amostras apresentaram baixo pH, que segundo Limberger (2009), provoca mudança na coloração da solução, como visualizado no tom amarelado das amostras.¹² Os baixos valores de SST devem-se ao fato da amostragem ter sido feita mais superficialmente, não abrangendo completamente os sólidos decantados, apesar do galão de armazenamento do efluente ter sido agitado para homogeneização no momento da coleta de amostra.

Prospecção e Isolamento de Microrganismos Resistentes à Formaldeído

Por meio da metodologia utilizada para a pesquisa e isolamento de microrganismos a partir de meios de cultivo suplementados com formaldeído, não foi observado crescimento bacteriano. Entretanto, foi observado apenas o crescimento de fungos filamentosos a partir das amostras de

lodo ativado (Figura 2). Fungos filamentosos precisam da metade da quantidade de nitrogênio que as bactérias necessitam, sendo assim, este seria um fator que os deixam em vantagem sobre as mesmas.¹³ Isso sugere que a amostra de lodo ativado utilizado para a prospecção de microrganismos possuía uma carga fúngica com vantagem competitiva em comparação às bactérias, aumentando a possibilidade de isolamento de espécies fúngicas resistentes à formaldeído em detrimento do isolamento de espécies bacterianas.

Outro fator que acentua o maior desenvolvimento fúngico observado é a menor sensibilidade dos fungos filamentosos, pois são capazes de se proliferarem em lodos ativados com carência de nutrientes e pH ácido.¹⁴ Logo, mesmo que as bactérias constituem aproximadamente 95% da biomassa microbiana, supõem-se que as mesmas não tiveram mais nutrientes disponíveis para a sua proliferação devido a ausência de matéria orgânica disponível na fração sólida do lodo coletado.^{14,15}



Figura 2. Fungo filamentoso isolado de amostra de lodo ativado

Fonte: Autores (2018)

Para a avaliação do crescimento celular, a difusão da espécie fúngica isolada foi monitorada em meio sólido ágar Sabouraud Dextrose suplementado com 0,10, 0,50 e 1,0% de formaldeído, através da medição do diâmetro de crescimento micelial (Tabela 2) - uma vez que o papel filtro utilizado para a inoculação continha 6 mm- assim como o caldo Sabouraud suplementado com as mesmas concentrações de formaldeído, o qual foi avaliado pela densidade óptica ao longo do tempo (Tabela 3).

Tabela 2 - Diâmetro do crescimento fúngico em placa de petri com meio sólido

Tempo (dias)	Diâmetro (mm)			
	0%	0,1%	0,5%	1,0%
0	6	6	6	6
1	60	6	7	7
2	90	6	7	8

3	91	6	7	8
4	92	6	7	8

Tabela 3 - Absorbância lida em espectrofotômetro do crescimento fúngico em caldo Sabouraud

Tempo (dias)	Absorbância (%)			
	0,0%	0,1%	0,5%	1,0%
-----	0,0%	0,1%	0,5%	1,0%
1	1,017	0,075	0,06	0,086
2	1028	0,008	0,006	0,003
3	1180	0,007	0,011	0,009
4	1304	0,049	0,054	0,06

Com base nos resultados, pode-se observar que não houve crescimento significativo em nenhuma das concentrações, tanto no meio líquido quanto no sólido. Apesar da espécie fúngica ter sido isolada em meio de cultivo contendo 0,2% de formaldeído, o pequeno crescimento observado nos meios sólidos e líquidos sugerem que, apesar de resistir à presença de formaldeído, houve inibição do crescimento, uma vez que na ausência do formol, a espécie isolada volta a se desenvolver normalmente.

Paralelo a isso, testes preliminares de inoculação do fungo resistente à 0,2% nas amostras coletadas do laboratório, foram realizadas apresentando um aumento significativo da absorbância da solução no intervalo de sete dias. A leituras da amostra com o fungo inoculado aumentou mais do que o dobro da absorbância feita no primeiro dia de observação - de 0,329 para 0,827-, indicando que a concentração média dos resíduos possa estar em torno de 0,2%.

Caracterização dos Microrganismos Resistentes

A caracterização das espécies fúngicas isoladas foi baseada no microcultivo para fungos filamentosos descrita pela ANVISA no módulo VII.¹⁰ Os resultados apontaram aparentemente para a presença de dois tipos de fungos, um obtido diretamente da amostra de lodo coletada sem suplementação (Figura 3 - A) e outro isolado a partir de amostra de lodo (50 mL) suplementada com 0,2% de formol (Figura 3 - B).

