



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SEMIÁRIDO  
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS  
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS**

**RENATO FRANÇA DE ARAÚJO DELGADO**

**AVALIAÇÃO POTENCIAL DE FUNGOS OBTIDOS DURANTE  
PROCESSO DE COMPOSTAGEM PARA PRODUÇÃO DE CELULASE  
(FPASE).**

**SUMÉ - PB  
2017**

**RENATO FRANÇA DE ARAÚJO DELGADO**

**AVALIAÇÃO POTENCIAL DE FUNGOS OBTIDOS DURANTE  
PROCESSO DE COMPOSTAGEM PARA PRODUÇÃO DE CELULASE  
(FPASE).**

**Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.**

**Orientadora: Professora Dra. Glauciane Danusa Coelho.**

**SUMÉ - PB  
2017**

D352a Delgado, Renato França de Araújo.

Avaliação potencial de fungos obtidos durante processo de compostagem para produção de celulase (FPASE). / Renato França de Araújo Delgado. Sumé - PB: [s.n], 2017.

52 f. : il.

Orientadora: Professora Dra. Glauciane Danusa Coelho.

Monografia - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido; Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos..

1. Fungos. 2. Compostagem. 3. Produção de celulase. I. Título.

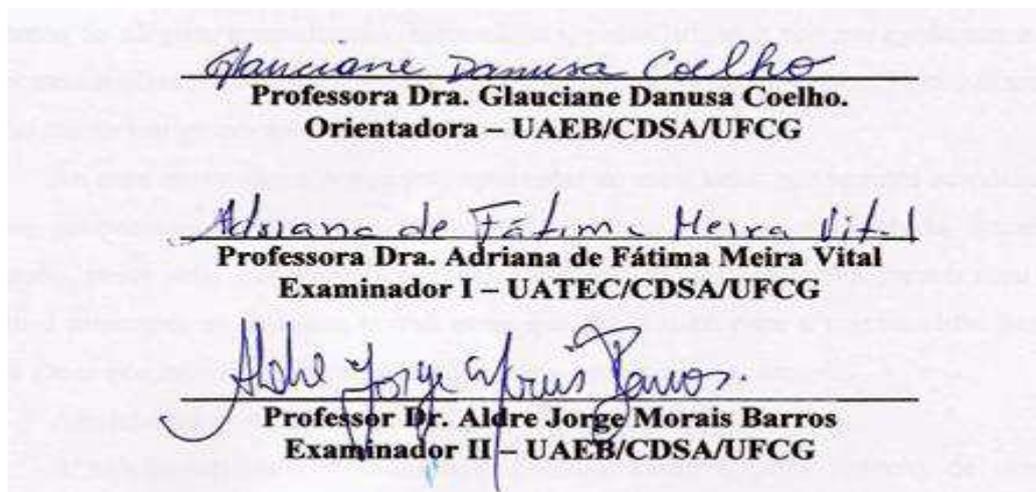
CDU: 561.28(043.1)

# RENATO FRANÇADE ARAÚJO DELGADO

## AVALIAÇÃO POTENCIAL DE FUNGOS OBTIDOS DURANTE PROCESSO DE COMPOSTAGEM PARA PRODUÇÃO DE CELULASE (FPASE).

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

### BANCA EXAMINADORA:



Trabalho aprovado em: 23 de fevereiro de 2017.

SUMÉ - PB

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo da minha vida, e não somente nesses anos como universitário, mas que em todos os momentos é o maior mestre que alguém pode conhecer.

Agradeço aos meus pais, Lucicleide França e Rivaldo Delgado, que sempre me apoiaram e sempre fizeram e fazem o possível e o impossível para a realização dos meus sonhos. Além da fé em mim, mesmo nas horas em que eu penso que não vou conseguir, eles nunca deixam de acreditar em mim.

As minhas irmãs (Rafaella França e Analice França) por me proporcionarem diversos momentos de felicidade, pelos conselhos e pela fé inabalável.

Aos meus amigos (irmãos) que moraram comigo durante os anos de graduação (Leonardo Medeiros e Eliton Sancler), pelos momentos felizes, experiências, broncas e ensinamentos, saibam que levarei durante toda a minha vida esses momentos felizes.

Agradeço aos meus amigos (Alberi, Thiago, Geo e Fabiano, Guga, Flavinho, Laerth e Lucas), pelas bebedeiras, momentos engraçados, brigas e ensinamentos adquiridos. Muito obrigado gente.

A minha turma (Elielson, André, Neto, Darlyson, Rodolfo, Eder, Mayk, Maysa, Livia, Aninha, Jessica, Yasmim, Magna, Aisla, Suelen) por me proporcionarem diversos momentos de alegria, aprendizado, brincadeiras, pelas brigas e por me ajudarem a me tornar uma pessoa melhor, nunca esquecerei esses momentos e ensinamentos. Posso dizer e afirmar que não existe um grupo melhor e mais acolhedor.

Ao meu amor Jaqueline por sempre estar ao meu lado, por sempre acreditar em mim, por me proporcionar infinitos momentos de alegria, pela enorme ajuda durante toda a graduação, pelos seus ensinamentos, pelas broncas que sempre foram para o meu bem. Não sei como mensurar as infinitas coisas boas que ela trouxe para a minha vida. Sempre serei grato à Deus por trazer uma pessoa tão boa para a minha vida, amo-te.

Aos amigos que conheci desde o início da graduação.

A minha orientadora Glauciane Danusa Coelho, pelo vínculo de amizade que criamos, pelos ensinamentos, por sempre me apoiar nas horas difíceis, por ser uma excelente pessoa além de muito exemplar e pela paciência comigo.

Ao corpo docente (Jean, Franklin, Ana Mary, Fabiana, Adriano, Ranoel, Cecir, Aldre, Bruno, Tatiana, Aldinete, Ana Verônica, Aldre), por serem ótimos professores tanto na vida acadêmica como na vida fora da universidade, por sempre me acolher e por serem sempre pessoas exemplares.

Agradeço a Simone Lins, por nos orientar no início dos trabalhos e pelos ensinamentos passados e pela paciência.

A Universidade Federal de Campina Grande, por ser uma Universidade muito acolhedora e exemplar. Hoje eu posso afirmar que a melhor coisa na minha vida foi vir para essa Universidade, pois, através dela obtive ensinamentos tanto de graduação como ensinamentos da vida que sempre levarei comigo.

Ao laboratório de microbiologia do CDSA e todos que fazem parte dele, por permitir que eu realizasse o meu trabalho de conclusão de curso.

A Professora Adriana Meira Vital, coordenadora do Programa de Ações Sustentáveis para o Cariri (PASCAR), por ter permitido a realização das coletas no tanque de compostagem.

Agradeço aos membros da banca avaliadora, composta pelos professores: Adriana Meira Vital e Aldre Jorge Morais Barros.

E por fim ao Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido por ser a minha escola de vida.

“A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso.”

John Ruskin

## RESUMO

A compostagem é um processo de oxidação biológica em que os microrganismos decompõem o material lignocelulósico por meio da liberação de enzimas extracelulares. Dentre as enzimas produzidas durante a compostagem destacam-se as celulasas, que são enzimas de interesse industrial. Estas enzimas podem ser aplicadas nas indústrias de alimentos, detergentes, farmacêutica, têxtil, celulose e papel, e no tratamento de efluentes e resíduos. Além de ser empregada na hidrólise da biomassa lignocelulósica para conversão da celulose em glicose para a produção de biocombustíveis. O presente trabalho teve como objetivo o isolamento de fungos com capacidade de produzir enzima (celulase), além de acompanhar a variação de temperatura em um processo de compostagem. As coletas foram realizadas a partir do 10º dia após a montagem da composteira e repetidas a cada 15 dias, totalizando sete coletas. No momento da coleta foi feita a aferição da temperatura e foram retiradas amostras para isolamento de fungos. A produção das enzimas foi verificada por meio do método de difusão em gel de ágar, em placas de Petri tendo papel de filtro, para a determinação da atividade celulolítica total. A determinação dos índices enzimáticos (IE) foi realizada por meio da relação entre o halo de degradação do substrato e o halo de crescimento fúngico. A temperatura no tanque de compostagem variou entre 36°C e 43°C. No decorrer das coletas foram obtidos 36 isolados fúngicos, sendo que seis foram obtidos na fase termofílica. Dentre os fungos isolados, os que mais se destacaram foram os isolados 02 e 04 da coleta 5 e o isolado 1 da coleta 4, com IE de 90, 90 e 76, respectivamente, para a atividade de celulase total (FPase). Diante dos altos valores de IE obtidos pode-se afirmar que o tanque de compostagem representa uma fonte de microrganismos produtores de enzimas de interesse industrial, que podem ser aplicados no desenvolvimento de tecnologias enzimáticas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Celulose. Composteira. Índice enzimático. Isolados fúngicos.

## ABSTRACT

Composting is a biological oxidation process in which the microorganisms decompose the lignocellulosic material through the release of extracellular enzymes. Among the enzymes produced during composting stand out the cellulases, which are enzymes of industrial interest. These enzymes can be applied in food, detergent, pharmaceutical, textile, cellulose and paper industries, and in wastewater and waste treatment as well as being used in the hydrolysis of lignocellulosic biomass for the conversion of cellulose into glucose for the production of biofuels. The aim of this work was to isolate fungi with the ability to produce enzyme (cellulase), in addition to monitoring a temperature variation in a composting process. The collections were performed from the 10th day after a set of the compost equipment and repeated every 15 days, totaling seven collections. At the time of the collection, the temperature was measured and samples were taken for fungal isolation. The enzymes production was verified through e agar gel diffusion method, in Petri plates having filter paper, for the determination of the total cellulolytic activity. The determination of the enzymatic rate (ER) was performed by means of the relationship between the substrate degradation halo and the fungal growth halo. The composting tank temperature varied between 36 °C and 43°C. During the collections 36 isolated fungi were obtained, where 6 were obtained in the thermophilic phase. Among the isolated fungi, the ones that stand out most were isolate 02 and isolate 04 of the 5th collection, and isolate 01 of the 4th collection, with ER of 90, 90 and 76, respectively, for a total cellulase activity (FPase). In view of the high ER values obtained, it can be stated that the composting tank represents a source of microorganisms producers of enzymes of industrial interest, which can be applied in the development of enzyme technologies.