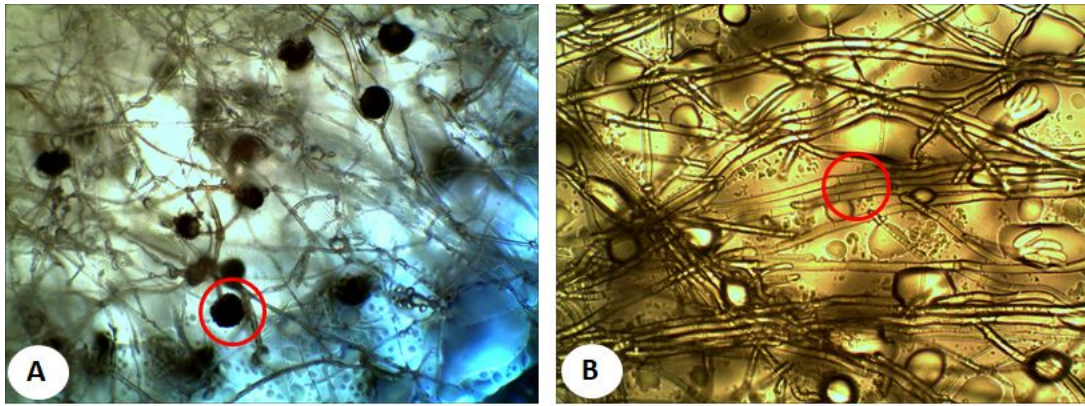


Figura 3. Estruturas fúngicas encontradas após observação microscópica

Fonte: Autores (2018)

Legenda:

A- Fungo cultivado em meio suplementado com concentração de 0,2% de formol

B - Fungo cultivado em meio isento de formol

As imagens obtidas permitem a observação da possível presença de células melanizadas com hifas hialinas e septadas (Figura 3-A) nas estruturas fúngicas dos fungos semeados em meio de cultivo suplementado. Este fungo apresenta grande taxa de crescimento, tanto pelo fato de ocupar completamente a placa de cultivo em apenas dois dias, assim como pela quantidade de esporos visualizados em sua estrutura, o que o caracterizaria como fungo filamentososo, facilitando seu cultivo e proliferação.¹⁶

O segundo fungo foi isolado a partir da amostra de lodo ativado suplementado com formol. Identificou-se a presença de hifas hialinas septadas (Figura 3 - B), porém, em comparação com o primeiro, não apresentou células melanizadas em sua estrutura, nem crescimento filamentososo, exprimindo sua menor velocidade de proliferação.

As colônias formadas pelo fungo observado assemelham-se ao processo de formação de colônias do fungo do gênero *Aspergillus* (Figura 5), frequentemente presente em ambientes com climas tropicais e subtropicais, cuja principal característica macroscópica utilizada para a sua caracterização é o crescimento de forma expressiva à olho nu, podendo apresentar pigmentos verdes, marrons, cinzas, pretos, brancos e amarelos, em suas colônias.¹⁷⁻¹⁹ Neste caso, a coloração observada no crescimento fúngico foi marrom e branca (Figura 3).

Quanto à sua caracterização microscópica, este gênero possui hifas hialinas septadas, com ramificações e produção de conídios, apresentando conidióforos com vesículas terminais compostas por conídios (Figura 4) que assumem formatos hemisféricos, esféricos, alongados ou elípticos, semelhantes às estruturas circulares destacadas encontradas no fungo isolado da Figura 3 -A.^{20,21}

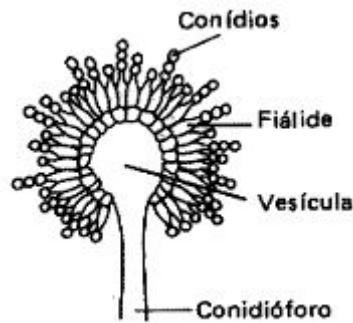


Figura 4. Estrutura fúngica de fungos do gênero *Aspergillus*

Fonte: Minter (1985)²²

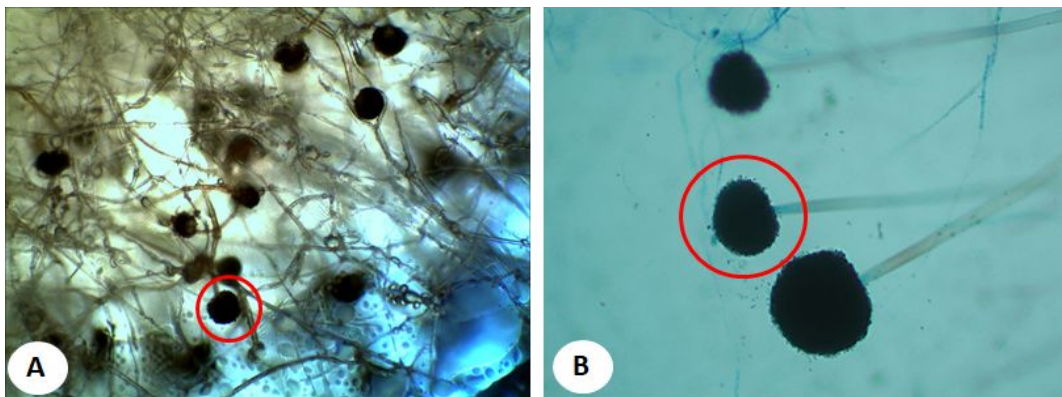


Figura 5. Comparação das estruturas fúngicas do microrganismo isolado com *Aspergillus niger*

Legenda:

A - Fungos isolado cultivado em meio suplementado com formol 0,2%

B - Fungo *Aspergillus niger* isolado e cultivado.²³

Supõem-se que o fungo A encontrado faça parte do gênero dos fungos *Aspergillus*, pois além das semelhanças estruturais, como a presença de conidióforos e conídios comparados na figura 5 acima, este gênero já demonstrou resistência à ação antimicrobiana do formol em diferentes concentrações em estudos realizados por Przybysz e Scolin (2009) e Spitcher e Peters (1976).^{24,25}

Resistividade fúngica ao formol

Segundo Chen *et al* (2016), o formaldeído tem ação tóxica nas células principalmente por conta da sua alta reatividade como eletrólito.²⁶ Na célula, o composto reage rapidamente com grupos livre de amina e tiol, em proteínas e DNA. Quando o formaldeído é exposto aos componentes celulares,

graves danos são gerados nas proteínas e no próprio DNA, por meio da formação de adutos irreversíveis de formaldeído, ligações cruzadas proteína-proteína, DNA-DNA e DNA-proteína.²⁷⁻³⁶

Desta forma, quando em contato com a superfície das células fúngicas que possuem diferentes grupos funcionais, como amina (-NH₂), hidróxido (-OH), carboxila (-COOH), tióis (-SH) e fosfato (-PO₄³⁻), o formol reage com estes promovendo a morte dos microrganismos.³⁷ Entretanto, foi identificado que fungos do tipo *Aspergillus niger* apresentam resistência ao formol utilizado a 10% nos laboratórios de anatomia.²⁴

Fungos do gênero *Aspergillus* exibem propriedades de remoção de metais pesados do ambiente, justamente por apresentarem maior resistência à substâncias tóxicas, proporcionando seu desenvolvimento em meios com altas concentrações destes elementos.³⁸ Especificamente, o *Aspergillus niger* é conhecido por produzir grandes quantidades de citrato e gluconato, sendo estes capazes de lixiviar ou precipitar metais como cobre, zinco e outros de cinzas de resíduos sólidos urbanos incinerados por lixiviação de ácido orgânico.³⁹ Porém, seus verdadeiros mecanismos de remoção de compostos tóxicos do ambiente ainda são desconhecidos.⁵

A bioacumulação de metais por microrganismos ocorre principalmente por fenômenos de superfície, tendo adsorção, de forma estequiométrica, com os radicais aniônicos dos envoltórios celulares, na qual pode haver precipitação ou não dos mesmos.⁴⁰

Assim, como a remoção de metais pesados do meio ambiente pode ser feita também por meio de atividade metabólica através do transporte pela membrana plasmática, reforçado pelo fato dos fungos filamentosos serem microrganismos adequados para a degradação de hidrocarbonetos, sugere-se que produtos metabólicos, como enzimas extracelulares, possam ter sido geradas pela espécie fúngica isolada neste trabalho para degradar o carbono presente no formol.^{5,41} Isso permite a incorporação do mesmo em suas atividades metabólicas, resultando no crescimento volumoso em meio fermentado com formol a 0,2%. Também, foram encontrados alguns produtos metabólicos gerados pelo fungo *Aspergillus niger* ao degradar sacarose, a qual é hidrolisada pelo seu potente micélio ativo em pH ácido.^{5,42}