**KEYWORDS:** Cellulose. Composting equipment. Enzymatic rate. Isolated Fungus.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Esquema das entradas e saídas do processo de compostagem.....	20
<b>Figura 2</b> - Resíduos orgânicos potencialmente utilizáveis na compostagem.....	21
<b>Figura 3</b> - Principais fases da compostagem.....	24
<b>Figura 4</b> - Composição da celulose.....	27
<b>Figura 5</b> - Atuação da celulase sobre as estruturas da celulose.....	29
<b>Figura 6</b> - Local que foram coletadas as amostras.....	31
<b>Figura 7</b> - Esquema adotado para diluição em série.....	32

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Composição dos meios de cultivo utilizados, para detecção de celulase.....	34
<b>Tabela 2</b> - Números de Isolados obtidos em cada coleta.....	36
<b>Tabela 3</b> - Números de colônias de cada coleta.....	37

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1-** Variação de temperatura no tanque de compostagem nas sete coletas realizadas (-■-). Os limites superiores e inferiores indicam o desvio padrão. As fases da compostagem estão representadas por letras, sendo A: fase mesofílica, B: fase termofílica, C: fase de resfriamento e D: fase de maturação.....38
- Gráfico 2-** Umidade da amostra verificada após 24h.....38
- Gráfico 3-** Índice enzimático (IE) para Celulase (FPase) dos isolados fúngicos obtidos a partir da primeira coleta, com temperatura média no tanque de compostagem de 38,46°C. Incubação a 30°C durante 72 h, utilizando papel de filtro como substrato. Resultados de média ± desvio padrão.....39
- Gráfico 4-** Índice enzimático (IE) para Celulase (FPase) dos isolados fúngicos obtidos a partir da segunda coleta, com temperatura média no tanque de compostagem de 38,46°C. Incubação a 30°C durante 72 h, utilizando papel de filtro como substrato. Resultados de média ± desvio padrão.....40
- Gráfico 5 -** Índice enzimático (IE) para Celulase (FPase) dos isolados fúngicos obtidos a partir da terceira coleta, com temperatura média no tanque de compostagem de 38,46°C. Incubação a 30°C durante 72 h, utilizando papel de filtro como substrato. Resultados de média ± desvio padrão.....41
- Gráfico 6 -**Índice enzimático (IE) para Celulase (FPase) dos isolados fúngicos obtidos a partir da quarta coleta, com temperatura média no tanque de compostagem de 38,46°C . Incubação a 30°C durante 72 h, utilizando papel de filtro como substrato. Resultados de média ± desvio padrão.....42
- Gráfico 7 -**Índice enzimático (IE) para Celulase (FPase) dos isolados fúngicos obtidos a partir da quinta coleta, com temperatura média no tanque de compostagem de 38,46°C . Incubação a 30°C durante 72 h, utilizando papel de filtro como substrato. Resultados de média ± desvio padrão.....43
- Gráfico 8 -** Índice enzimático (IE) para Celulase (FPase) dos isolados fúngicos obtidos a partir da sexta coleta, com temperatura média no tanque de compostagem de 38,46°C. Incubação a 30°C durante 72 h, utilizando papel de filtro como substrato. Resultados de média ± desvio padrão.....44
- Gráfico 9-** Índice enzimático (IE) para Celulase (FPase) dos isolados fúngicos obtidos a partir da sétima coleta, com temperatura média no tanque de compostagem de 38,46°C. Incubação a 30°C durante 72 h, utilizando papel de filtro como substrato. Resultados de média ± desvio padrão.....45
- Gráfico 10 -** Produção de celulase média dos microrganismos isolados durante a compostagem. A região hachurada indica a região mesofílica.....46

**Gráfico 11** - Velocidade de crescimento radial em cm por dia (VRC) verificado em meio de aveia 2 a 30°C durante 72 h. Resultados de média  $\pm$  desvio padrão; Teste de Tukey: letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Os experimentos foram realizados em triplicata.....47

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**b** – coeficiente linear da regressão

**°C** – Graus Celsius

**CDSA** – Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido

**C/N** – Carbono/Nitrogênio

**g** – gramas

**IE** – Índice enzimático

**m<sub>i</sub>** – massa inicial das amostras (g)

**m<sub>f</sub>** – massa final das amostras (g)

**mL** – Mililitro

**pH** – Potencial Hidrogeniônico

**r** – raio (cm)

**t** – tempo (dia)

**U** – umidade em base úmida

**UFMG** – Universidade Federal de Campina Grande

**VCR** – velocidade de crescimento radial (cm/dia);

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\Phi_c$ - diâmetro da colônia

$\Phi_h$ - diâmetro do halo

## SUMARIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>18</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>20</b>
3.1 COMPOSTAGEM.....	20
<b>3.1.1 Resíduos utilizados na compostagem .....</b>	<b>21</b>
3.2 FASES DA COMPOSTAGEM .....	22
3.3 PRINCIPAIS FATORES QUE INFLUENCIAM NA COMPOSTAGEM .....	24
<b>3.3.1 Organismos.....</b>	<b>24</b>
<b>3.3.2 Umidade.....</b>	<b>25</b>
<b>3.3.3 Temperatura.....</b>	<b>26</b>
<b>3.3.4 Aeração .....</b>	<b>26</b>
<b>3.3.5 Relação C/N .....</b>	<b>27</b>
3.3. CELULOSE E CELULASES.....	27
3.4. APLICAÇÃO DAS CELULASES .....	29
<b>4 METODOLOGIA .....</b>	<b>31</b>
4.1 TANQUE DE COMPOSTAGEM .....	31
4.2 COLETAS .....	31
4.3 PLAQUEAMENTO .....	31
4.4 ISOLAMENTO.....	32
4.5 DETERMINAÇÃO DA UMIDADE .....	32
4.6 VERIFICAÇÕES DA PRODUÇÃO DE CELULASES E DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE ENZIMÁTICO (IE) .....	32
4.7 MEIOS DE CULTURA.....	33
<b>4.7.1 Meio de aveia 1.....</b>	<b>33</b>

<b>4.7.2 Meio de aveia 2 .....</b>	<b>33</b>
<b>4.7.2 Meio BDA.....</b>	<b>33</b>
<b>4.7.4 Meio diferencial para determinação da produção de atividade enzimática .....</b>	<b>34</b>
4.8 VELOCIDADES DE CRESCIMENTO DOS FUNGOS.....	34
4.9 MANUTENÇÃO E CONSERVAÇÃO DOS ISOLADOS.....	34
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>36</b>
5.1 COLETAS, PLAQUEAMENTO E ISOLAMENTO.....	36
5.2 TEMPERATURA E UMIDADE DA COMPOSTEIRA .....	37
5.3 DETECÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE CELULASE TOTAL (FPase).....	39
<b>5.3.1 Coleta 1 .....</b>	<b>39</b>
<b>5.3.2 Coleta 2 .....</b>	<b>40</b>
<b>5.3.3 Coleta 3 .....</b>	<b>40</b>
<b>5.3.4 Coleta 4 .....</b>	<b>41</b>
<b>5.3.5 Coleta 5 .....</b>	<b>42</b>
<b>5.3.6 Coleta 6 .....</b>	<b>43</b>
<b>5.3.7 Coleta 7 .....</b>	<b>44</b>
5.5 DESEMPENHOS DO TANQUE DE COMPOSTAGEM.....	45
5.3 VELOCIDADES DE CRESCIMENTO.....	46
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>48</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>49</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo Dias (2009), compostagem é utilizada para decomposição de materiais orgânicos. A técnica da compostagem tem à finalidade de acelerar a estabilização da matéria orgânica (COELHO, 2008). Podemos dizer que a compostagem ocorre em três fases sendo à primeira fase, a fitotoxicidade, em que à decomposição ocorre por oxidação, sendo caracterizada como fase rápida. A segunda fase é chamada de fase de bioestabilização, e à terceira fase é conhecida como fase de humificação ou maturação e mineralização dos componentes da matéria orgânica (KIEHL, 2002).

A compostagem é um processo biológico, aeróbio no qual ocorrem transformações de resíduos orgânicos em substâncias húmicas intercedida pelos microrganismos tais como fungos e bactérias (KUBITZA; CAMPOS, 2006; INÁCIO; MILLER, 2009). Dentre estes microrganismos podemos destacar os fungos produtores de enzimas celulolíticas. As enzimas são proteínas especializadas na catálise de reações biológicas que aceleram a velocidade de uma reação e que são aplicadas industrialmente. Os processos catalisados por enzimas são geralmente mais rápidos, eficientes e ambientalmente sustentáveis. As celulasas são enzimas com a capacidade de quebrar as ligações glicosídicas de microfibrilas da celulose, liberando oligossacarídeos, celobiose e glicose (DILLON, 2004), e representam grande interesse econômico, visto que possuem inúmeras aplicações nas indústrias, tais como: detergente, tratamento de resíduos agroindustriais, produção de etanol, produção de ração animal, indústria de papel, fabricação de vinho e entre outros, nos últimos anos as importações de enzimas no Brasil têm crescido bastante, de maneira geral hoje o mercado de enzimas é considerado um dos mais promissores.

Os elementos apresentados justificam a prospecção de fungos com potencial para a produção de enzimas celulolíticas.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Isolar fungos com capacidade de produzir celulase (FPase) durante um processo de compostagem realizado no CDSA/UFMG.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Avaliar a variação de temperatura e umidade durante o processo de compostagem estudado;

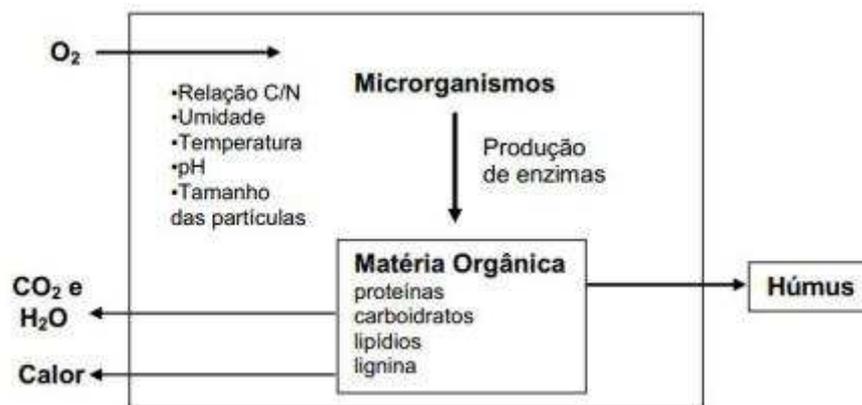
Isolar fungos filamentosos durante o processo de compostagem e verificar o potencial destes em produzir celulase (FPase).

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 COMPOSTAGEM

A compostagem é um procedimento exotérmico de decomposição microbiana, de oxidação e oxigenação de matéria orgânica, uma das suas finalidades é a transformação dessa matéria na forma instável para estável denominada composto (FOGARTY; TUOVINEN, 1991; ADAMS; FROSTICK, 2009). A Figura a seguir mostra os principais fatores que afetam o processo de compostagem.

**Figura 1-** Esquema das entradas e saídas do processo de compostagem.



Fonte: TUOMELA et. al., (2000).

O produto da compostagem que é chamado de composto ou húmus e possui cerca de 50% a 70% de matéria orgânica, apresenta coloração escura, odor de terra molhada e é rico em nutrientes (CERRI, 2008).

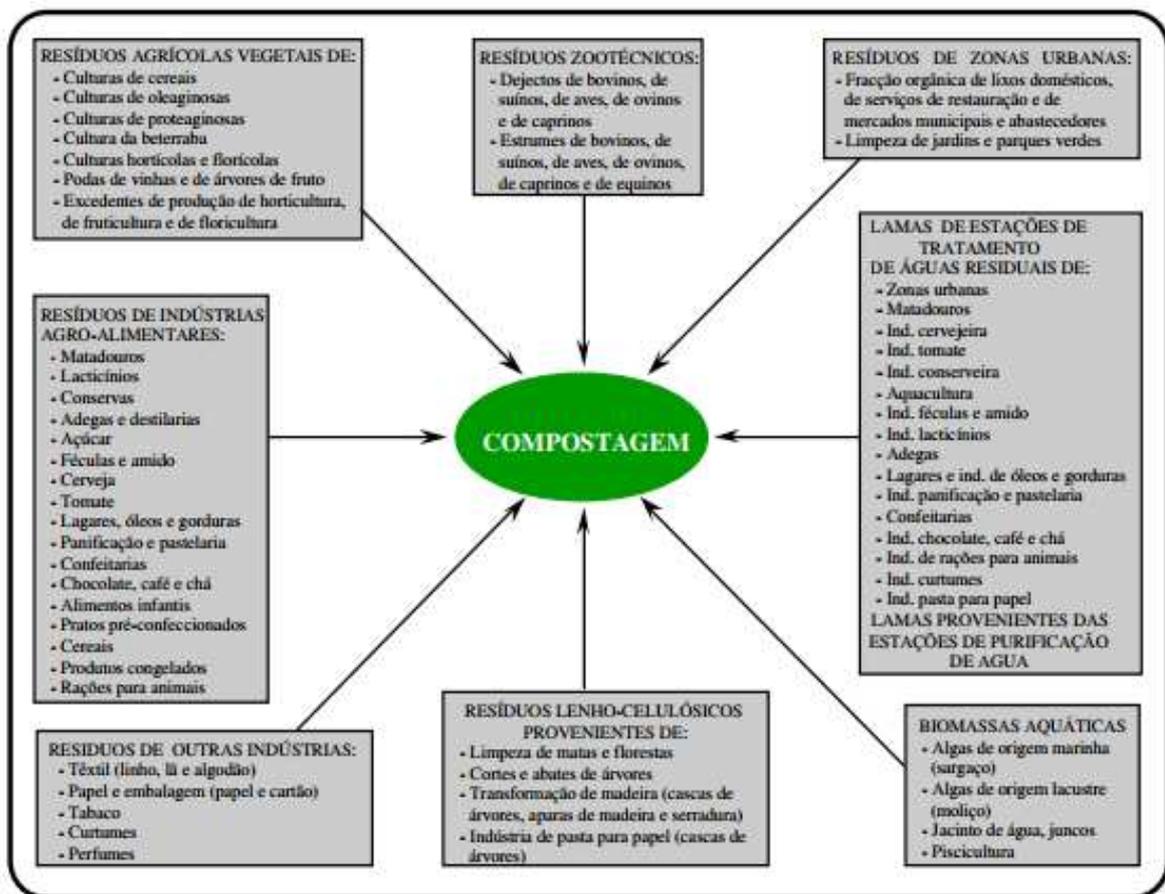
A agricultura e a pecuária produzem grandes quantidades de resíduos, como dejetos de animais e restos de culturas, palhas e resíduos agroindustriais, os quais, em alguns casos, provocam sérios danos ao ambiente. Muito desses resíduos são desperdiçados, por não serem utilizados para alguma finalidade ou por falta de conhecimento sobre uma finalidade viável. Aplicando uma finalidade correta para esses resíduos é possível até suprir os sistemas agrícolas ou boa parte, sem afetar o solo ou ambiente (TEIXEIRA, 2002).

Nesse sentido, a compostagem mostra se como alternativa para um melhor gerenciamento de resíduos de origem agrícola, agroindustriais e industriais, ambientalmente correto (COSTA et al. 2005).

### 3.1.1 Resíduos utilizados na compostagem

Os resíduos para a montagem da pilha (ou leira) de compostagem podem ser divididos em duas classes, os que são ricos em carbono e os ricos em nitrogênio. Os que contêm carbono são mais lenhosos como detritos de culturas, palhas e cascas (espiga de milho, palhada do feijão, vagem, bagaço de cana, palha de carnaúba, palha de café, serragem, casca de coco, entre outros). Já os nitrogenados são as folhas verdes, esterco, urinas, solo, alguns vegetais como as verduras e outros. Em alguns casos são incluídos alimentos de cozinha (OLIVEIRA et al., 2005; CERRI, 2008). A Figura 2 mostra os diferentes tipos de resíduos orgânicos potencialmente utilizáveis na compostagem.

Figura 2 - Resíduos orgânicos potencialmente utilizáveis na compostagem.



Fonte: Cunha Queda, 1999

A compostagem é eficaz na redução de vários tipos de resíduos e geralmente é feita sem muitos gastos, produzindo composto fertilizante ou húmus (FREUDENRICH, 2001).

É importante considerar que a pilha de compostagem não deve conter vidros, plásticos, tintas, óleos, metais, pedras etc. nem materiais com excesso de gorduras como a carne (porque

podem libertar ácidos graxos de cadeia curta como o acético, o propiónico e o butírico os quais retardam a compostagem e prejudicam o composto), ossos inteiros (os ossos só se devem utilizar se forem moídos), ou outras substâncias que prejudiquem o processo de compostagem. No caso de conter papel, não deve exceder 10% da pilha. O papel encerado não é adequado devido difícil à decomposição e o papel de cor tem que ser evitado, pois contem metais pesados. (OLIVEIRA ; SARTORI ; GARCEZ, 2008)

### 3.2 FASES DA COMPOSTAGEM

Kiehl (1998) relata que para a formação do composto a matéria prima passa por três etapas sendo elas:

- **Fase de fitotoxicidade ou de composto cru ou imaturo**, marco inicial da decomposição biológica, duração média variando entre 10 e 20 dias. Ocorrem diversas reações ácidas devidas aos materiais orgânicos crus, produção de ácidos minerais e orgânicos que na grande maioria causa danos às plantas;
- **Fase semicura ou bioestabilização**, quase não acontece decomposição, a matéria orgânica não apresenta ainda as características desejadas, não causa danos às plantas;
- **Fase Maturação ou humificação**, fase em que ocorrem os processos finais da humificação e a mineralização do composto, fase final da degradação (ou cura), na qual o composto adquire as características desejadas (ZUCCONI ;DE BERTOLDI 1986, KIEHL 1998).

As fases da compostagem também podem ser definidas quanto à variação da temperatura, conforme descrito a seguir (BERNAL et al., 1998; TRAUTMANN; OLYNCIW, 2005):

- **Fase 1 - Mesofílica**: é a fase que as temperaturas são moderadas, chegando até cerca de 40°C;
- **Fase 2 - Termofílica**: é a fase em que o composto atinge sua temperatura máxima (>40°C) sendo degradada rapidamente. A duração dessa fase varia entre poucos dias a vários meses, dependendo das características do material que esteja sendo compostado;
- **Fase 3 - Resfriamento**: é a fase em que temperatura cai para valores em média de 25°C.

- **Fase 4 - Maturação:** última fase, em que é produzido um composto maturado, altamente estabilizado e humificado, livre de toxicidade.

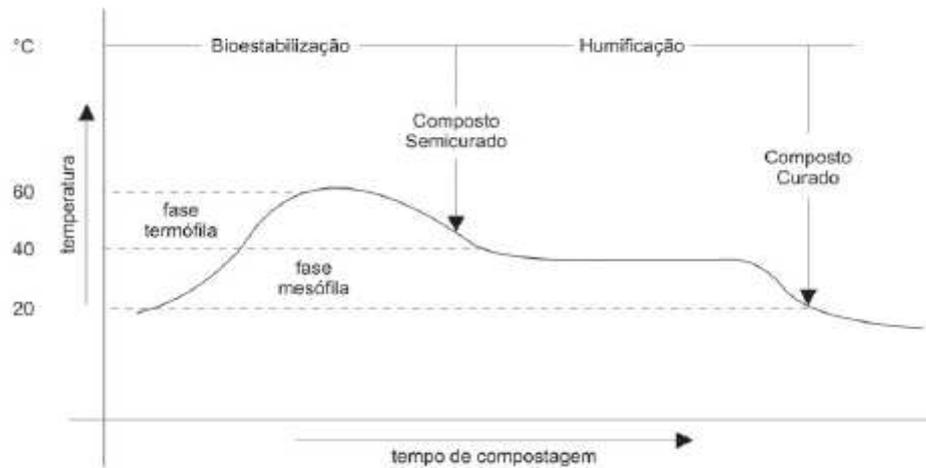
A primeira fase consiste no rápido crescimento da microbiota mesofílica, em que são degradados, preferencialmente, as fontes de carbono assimiláveis e solúveis (açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos) ou polímeros de fácil acesso. A consequência dessa fermentação é a geração de calor por meio das reações metabólicas exotérmicas, deixando a temperatura em torno de 40 °C (INÁCIO ; MILLER, 2009).

A segunda fase, termofílica, apresenta as mais altas temperaturas do processo, em torno de 45 a 65 °C, ocasionando a inibição do crescimento de organismos mesófilos, que na grande maioria são patogênicos, ao mesmo tempo estimulando à germinação dos esporos dos fungos e endósporos das bactérias termofílicas (BARREIRA, 2005). Os microrganismos termófilos, têm os melhores desempenhos, quanto a decomposição da matéria orgânica, acelerando o processo. As fontes de carbono de fácil degradação já estão escassas, restando apenas constituintes da biomassa lignocelulósica e para a degradação desses polímeros são necessárias enzimas extracelulares, que são liberadas pelos microrganismos termófilos presentes. Esta também é a fase em que apresenta o maior consumo de oxigênio do processo e desprendimento de vapor d'água, calor e gás carbônico (GOMES et al., 2007; MASSUKADO, 2008).

A terceira fase também é identificada como mesofílica, sendo que os valores de temperatura sofrem uma queda, porém, se mantém acima da temperatura ambiente, causando à redução da atividade microbiana. Nesta fase, as substâncias orgânicas mais resistentes são degradadas lentamente quando comparadas com a fase anterior, ocorrendo à perda de umidade. Ainda predominam fungos e actinobactérias (INÁCIO ; MILLER, 2009).

Por fim, na quarta e última fase ocorre à maturação do composto, e, portanto, à formação da matéria estável (humificada), ainda possui atividade microbiológica, entretanto é muito baixa, conseqüentemente, a mais baixa do processo no valor da temperatura (PEREIRA NETO, 1996). A Figura a seguir representa as principais fases da compostagem.

**Figura 3** - Principais fases da compostagem.



Fonte: D'ALMEIDA & VILHENA, 2000.