Produção de Carvão Ativado

Pirólise e rendimento da amostra

Após a carbonização de todas as amostras, independente da diferença de temperatura e tempo de exposição, ambas demonstraram produtos não carbonizados (Figura 6), com média de rendimento de 1,81% em massa, muito menor do que o rendimento encontrado por Reis (2015) de 23,87% e Chen *et al* (2015) de 17,71 a 28,35%, diferenças que podem ser atribuídas à constituição e propriedades físico-químicas dos lodos utilizados e condições da pirólise.^{11,43} O produto apresentou caráter argiloso, de cor laranja avermelhada, e nenhum sinal de queima de matéria orgânica.



Figura 6. Amostra mineralizada de torta de lodo após 2h em 800 °C

Fonte: Autores (2018)

Para que o processo de obtenção de carvão ativado seja realizado com sucesso, as amostras devem conter alto grau de decomposição e baixo teor de cinzas (matéria inorgânica).⁴⁴ Após o processo de pirólise, a não volatilização e retenção dos compostos inorgânicos na amostra indicam o alto teor de cinzas, dado que estes compostos fixam-se na superfície da amostra do material carbonáceo.⁴⁵

Carvão Ativado é, geralmente, microporoso, contendo também macro e mesoporos, que são de extrema importância para a acessibilidade das moléculas do adsorbato para o interior das partículas, principalmente em fase líquida.⁴⁶ Esse carvão ativado é preparado a partir de um material carbonáceo poroso que deve apresentar uma forma microcristalina, não grafitica.^{46,45}

Como pode-se observar na figura 6, o produto final gerado ao término da queima não apresentou aspecto carbonáceo, pois o processo de carbonificação produz uma massa de carbono fixa e uma estrutura porosa primária. Pelo contrário, apresentou aspecto argiloso.^{45,47} Quando há fração argilosa, esta apresenta CTC (troca de cátions), logo, o material fica submetido à condições climáticas que favorecem a mineralização da matéria orgânica presente.⁴⁸ Desta forma, o aspecto argiloso é um indicativo de mineralização da matéria orgânica, inviável para o processo de carbonificação.

Uma forma de aprimorar o processo de pirólise do carvão ativado, obtendo-se ao final da queima um material carbonificado sem a interferência de materiais inorgânicos, é a separação entre matéria orgânica e matéria inorgânica por processos de beneficiamento, utilizando-se a lavabilidade, um parâmetro extremamente importante da grade dos carvões.⁴⁹

CONCLUSÃO

Foi isolada uma espécie fúngica resistente à formaldeído na concentração de 0.2%, que posteriormente foi inoculada em amostras de resíduo de formol - coletadas do laboratório de anatomia - apresentando crescimento significativo na solução, indicando que a mesma deva possuir em torno de 0,2% de formol. Presume-se que para o fungo resistir a essa concentração baixa, tenha adaptado seu processo metabólico utilizando o carbono presente no formol, assim como Carvalho e Vieira (2011) encontrou produtos metabólicos gerados pelo fungo *Aspergillus niger* ao degradar sacarose.⁵ Na tentativa de produção de carvão ativado, com o baixo rendimento alcançado (1,81%) de massa final em relação à inicial, e com base nos aspectos resultantes da queima do material, concluiu-se que se faz necessário um tratamento prévio da amostra, para que os componentes orgânicos e inorgânicos possam ser separados a fim de que se evite a mineralização da mesma. Embora ambos os testes não tenham sido aplicados diretamente na recuperação ou tratamento do efluente, este trabalho colocou luz a um problema rotineiro em um dos laboratórios da instituição, evidenciando assim, os riscos ao meio ambiente e a necessidade de políticas de recuperação e minimização da utilização da água no *Campus*, bem como a preocupação com o passivo ambiental gerado a partir das atividades institucionais.

AGRADECIMENTOS

Ao orientador A. L. S. Fachini, que tanto se esforçou para garantir total atenção às demandas do projeto.

Às co-orientadoras A. Destefani e C. Tagliari, por sempre estarem dispostas a colaborar para o avanço da pesquisa deste trabalho.