### 3.3 PRINCIPAIS FATORES QUE INFLUENCIAM NA COMPOSTAGEM

A compostagem tem por finalidade reduzir o tempo de decomposição da matéria orgânica, independente de ser um processo controlado ou não, deve levar em consideração às condições necessárias para desenvolvimento dos microrganismos decompositores. Basicamente, a temperatura, aeração, pH, relação carbono e nitrogênio, organismos, granulometria, dimensão da leira, umidade e nutrientes são os fatores que mais interferem no processo de compostagem (COSTA et al., 2005).

#### 3.3.1 Organismos

O composto formado é resultante da ação conjunta dos macro e microrganismos. Os macrorganismos representam a mesofauna (minhocas, formigas, besouros e ácaros) e os microrganismos são os fungos, bactérias e actinomicetos, que estão presentes em diferentes etapas da compostagem. Os primeiros indivíduos a desempenharem atividades metabólicas são os microrganismos, estes inicialmente convertem o nitrogênio orgânico em nitrogênio amoniacal. Dessa forma, parte dessa amônia é perdida por volatilização ou convertida em nitratos pelo processo de nitrificação, fenômeno que favorece na acidificação do composto maturado. No entanto, caso exista condições anaeróbias, o nitrato sofre a desnitrificação causando efeito alcalino no composto (OLIVEIRA et al., 2005).

Durante o processo inicial de quebra da matéria orgânica mediada pelas bactérias, ocorre a liberação de calor da massa em decomposição (CORRÊA et al., 1982), também ocorre atuação de fungos, que usa essa matéria já sintetizada, como fonte de energia (PEREIRA NETO, 2007). Esses fungos atuam na decomposição de açúcares, amidos,

proteínas de fácil digestão, presente na matéria orgânica. A decomposição das moléculas mais complexas para substâncias mais simples é realizada através de reações enzimáticas. Os micro-organismos sintetizam enzimas que atacam e decompõem o constituinte orgânico (KIEHL, 1998).

Peixoto (1988) afirma que na fase seguinte, devido à liberação de calor, ocorre um aumento brusco da temperatura, ocasionando a morte da microbiota mesofílica, predominando apenas os actinomicetos, bactérias e dos fungos termofílicos. As bactérias degradam os lipídeos e frações de hemicelulose, enquanto que a celulose e a lignina são degradadas pelos actinomicetos e fungos (KIEHL, 1985). Essa capacidade de utilizar a celulose como fonte de carbono e energia (MELO, 2000), é de suma importância, pois, a celulose é o polímero mais abundante encontrado na matéria orgânica vegetal. A lignina é o último material a ser degradado, devido a sua extrema resistência aos ataques dos microrganismos (KIRK; FARRELL, 1987).

### **3.3.2 Umidade**

Na atividade microbiológica a umidade é de suma importância, pois, entre outros fatores, os microrganismos têm na constituição aproximadamente 90% de água sendo importante não só para o desempenho das atividades, mas como também, na formação de novas células (ALEXANDER, 1977). Para obter um máximo desempenho quanto à decomposição é necessário uma faixa de umidade entre 40 e 60%, pois, promove o crescimento de toda a microbiota envolvida além de garantir um desempenho bioquímico adequado durante todo o processo (MERCCKEL, 1981).

Teores de umidades inferiores a 40% inibem ou reduzem toda a atividade biológica envolvida. Quando os teores de umidade ultrapassam 65%, o excesso de água dificulta à passagem de oxigênio entre os espaços livres, reduzindo então toda atividade microbiológica, gerando odores, contaminações e queda de temperatura. (FERNANDES et al., 1999).

Segundo Carli (2010), os teores de umidade devem ser proporcionais à capacidade de areação da massa de compostagem, tendo em vista as características físicas do material e sempre almejando satisfazer à demanda microbiológica por oxigênio. Oliveira (2001), afirma que durante o processo de compostagem, devido às aerações o teor de umidade tende diminuir, considerando 30% como ótimo para o final do processo.

### 3.3.3 Temperatura

A temperatura é um importante indicador do funcionamento da compostagem, pois a presença de calor evidencia a degradação da matéria orgânica pela microbiota contida (MALHEIROS, 1996; VALENTE et al., 2009; PUYUELO et al., 2010). A temperatura da compostagem deve variar de 40°C a 60°C nos primeiros 30 dias, indicando um bom equilíbrio do ecossistema (PEREIRA NETO; CUNHA, 1995).

O controle da temperatura é de suma importância, já que uma variação inadequada dos valores de temperatura pode ocasionar a redução das populações microbianas e impedir a atividade metabólica (OLIVEIRA, 2000).

### 3.3.4 Aeração

Segundo o Fernandes e Silva (1999), o revolvimento das leiras de duas a três vezes por semana é de suma importância. Inácio e Miller (2009), afirmam que esse procedimento permite, que as camadas externas da leira sejam expostas às temperaturas no interior, evita a compactação das partículas, pois, conforme vai ocorrendo à decomposição, também vai aumentando a porosidade da leira, homogeneizar o material, além de controlar a temperatura e umidade do processo.

O oxigênio é fundamental para a sobrevivência e atividade microbiana presente no sistema de compostagem. A compostagem, na maior parte, é um processo aeróbio, mas não totalmente aeróbio (EPSTEIN, 1997). Também ocorrem condições anaeróbias em algumas zonas internas, devido ao grande consumo de O<sub>2</sub> pelos microrganismos para desempenho das atividades metabólicas, que chega a superar concentração de O<sub>2</sub> presente mesmo com aeração forçada (INÁCIO; MILLER, 2009).

Segundo Brito (2008), os microrganismos necessitam apenas de 5% de oxigênio para a sua sobrevivência, porém, valores abaixo de 10% prejudicam o desenvolvimento da microbiota envolvida e promovem o aparecimento de zonas anaeróbicas. Segundo Fernandes et al., (1999), uma aeração eficiente depende de diversos fatores como: granulometria do material, temperatura, umidade, composição química e da frequência de revolvimento manual ou mecânico.

Rasapoor et al., (2009), afirmam que a falta de aeração ocasiona redução nas perdas de nitrogênio, intensifica a redução da relação C/N e prolonga a fase termofílica. O excesso por

outro lado proporciona a produção de um composto com estabilização incompleta, sendo insatisfatório para o processo.

### 3.3.5 Relação C/N

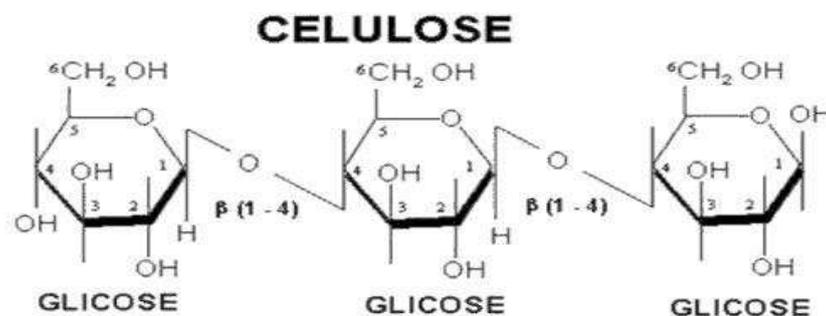
O carbono e o nitrogênio são fundamentais no desenvolvimento dos microrganismos, sendo o carbono uma fonte de energia, enquanto o nitrogênio é responsável pela sintetização das proteínas (MASSUKADO, 2008).

O tempo de decomposição da matéria orgânica está inteiramente ligado com a relação C/N, ou seja, quanto maior for à relação C/N, maior será o tempo para decompor a matéria orgânica presente (INÁCIO; MILLER, 2009). É importante levar em consideração a capacidade de absorção dos microrganismos decompositores que absorvem o carbono e nitrogênio na proporção de 30 partes do primeiro para uma parte do segundo (C/N=30/1), que também deve ser a relação ideal para o resíduo (OLIVEIRA ; SARTORI ; GARCEZ, 2008). Segundo Yuan et al., (2012), conforme vai aumentando a maturação do composto, menor vai ficando a relação C/N.

### 3.3. CELULOSE E CELULASES

A celulose é o biopolímero mais abundante do mundo (RUEGGER; TAUK-TORNISIELO, 2004), sendo formada por moléculas de glicose ligadas entre si por ligações  $\beta$  - 1,4. A celulose é de grande importância mundial como matéria-prima industrial e como fonte de energia renovável (TEERI, 1997; JOSHI; MANSFIELD, 2007). A figura a seguir representa a composição da celulose.

**Figura 4-** Composição da celulose.



Fonte: FERNANDES ZÓIA, 2013.

O papel, por exemplo, é um produto composto por celulose. Para fabricação do papel a madeira deve ser reduzida em fragmentos bem pequenos e transformadas em polpa, para esse processo são utilizados o hidróxido de sódio e sulfito de sódio para a retirada da hemicelulose,

da lignina e de certas resinas. Este processo causa vários problemas ambientais, mas podem ser diminuídos com a utilização de enzimas que são substituídas por esses produtos químicos (MUSSATTO, 2007).

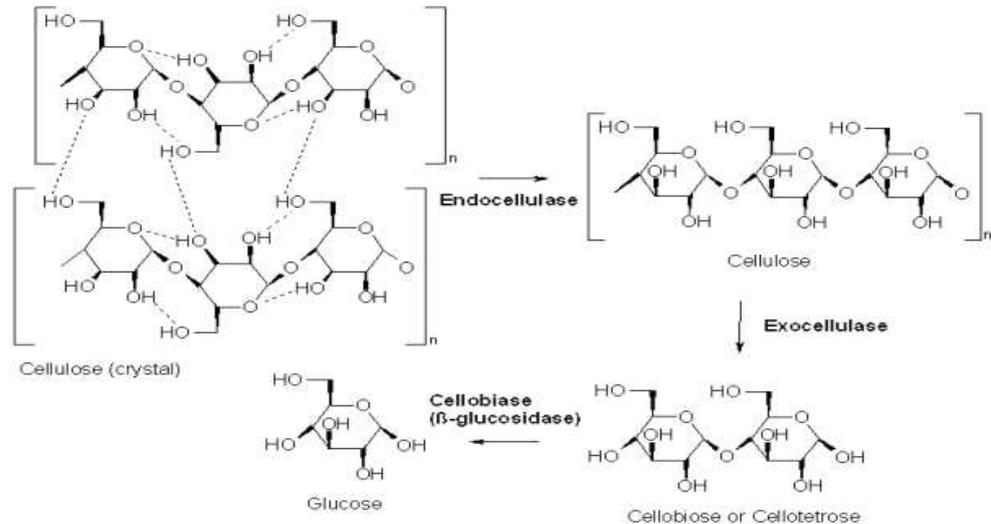
As celulasas são pertencentes à classe das hidrolases, enzimas que atuam sobre constituintes de materiais celulósicos, gerando a hidrólise destes. Sendo biocatalisadores atuando para a liberação de açúcares (OLSSON; HAHNHAGERDAL, 1996; CASTRO; PEREIRA, 2010).

Segundo Juhász et al., (2005), as celulasas são classificadas em três classes de enzimas que atuam na hidrólise da celulose sendo elas: endoglucanases (1,4  $\beta$ -Dglucanglucanohidrolase), exoglucanases (exo 1,4- $\beta$ -D-glucan-celobiohidrolase) e  $\beta$ -Dglucosidases ou celobiasas.

As endoglucanases (EC 3.2.1.4) iniciam a hidrólise da molécula de celulose, atuando na região amorfa da cadeia de celulose, separando ligações  $\beta - 1,4$  na região central da molécula, liberando oligossacarídeos de diversos graus de polimerização como produto (DIENES et al., 2004). A carboximetilcelulose é utilizada como substrato para a atividade dessas enzimas (CAO; TAN, 2002).

As exoglucanases (EC 3.2.1.91) agem nas extremidades da molécula de celulose microcristalina, com a liberação de unidades de celobiose (CAO; TAN, 2002). As  $\beta -$ glucosidases catalisam a hidrólise da celobiose a glicose, reduzindo a inibição das endoglucanases e exoglucanases devido à presença deste dímero (PETROVA et al., 2002). As celulasas possui grande valor econômico, podendo aplicadas em varias atividades industriais (BHAT; BHAT, 1997). A figura 5 representa a atuação da das enzimas celulase sobre a estrutura da celulose.

**Figura 5-** Atuação da celulase sobre as estruturas da celulose.



Fonte: GUSTINELLI BORTOLAZZO, 2011.

### 3.4. APLICAÇÃO DAS CELULASES

As celulases podem ser usadas na indústria alimentícia melhorando a qualidade dos alimentos, como, por exemplo, em alimentos desidratados e sopas prontas, na remoção da parede celular de vegetais e frutas, e no sabor e aroma (MANDELS, 1985). Também é utilizada na extração de componentes do chá verde, proteína de soja, óleos essenciais e aromatizantes, produção de vinagre de laranja e extração e clarificação de sucos de frutas cítricas (RUEGGER ; TAUKTORNISIELO, 2004).

Na indústria de cerveja e vinhos as celulases são usadas para filtração da cerveja e melhoria do aroma de vinhos (BEGUIN; AUBERT, 1994).

A aplicação das celulases na indústria de ração animal melhora a digestibilidade da ração, uma vez que o material lignocelulósico é pré-tratado e capa protetora dos cereais é hidrolisado por celulases (MANDELS, 1985). Essas enzimas podem ser adicionadas diretamente na forma líquida ou em grãos na ração, melhorando assim o rendimento do crescimento animal, devido à disponibilidade de mais açúcares do material lignocelulósico (TOLAN; FOODY, 1999).

Na indústria têxtil as celulases ajudam na remoção do excesso de corantes em jeans, e na remoção de microfibras em malhas de algodão (MANDELS, 1985; TOLAN; FOODY, 1999).

As celulasas também vêm sendo bastante utilizadas na fabricação de detergentes, devido à capacidade de alterar a estrutura das fibras de celulose, facilitando a remoção da sujeira e contribuindo para a manutenção da maciez, brilho e cor dos tecidos (BHAT, 2000).

As indústrias químicas têm estudado as moléculas presentes nos materiais lignocelulósicos, sendo assim uma área foi desenvolvida, sendo chamado Biorrefinaria. A biorrefinaria refere-se ao uso de materiais renováveis e os resíduos derivados, para produção de combustíveis, produtos químicos e energia, com a mínima geração de dejetos e emissões poluentes (PEREIRA Jr. et al., 2008).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 TANQUE DE COMPOSTAGEM

Este é localizado no viveiro de mudas, no Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (UFCG CDSA), campus de Sumé e a sua manutenção foi conduzida pelos estudantes do Programa de Ações Sustentáveis para o Cariri (PASCAR).

### 4.2 COLETAS

As coletas foram realizadas a partir do 10º dia após a montagem da composteira e foram realizadas a cada 15 dias, durante todo o processo de compostagem. No momento da coleta foi feita a aferição da temperatura em seis pontos do tanque de compostagem, nos quais serão retiradas amostras de cinco pontos do tanque de compostagem. As amostras foram misturadas e utilizadas para a contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC), plaqueamento e isolamento de fungos, bem como para a determinação da umidade da composteira. Na Figura 6 a. está apresentada a imagem do tanque de compostagem e 4b. a imagem de uma visão aproximada do composto.

**Figura 6-** Local que foram coletadas as amostras.



Fonte: Autor.

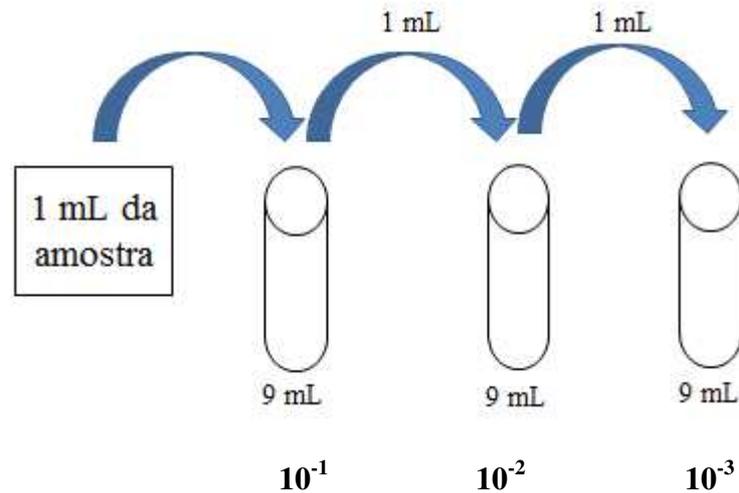
O material coletado foi acondicionado em sacolas plásticas e levado até o Laboratório de Microbiologia na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), no campus Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA), na cidade de Sumé, onde todos os experimentos foram realizados.

### 4.3 PLAQUEAMENTO

Um (1,0)g do material coletado da composteira foi adicionado a 10,0 mL de água destilada esterilizada. A suspensão foi diluída em série até a concentração de  $10^{-4}$ , sendo que o volume de um (1,0) mL desta foi usado para inocular às placas de Petri contendo meio de aveia. As placas inoculadas foram incubadas a 28°C até o crescimento das colônias. Em

seguida foi feita a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) de cada diluição. Os testes foram feitos em duplicatas.

**Figura 7-** Esquema adotado para diluição em série.



Fonte: Autor.

#### 4.4 ISOLAMENTO

As UFCs observadas no meio de aveia foram isoladas em placas de Petri contendo meio BDA (batata, dextrose e ágar), substituindo dextrose por sacarose comercial e foram incubadas a 28°C durante cinco (5) dias, ou até que as placas fossem preenchidas. Os isolados foram conservados na geladeira em sistema Castellani.

#### 4.5 DETERMINAÇÃO DA UMIDADE

Foram pesadas 3,0g de cada resíduo seco em cápsulas de porcelana previamente taradas. As cápsulas contendo as amostras foram colocadas na estufa a 100°C até durante 24 h. Em seguida foram resfriadas em dessecador durante 20 minutos e pesadas em balança analítica (BRASIL, 2005). A umidade, expressa em base úmida, foi calculada pela Equação 1.

$$U(\%) = \frac{m_i - m_f}{m_i} * 100 \dots \dots \dots (1)$$

#### 4.6 VERIFICAÇÕES DA PRODUÇÃO DE CELULASES E DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE ENZIMÁTICO (IE)

A produção das enzimas no meio de cultura foi verificada por meio do método de difusão em gel de ágar, em placas de Petri tendo o papel de filtro, para a determinação da

atividade celulolítica (Tabela 1). As atividades enzimáticas foram caracterizadas por meio da formação de halos de degradação do substrato (fonte de carbono). Os ensaios foram realizados em triplicata. Após 72 h de incubação a 30,0°C as placas foram reveladas com adição de 2,0 mL de solução de iodo.

O halo de degradação do substrato, bem como o halo de crescimento fúngico foi medido com auxílio de régua milimetrada.

Os isolados fúngicos que apresentaram halo de degradação em torno da colônia tiveram a produção da atividade fungica avaliada pelo cálculo do índice enzimático (IE), dado pela relação do diâmetro médio do halo de degradação do substrato pelo diâmetro médio da colônia, conforme na equação 2 (HANKIN; ANAGNOSTAKIS, 1975).

$$IE = \frac{\phi h}{\phi c} \dots\dots\dots(2)$$

#### 4.7 MEIOS DE CULTURA

##### 4.7.1 Meio de aveia 1

**Composição:** 40,0 g farinha de aveia, 20,0 g de ágar e 1000,0 mL de água destilada. **Modo de preparo:** A farinha de aveia e o ágar foram dissolvidos na água destilada, em seguida colocados em banho-maria à temperatura de 86°C durante 20 minutos.

##### 4.7.2 Meio de aveia 2

**Composição:** 150,0 g farinha de aveia e 1000,0 mL de água destilada. **Modo de preparo:** A farinha de aveia foi dissolvida na água destilada, em seguida colocados em banho-maria à temperatura de 86°C durante 20 minutos.

##### 4.7.2 Meio BDA

**Composição:** 200,0 g de batata, 20,0 g de sacarose, 20,0 g de ágar e água destilada 700,0 mL. **Modo de preparo:** As batatas foram colocadas na água destilada e conduzidas até a manta aquecedora. Em seguida, estas foram coadas para a obtenção do caldo. Neste caldo, acrescentou-se o ágar, a dextrose e a água destilada até completar-se 1000,0 mL.

Após o preparo, os meios de cultura foram esterilizados em autoclave durante 20 minutos a 121°C e 1 atm. Os meios e foram vertidos em placas de Petri (20,0 mL/placa), previamente esterilizada e após solidificação foi introduzido o inoculo.

#### 4.7.4 Meio diferencial para determinação da produção de atividade enzimática

A produção de celulase total (endoglucanase e exoglucanase) - FPase em meio de cultura foi verificada por meio do método de difusão em gel de ágar, em placas de *Petri*, contendo o meio de cultura apresentado na Tabela 1. As placas foram incubadas a 28°C (±°C) pelo período de 72 horas. A revelação das placas de *Petri* foi realizada pela adição de 1 mL de solução de lugol fraco, aguardou-se 1 minuto para a visualização do halo de degradação do papel de filtro.

**Tabela 1-** Composição dos meios de cultivo utilizados, para detecção de celulase.

Componente	Quantidade
Papel de filtro	20,0g
Ágar	20,0g
Água destilada	1000,0mL

Fonte: Autor.