Aos técnicos de laboratório V. Z. Baldissarelli e A. Garcia , que compartilharam de suas experiências e conhecimentos profissionais em prol do sucesso dos resultados e aprendizado das alunas.

Aos técnicos da Estação de Tratamento de Esgoto do bairro de São Luís, em Jaraguá do Sul, Santa Catarina, que se disponibilizaram a auxiliar nas coletas dos materiais utilizados.

REFERÊNCIAS

¹ COLEMAN, R. Reducing the levels of formaldehyde exposure in gross anatomy laboratories. *Anat. Rec.*, 243. Israel, **1995**.

² FILHO, H. A. *Nitrificação em sistemas de lodo ativado*. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental da Universidade Federal de Campina Grande, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre. Campina Grande, fev., **2009**.

³ ANDREOLI, C. V. *et al.* *Lodo de esgoto: tratamento e disposição final*. UFMG/SANEPAR. P. 483. Belo Horizonte, **2001**.

⁴ PING, F., *et al.* Carbonaceous adsorbents prepared from sewage sludge and its application for Hg⁰. *Chin. J. Chem. Eng.*, v. 18, **2010**.

- ⁵ CARVALHO, M. B. & VIEIRA, G. E. G. *Características e utilização de adsorvente carbonoso obtido em processo de pirólise a partir de lodo de ETE - uma revisão*. *Biomassa & Energia*, v. 4, n. 2, p. 113-120, **2011**.
- ⁶ COELHO, M. *Formaldeído em ambiente laboral: determinação do ácido fórmico em urina de trabalhadores de uma fábrica produtora de formaldeído*. Dissertação de Mestrado em Toxicologia Analítica, Clínica e Forense. Universidade do Porto, Portugal, **2009**.
- ⁷ INDUKERN. Ficha de informações sobre produtos químicos. *Formol*. **2008**. Disponível em: <www.indukern.com.br> Acessado em: maio de 2018.
- ⁸ VIEIRA, G. R. G. *et al.* Low temperature conversion (LTC) - An alternative method to treat sludge generated in an industrial wastewater treatment station - Batch and continuous process comparison. *Bioresour. Technol.*, v. 100, n.4., p. 1544-1547, **2009**.
- ⁹ APHA; AWWA; WPCF. *Standart methods for the examination of water and wastewater*. 20. ed. Washington: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation. **1998**.
- ¹⁰ ANVISA. RESOLUÇÃO RDC N° 306, DE 7 DE DEZEMBRO DE 2004. *Ministério da Saúde*. Brasil, **2004**.
- ¹¹ REIS, G. S. *et al.* Produção de carvão ativado a partir de lodo de esgoto doméstico e sua aplicação na adsorção do corante preto remazol 5 em solução aquosa. *Revistas UniBH*, v. 8, n. 2, pg. 15-23. Belo Horizonte, **2015**.
- ¹² LIMBERGER, D.C.H. *Processos de recuperação, reuso e destinação do formol em laboratório de anatomia*. Universidade Federal de Santa Maria/RS, **2011**.
- ¹³ MCKINNEY, R. E. *Environmental Pollution Control Microbiology*. New York: Marcel Dekker. 468p. **2004**.
- ¹⁴ GERARDI, M. H. *Wastewater Bacteria*. New Jersey: John Wiley & Sons, 272 p. **2006**.
- ¹⁵ ABREU, A. A. V. *Identificação de Bactérias Filamentosas em Processos de Lamas Activadas através da Técnica de Hibridização in-situ de Fluorescência (FISH)*. Portugal, **2004**.
- ¹⁶ GUIMARÃES L. H. S. *et al.* Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. *Braz. J. Microbiol.*, São Paulo, **2006**.
- ¹⁷ KLICH *et al.* Biogeography of *Aspergillus* species in soil and litter. *Mycologia*, New York, v. 94, n. 1, p. 21-27, **2002**.
- ¹⁸ PITT, J. I. & HOCKING, A. D. *Fungi and food spoilage*. 2nd ed., ch. 3. Londres, **1997**.
- ¹⁹ MONTEIRO. *Identificação de fungos do gênero Aspergillus e Penicillium em solos preservados do cerrado (UFLA)*, 76 p. Minas gerais, **2012**.
- ²⁰ POESTER *et al.* *Isolamento e identificação de fungos do gênero aspergillus spp. de água utilizada na reabilitação de pinguins-de-magalhães*. Rio Grande do Sul. v.16, n.4, **2015**.
- ²¹ CARVALHO, L. I. C. *Aspergillus e aspergilose - Desafios no combate da doença*. Universidade Fernando Pessoa. Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Porto, **2013**. Acesso em: 23/10/2018. Disponível em: <<https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/4166/1/Aspergillus%20e%20aspergilose%20final.pdf>>
- ²² MINTER, D. W., *et al.* *Descriptive terminology of the conidiogenous structures in Aspergillus and Penicillium*. In: Samson RA, Pitt JJ. *Advances in Penicillium and Aspergillus systematics*. New York, Plenum Press, **1985**.