#### 4.8 VELOCIDADES DE CRESCIMENTO DOS FUNGOS

A velocidade de crescimento dos fungos isolados foi avaliada em Meio de aveia 2. A inoculação foi realizada pontualmente no centro das placas de *Petri* contendo o meio de cultivo. As placas foram mantidas em BOD a 30°C por 72 horas. O crescimento dos fungos foi avaliado a partir da medida dos raios de crescimento fúngico a cada 24 horas, utilizando uma régua milimétrica. Os experimentos foram realizados em triplicata. A velocidade de crescimento radial foi calculada através da regressão linear dos dados de raio das colônias versus tempo, segundo a Equação 3. A velocidade de crescimento radial (VCR) é o coeficiente angular da reta obtida a partir da regressão linear dos raios das colônias em função do tempo, portanto, quanto maior a inclinação da reta, maior é a velocidade de crescimento radial, maior o potencial de crescimento do fungo e o potencial de degradação da fonte de carbono adicionada (ROVEDA, 2010).

$$r(\text{cm}) = \text{VCR} \cdot t + b \dots\dots\dots(3)$$

#### 4.9 MANUTENÇÃO E CONSERVAÇÃO DOS ISOLADOS

Para maior tempo de conservação dos isolados fúngicos, estes foram conservados pelo método descrito por Castellani (1967), em que colônias puras de fungos foram colocadas em

micro tubos previamente esterilizados, contendo água destilada esterilizada. Posteriormente, os frascos foram selados e identificados para serem guardadas em armários mantidos em temperatura ambiente.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 COLETAS, PLAQUEAMENTO E ISOLAMENTO

O processo de compostagem durou de noventa e três dias. E ao total foram realizadas sete (7) coletas.

Ao final das sete coletas foram obtidos 36 isolados fúngicos. A Tabela 2 apresenta o número de isolados obtidos em cada coleta. Apesar do grande número de isolados obtidos, pode-se afirmar que não foram isolados todos os microrganismos presentes no sistema, pois conforme Miller (1992) o processo de compostagem é marcado por uma contínua mudança das espécies de microrganismos envolvidos, devido às modificações nas condições do meio, sendo praticamente impossível identificar todos os presentes.

**Tabela 2** - Números de Isolados obtidos em cada coleta.

COLETAS	ISOLADOS OBTIDOS
01	04
02	05
03	07
04	06
05	04
06	05
07	05

Fonte: Autor.

As amostras retiradas do tanque de compostagem foram diluídas em série e plaqueadas conforme descrito no item **Plaqueamento**. A Tabela 3 apresenta os valores de UFCs verificadas em cada coleta.

**Tabela 3** - Números de colônias de cada coleta.

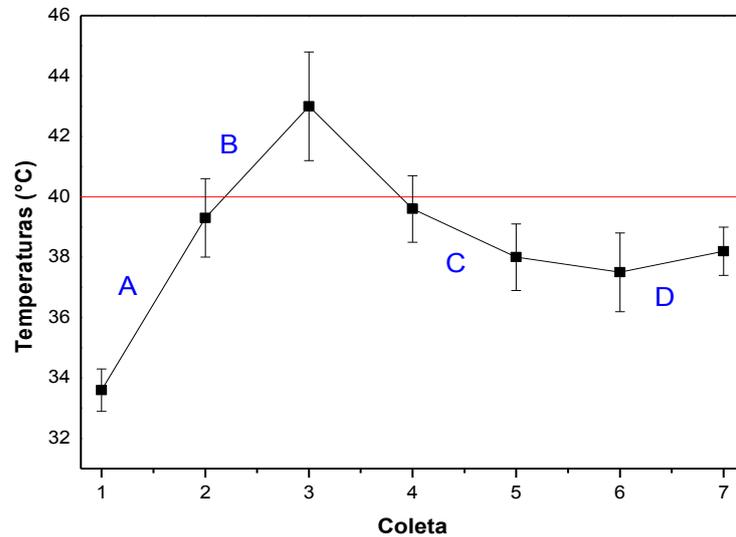
<b>COLETAS</b>	<b>UFC/g</b>
01	$5,0 \times 10^4$
02	$6,0 \times 10^4$
03	$3,5 \times 10^4$
04	$3,0 \times 10^4$
05	$2,4 \times 10^4$
06	$4,7 \times 10^4$
07	$3,5 \times 10^4$

Fonte: Autor.

## 5.2 TEMPERATURA E UMIDADE DA COMPOSTEIRA

A temperatura no tanque de compostagem variou entre 34°C e 43°C. Segundo Trautmann e Olynciw (2005), o processo de compostagem pode ser dividido em quatro fases conforme a variação da temperatura. Na Figura 8 está sendo apresentada a variação de temperatura do tanque de compostagem durante o processo acompanhado. No gráfico 1 podem ser observadas as fases mesofílica que está situado abaixo da linha vermelha e a fase termofílica indicada acima da linha vermelha. É possível observar quatro fases, a primeira fase sendo a mesofílica com duração média de 15 dias, foi possível realizar duas coletas dessa fase. A segunda fase a termofílica com duração média de um mês gerou apenas uma coleta, a terceira fase a de resfriamento que teve início no momento em que a composteira iniciou a perda de temperatura. Nesta fase foram realizadas três coletas. Por último, pode-se identificar a fase de maturação que gerou as duas últimas coletas.

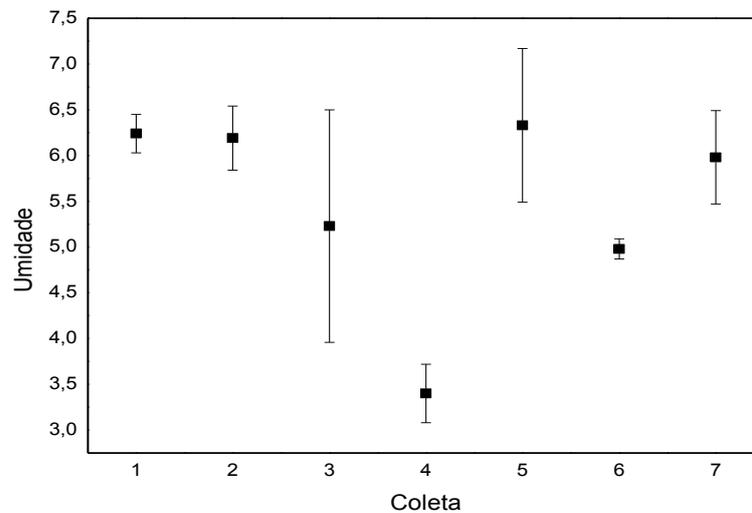
**Gráfico 1-** Variação de temperatura no tanque de compostagem nas sete coletas realizadas (-■-). Os limites superiores e inferiores indicam o desvio padrão. As fases da compostagem estão representadas por letras, sendo A: fase mesofílica, B: fase termofílica, C: fase de resfriamento e D: fase de maturação.



Fonte: Autor.

No gráfico 2 encontram-se os resultados dos teores de umidade referentes a cada coleta. Como pode ser observado os valores variaram de 3,0% a 6,2%. Segundo Kiehl (1985) os valores ideais de umidade na compostagem estão na faixa de 40,0% a 60,0%.

**Gráfico 2-** Umidade da amostra verificada após 24h.



Fonte: Autor.

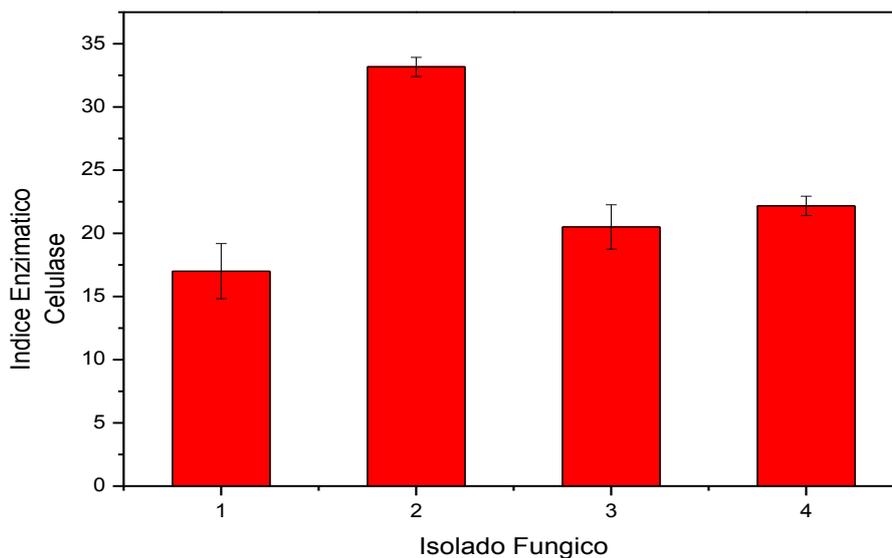
A aeração é considerada como o principal mecanismo capaz de evitar altos índices de temperatura durante o processo de compostagem, além de aumentar a velocidade de oxidação e de diminuir a liberação de odores e reduzir o excesso de umidade de um material em decomposição (PEREIRA NETO, 1994; KIEHL, 2004), dessa forma, os baixos valores de temperatura e umidade devem-se, provavelmente, ao fato das coletas terem sido realizadas um dia após o revolvimento do composto, o que proporcionou diminuição da temperatura e da umidade.

### 5.3 DETECÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE CELULASE TOTAL (FPase)

#### 5.3.1. Coleta 1

Os quatro (4) isolados fúngicos obtidos a partir da primeira coleta, em que foi verificada temperatura média de 36,5°C foram avaliados quanto à capacidade de produção de celulase. Os resultados expressos por meio do índice enzimático (IE) para a produção de celulase estão apresentados no gráfico 3. O isolado 2 apresentou o maior valor de IE, sendo ele 33,17, já o isolado 1 apresentou o menor IE com valor de 17,0.

**Gráfico 3-** Índice enzimático (IE) para Celulase (FPase) dos isolados fúngicos obtidos a partir da primeira coleta, com temperatura média no tanque de compostagem de 38,46°C. Incubação a 30°C durante 72 h, utilizando papel de filtro como substrato. Resultados de média  $\pm$  desvio padrão.

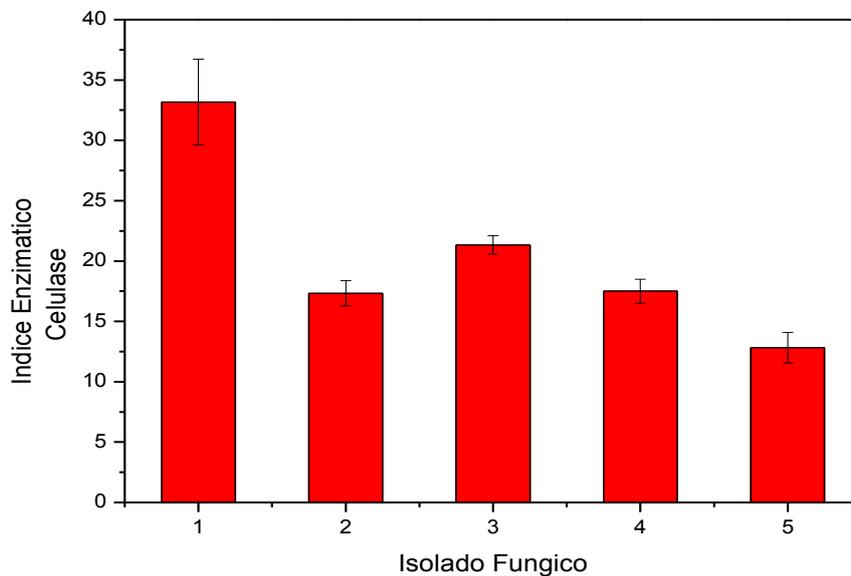


Fonte: Autor.

### 5.3.2. Coleta 2

Todos os cinco (5) isolados fúngicos obtidos a partir da segunda coleta, temperatura média de 39°C, (4) apresentaram a capacidade de produção de celulase. Os resultados expressos por meio do índice enzimático (IE) para a produção de celulase estão apresentados no gráfico 4. O isolado 1 apresentou o maior valor de IE, de 33,17, já o isolado 5 apresentou o menor IE com valor de 12,83.

**Gráfico 4-** Índice enzimático (IE) para Celulase (FPase) dos isolados fúngicos obtidos a partir da segunda coleta, com temperatura média no tanque de compostagem de 38,46°C. Incubação a 30°C durante 72 h, utilizando papel de filtro como substrato. Resultados de média  $\pm$  desvio padrão.



Fonte: Autor.

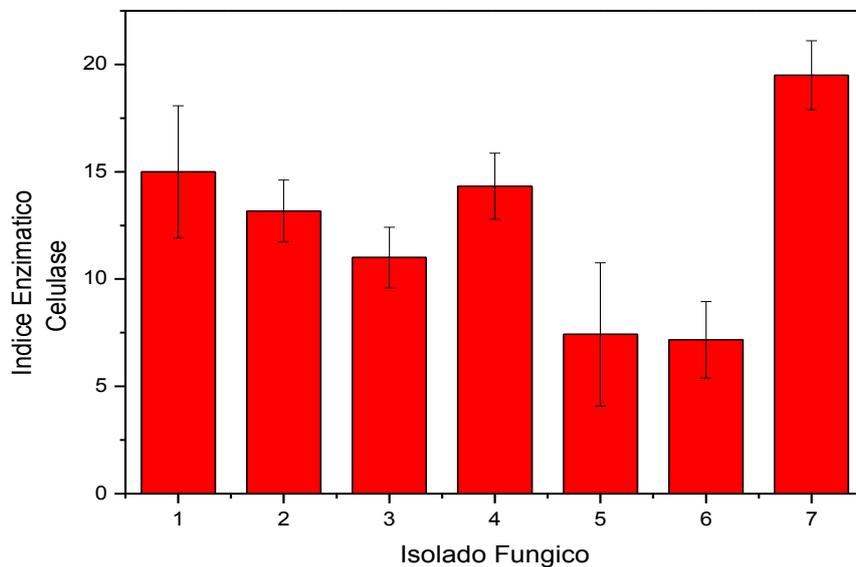
### 5.3.3. Coleta 3

Os sete (7) isolados fúngicos obtidos a partir da terceira coleta, fase em que foi verificada temperatura média de 43,0°C apresentaram potencial de produção de celulase. Os resultados expressos por meio do índice enzimático (IE) para a produção de celulase estão apresentados no gráfico 5. O isolado 7 apresentou o maior valor de IE, de 19,5. O isolado 6 não apresentou halo de degradação com 72 h de incubação, entretanto, o halo de degradação pode ser verificado com 120h, tendo sido calculado IE de 7,17.

O método de difusão em gel de ágar baseia-se na capacidade da enzima em difundir-se pelo meio de cultura, e esse processo deve-se entre outros motivos, ao tamanho da molécula

da enzima (GIONGO et al.; 2006 e GONÇALVES et al.; 2007). Sendo assim, a ausência de produção de halo de degradação não indica necessariamente que não há a produção da enzima, tal como observado para o isolado 6. Em trabalho realizado por Heinz et al (2014), com microrganismos termófilos, a partir de fungos isolados de resíduo de processamento de papel, tendo CMC e avicel como substrato e sendo incubados durante 5 dias, obtiveram o valor máximo de Índice Enzimático de 2,29.

**Gráfico 5** - Índice enzimático (IE) para Celulase (FPase) dos isolados fúngicos obtidos a partir da terceira coleta, com temperatura média no tanque de compostagem de 38,46°C. Incubação a 30°C durante 72 h, utilizando papel de filtro como substrato. Resultados de média  $\pm$  desvio padrão.

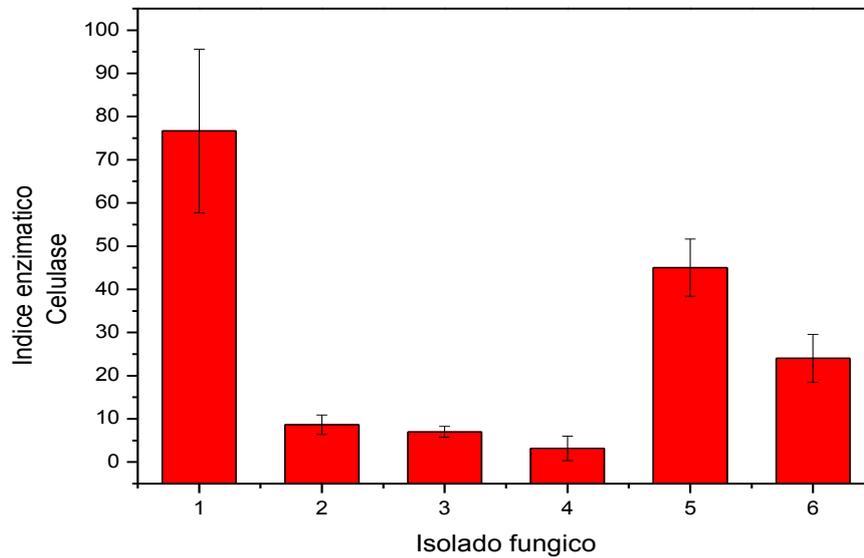


Fonte: Autor.

#### 5.3.4. Coleta 4

Os seis (6) isolados fúngicos obtidos a partir da quarta coleta, temperatura média de 39,5°C foram capazes de produzir celulase (FPase). Os resultados expressos por meio do índice enzimático (IE) para a produção de celulase estão apresentados no gráfico 6. O isolado 1 apresentou o maior valor de IE (76,67), já os isolados 2,3 e 4 apresentaram os menores IE com valores de 8,87; 7 e 3,17.

**Gráfico 6** -Índice enzimático (IE) para Celulase (FPase) dos isolados fúngicos obtidos a partir da quarta coleta, com temperatura média no tanque de compostagem de 38,46°C . Incubação a 30°C durante 72 h, utilizando papel de filtro como substrato. Resultados de média  $\pm$  desvio padrão.

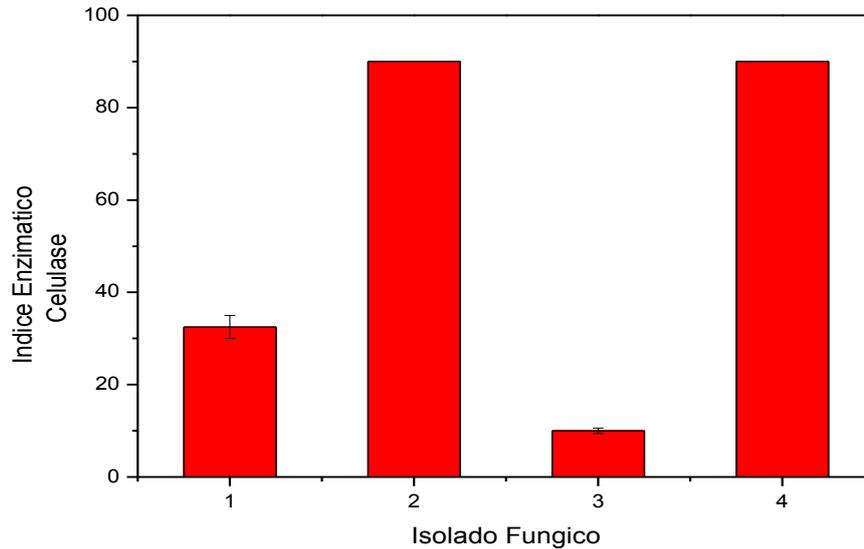


Fonte: Autor.

### 5.3.5. Coleta 5

Os quatro (4) isolados fúngicos obtidos a partir da quinta coleta, foi verificada temperatura média de 38°C foram avaliados quanto à capacidade de produção de celulase. Os resultados expressos por meio do índice enzimático (IE) para a produção de celulase estão apresentados no gráfico 7. Os isolado 2 e 4 , foram os que apresentaram os maior valores de IE, sendo eles 90 e 90, já o isolado 3 apresentou o menor IE com valor de 10.

**Gráfico 7** -Índice enzimático (IE) para Celulase (FPase) dos isolados fúngicos obtidos a partir da quinta coleta, com temperatura média no tanque de compostagem de 38,46°C . Incubação a 30°C durante 72 h, utilizando papel de filtro como substrato. Resultados de média  $\pm$  desvio padrão.

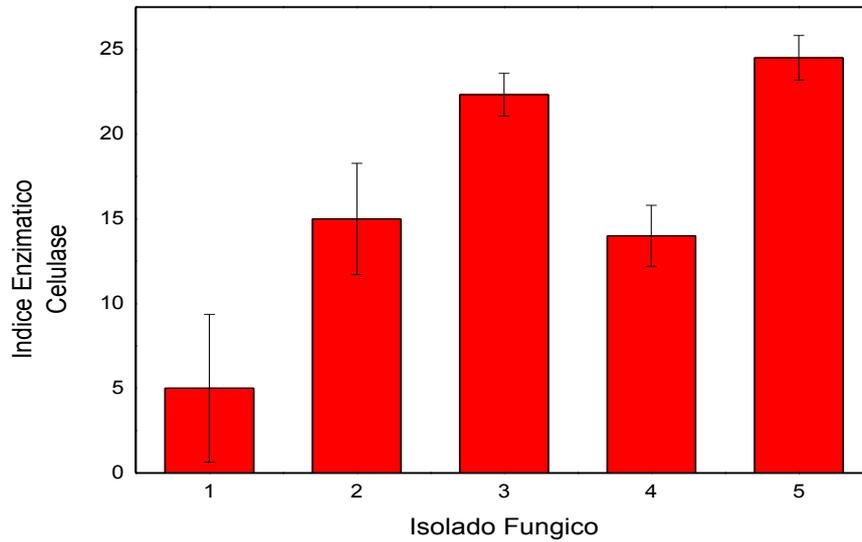


Fonte: Autor.

### 5.3.6. Coleta 6

Todos os cinco (5) isolados fúngicos obtidos a partir da sexta coleta, temperatura média de aproximadamente 38°C, apresentaram atividade de celulase (FPase) e os valores dos IEs estão apresentados no gráfico 8. Os isolados 3 e 5 foram os que apresentaram maiores valores de IE, sendo eles 22,33 e 24,5, já o isolados 5 apresentou o menor valor de IE 5.