- ²³ WILLIAM MCDONALD, M.D. *A Resident's Fungal Morphology. Aspergillus species*. **2001**. Acesso em: 26/10/2018. Disponível em: http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung_morph/fungal_site/asperpage.html
- ²⁴ PRZYBYSZ, C. H., SCOLIN, E. *Avaliação do formaldeído como fungicida no laboratório de anatomia humana*. Revista F@pciência, v.5, n. 12, p. 121 - 133. Apucarana - PR, **2009**. Acesso em: 24/10/2018. Disponível em: http://www.fap.com.br/fapciencia/005/edicao_2009/012.pdf
- ²⁵ SPITCHER, G. & PETERS, J. Microbial resistance to formaldehyde. I. Comparative quantitative studies in some selected species of vegetative bacteria, bacterial spores, fungi, bacteriophages and viruses. *Zentralbl. Bakteriol., Mikrobiol. Hyg.; Abt. 1, Orig. B*, B163, p. 486-508, **1976**.
- ²⁶ CHEN, N. H. *et al.* **Formaldehyde Stress Responses in Bacterial Pathogens**. *Front Microbiol.* 7:257, 2016. Acesso em: 24/10/2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4776306/>
- ²⁷ FELDMAN, M. Y. Reactions of nucleic acids and nucleoproteins with formaldehyde. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 13 1–49, **1973**.
- ²⁸ CONAWAY, C. C., WHYSNER, J., VERNA L. K., WILLIAMS, G. M. Formaldehyde mechanistic data and risk assessment: endogenous protection from DNA adduct formation. *Pharmacol. Ther.* **1996**.
- ²⁹ KLATT, P., LAMAS, S. . Regulation of protein function by S-glutathiolation in response to oxidative and nitrosative stress. *Eur. J. Biochem.* **2000**.
- ³⁰ MORAN, L. K., GUTTERIDGE, J. M. C., QUINLAN, G. J. Thiols in cellular redox signalling and control. *Curr. Med. Chem.* **2001**.
- ³¹ PAGET, M. S. B., BUTTNER, M. J. *Thiol-based regulatory switches*. *Annu. Rev. Genet.* **2003**. KLICH, M. A. Biodegraphy of *Aspergillus* species in soil and litter. *Mycologia*, Nem York, v.94, n. 1, p. 21-27, **2002**.
- ³² HECK, H. D., CASANOVA, M., STARR, T. B. Formaldehyde toxicity – new understanding. *Crit. Rev. Toxicol.* **1990**.
- ³³ LU, K., *et al.* Distribution of DNA adducts caused by inhaled formaldehyde is consistent with induction of nasal carcinoma but not leukemia. *Toxicol. Sci.* **2010**.
- ³⁴ SOLOMON, M. J., VARSHAVSKY, A. Formaldehyde-mediated DNA protein crosslinking – A probe for in vivo chromatin structures. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1985**.
- ³⁵ LOSHON, C. A., *et al.* Formaldehyde kills spores of *Bacillus subtilis* by DNA damage and small, acid-soluble spore proteins of the alpha/beta-type protect spores against this DNA damage. *J. Appl. Microbiol.* **1999**.
- ³⁶ CASANOVA, M., *et al.* DNA-protein cross-links and cell replication at specific sites in the nose of F344 rats exposed subchronically to formaldehyde. *Fundam. Appl. Toxicol.* **1994**.
- ³⁷ VOLESKY, B. *Removal and recovery of heavy metal biosorption*. Department of Chemical Engineering, Montreal, Quebec, Canada, **1990**. Acesso em: 25/10/2018. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=doFIZsR2LQEC&oi=fnd&pg=PA7&dq=Removal+and+recovery+of+heavy+metals+by+biosorption+volesky&ots=UvduFroo8_&sig=SIHTX6bV3M0Rl6kU7jAfiduBnSM#v=onepage&q=Removal%20and%20recovery%20of%20heavy%20metals%20by%20biosorption%20volesky&f=false

- ³⁸ BLUMER, S. A. G. *Enriquecimento com ferro em levedura Saccharomyces cerevisiae*. Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade de São Paulo, São Paulo, **2002**. Acesso em: 25/10/2018. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-21112002-161816/publico/Solange.pdf>>
- ³⁹ PRICE, M. S., CLASSEN J. J., PAYNE G. A. *Aspergillus niger* absorbs copper and zinc from swine wastewater. *Bioresour. Technol.*, **2001**.
- ⁴⁰ VOSS, M., *et al.* Sorção de cobre e manganês por bactérias rizosféricas do trigo. *Ciênc. Rural*, **2001**. Acesso em: 25/10/2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782001000600004&lng=en&nr m=iso&tlng=pt>
- ⁴¹ ARAÚJO, F. S. M. *Isolamento e identificação de fungos degradadores de petróleo*. UFF, Engenharia Química, s. d. Acesso em: 25/10/2018. Disponível em: <<http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/cetem/850/1/Flavia.pdf>>
- ⁴² KUBICEK, C. P., *et al.* Evidence for a cytoplasmatic pathway of oxalate biosynthesis in *Aspergillus niger*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **1998**. Acesso em: 25/10/2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC202517/>>
- ⁴³ CHEN, J. *et al.* Removal of Dye Wastewater COD by Sludge Based Activated Carbon. *J. Coastal Res.*, Vol. 71, 1-3, **2015**.
- ⁴⁴ CLAUDINO, A. *Preparação de Carvão Ativado a partir de Turfa e sua Utilização na Remoção de Poluentes*. Dissertação de Pós-graduação. Florianópolis, **2003**.
- ⁴⁵ RAMOS, P. H., *et al.* Produção e caracterização de carvão ativado produzido a partir do defeito preto, verde, ardido (PVA) do café. *Quím. Nova* vol.32 no.5. São Paulo, 2009. Acesso em: 25/10/2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000500011>
- ⁴⁶ BOONAMNUAYVITAYA, V., CHAIYA, C.; TANTHAPANICHAKOON, S.; J. The Preparation and Characterization of Activated Carbon from Coffee Residue. *Chem. Eng. Jpn.* **2004**, 37, 1504.
- ⁴⁷ BENITES, V. M. Utilização de Carvão e Subprodutos da Carbonização Vegetal na Agricultura: Aprendendo com as Terras Pretas de Índio. *Livro Terra Preta Índio*. s.d.
- ⁴⁸ GOMES, A. P. *et al.* Carvão Fóssil. *Estud. av.* vol.12 no.33 São Paulo May/Aug, 1998. Acesso em: 25/10/2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40141998000200006>
- ⁴⁹ ANDRÉ, G. A.; WEIKERT, R. C. O. Isolamento e identificação dos patógenos microbiológicos encontrados no laboratório de anatomia humana. *Braz. J. Morphol. Sci.*, v. 17, p. 63-64, **2000**.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1S. Acompanhamento da pirólise das amostras de torta de lodo

Tentativa X	Tentativa 1	Tentativa 2	Tentativa 3	Tentativa 4
Temperatura/hora	800 °C/2h	800 °C/3h	800 °C/6h	1000 °C/5h
Peso da amostra inicial	23,76 g	22,05 g	24,52 g	20,12 g
Amostra pós-mufla	0,43 g	0,41 g	0,40 g	0,39 g

Rendimento	1,81%
------------	-------



Figura 1S. Crescimento fúngico em cubo de meio para observação microscópica conforme metodologia proposta pela Anvisa (mod. VII)

Fonte: Autores (2018)

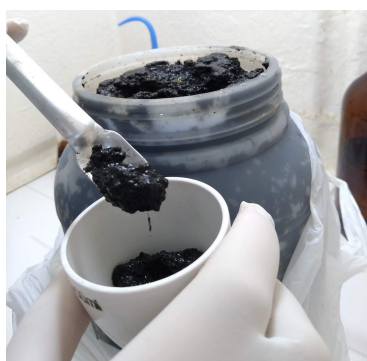


Figura 2S. Material sólido (torta de lodo) coletado para a submissão em mufla

Fonte: Autores (2018)



Figura 3S. Crescimento fúngico em caldo sabouraud

Fonte: Autores (2018)