**Gráfico 8** - Índice enzimático (IE) para Celulase (FPase) dos isolados fúngicos obtidos a partir da sexta coleta, com temperatura média no tanque de compostagem de 38,46°C. Incubação a 30°C durante 72 h, utilizando papel de filtro como substrato. Resultados de média  $\pm$  desvio padrão.

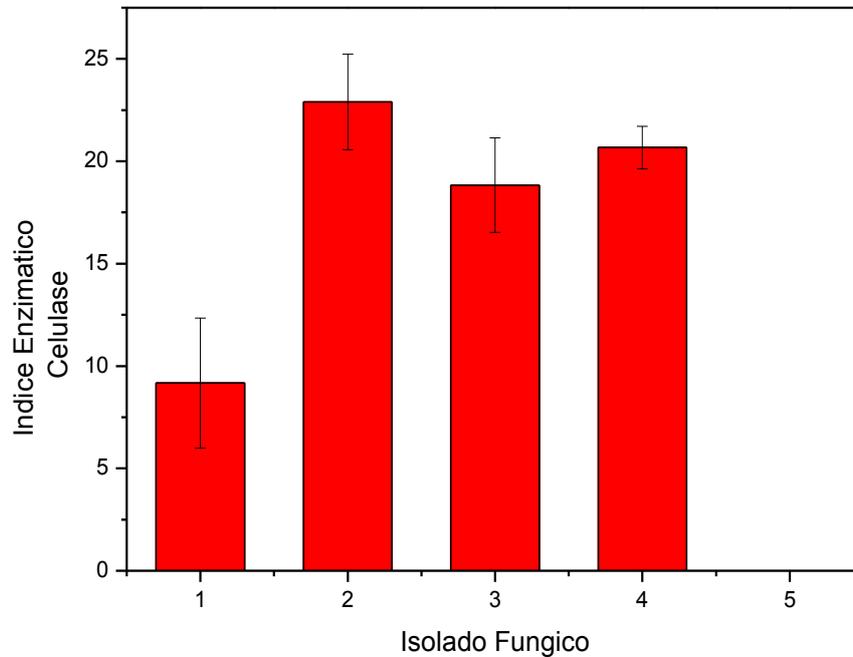


Fonte: Autor.

### 5.3.7. Coleta 7

Dentre os cinco (5) isolados fúngicos obtidos a partir da sétima coleta, temperatura média de 39°C, apenas quatro (4) foram capazes de produzir celulase. Os resultados expressos por meio do índice enzimático (IE) para a produção de celulase estão apresentados no gráfico 9. O isolado 2 apresentou o maior valor de IE, de 22,9, o isolado 5 não foi capaz de degradar o substrato, nas condições avaliadas.

**Gráfico 9-** Índice enzimático (IE) para Celulase (FPase) dos isolados fúngicos obtidos a partir da sétima coleta, com temperatura média no tanque de compostagem de 38,46°C. Incubação a 30°C durante 72 h, utilizando papel de filtro como substrato. Resultados de média  $\pm$  desvio padrão.



Fonte: Autor.

Os altos valores de desvios padrões verificados nas Figuras 10 a 16 devem - se a dificuldade da enzima se difundir no gel de ágar, o que pode ser afetado pela temperatura de incubação, uma vez que esta pode deixar o meio mais ou menos fluido facilitando ou dificultando da difusão da enzima pelo meio. Esse e outros fatores como pH temperatura também podem interferir na expressão do desempenho enzimático.

### 5.5 DESEMPENHOS DO TANQUE DE COMPOSTAGEM

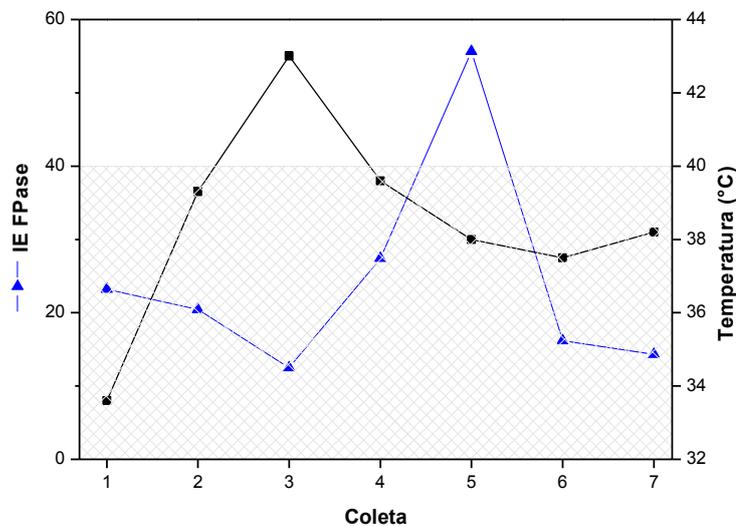
A observação do gráfico 10 indica que este trabalho contribui para o entendimento da ecologia microbiana durante a compostagem, uma vez que pode-se verificar o perfil de produção de celulase no referido processo.

Pode-se afirmar que os microrganismos com os melhores desempenhos médios de produção de celulase (FPase) foram encontrados entre a fase de resfriamento e maturação. O fato da maior produção de celulase ocorrer ao final do processo de compostagem indica que a degradação de substratos mais facilmente assimiláveis, como o amido, por exemplo, ocorre

nas fases iniciais da compostagem, enquanto a degradação de substratos mais complexos, como a celulose e hemicelulose, ocorre principalmente ao final do processo, quando as moléculas facilmente assimiláveis já estão exauridas, o que corrobora com Gomes et al. (2007).

Na fase termofílica foram verificados baixos índices enzimáticos, provavelmente, devido às condições não serem favoráveis para o desenvolvimento dos microrganismos celulolíticos. O gráfico ainda permite afirmar que os microrganismos com os maiores IE podem ser organismos termofílicos, pois eles sobreviveram à fase termofílica, mas só foram encontrados na fase final do processo (KIEHL, 2002; HU et al., 1998; MIYASHITA et al., 2001).

**Gráfico 10** - Produção de celulase média dos microrganismos isolados durante a compostagem. A região hachurada indica a região mesofílica.



Fonte: Autor.

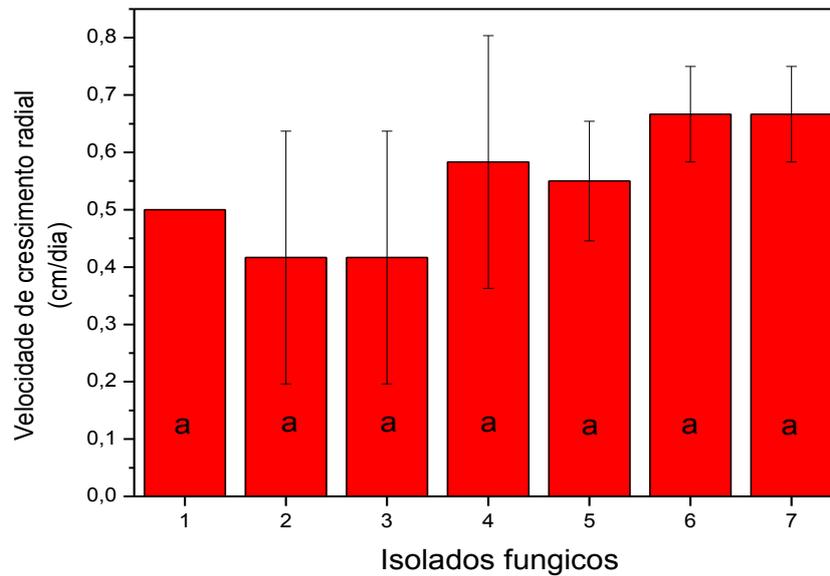
### 5.3 VELOCIDADES DE CRESCIMENTO

Considerando que microrganismos isolados em ambientes termófilos são capazes de produzir enzimas termoestáveis que podem ser aplicadas em processos biotecnológicos exigem altas temperaturas, os microrganismos que foram isolados no tanque de compostagem na terceira coleta (43°C temperatura máxima verificada) foram avaliados quanto à velocidade de crescimento, visando projetos futuro. Isso porque segundo Massukado (2008) os

microrganismos com os melhores desempenhos do processo, são encontrados nas maiores temperaturas, diante disso foram avaliados os microrganismos obtidos na terceira coleta quanto à velocidade de crescimento. O teste de Tukey indica que não houve diferenças significativas entre o crescimento dos isolados fúngicos.

Para a avaliação do crescimento dos microrganismos isolados na terceira coleta à altas temperaturas, novos estudos são necessários.

**Gráfico 11** - Velocidade de crescimento radial em cm por dia (VRC) verificado em meio de aveia 2 a 30°C durante 72 h. Resultados de média  $\pm$  desvio padrão; Teste de Tukey: letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Os experimentos foram realizados em triplicata.



Fonte: Autor.

## 6 CONCLUSÕES

Este trabalho levando em consideração os resultados obtidos, pode obter as seguintes conclusões:

- Este trabalho proporcionou o desenvolvimento de uma coleção de fungos filamentosos com potencial de produção de enzimas celulolíticas, que podem ser utilizados para contribuir para o desenvolvimento de tecnologia enzimática;
- Através da avaliação da temperatura foi possível expressar o comportamento da temperatura no tanque de compostagem conforme descrito na Figura 8 e identificar as fases durante todo o processo de compostagem;
- Todos os 36 isolados fúngicos obtidos neste trabalho apresentaram potencial para a produção de celulase (FPase), com exceção do isolado 5 da sétima coleta que não apresentou atividade de celulase;
- O presente trabalho também possibilitou uma abertura para a realização de novas pesquisas com o intuito de descobrir mais características dos microrganismos, bem como aplicações destes em processos industriais.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, J. D. W.; FROSTICK, L. E. **Analysis of bacterial activity, biomass and diversity during windrow composting**. Waste Management, Hull. v. 29, p. 598–605, 2009.
- ALEXANDER, M. **Introdução à microbiologia do solo**. 2 ed. Nova York: John Wiley & Sons, 1977.
- BARREIRA, L. P. **Avaliação das usinas de compostagem do estado de São Paulo em função da qualidade dos compostos e processos de produção**. 2005. Tese de doutorado. São Paulo, São Paulo, Brasil - Universidade de São Paulo. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/>>. Acesso em: 29 de Outubro de 2016.
- BEGUIN, P.; Aubert, J. P., **The biological degradation of cellulose**. FEMS Microbiology Reviews, 13, p. 25-58, 1994.
- BERNAL, M. P.; SÁNCHEZ-MONEDERO, M. A.; PAREDES, C.; ROIG, A. **Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil**. Agriculture Ecosystems & Environment, v. 69, p. 175-189, 1998.
- BHAT, M. K. e BHAT, S. **Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications**. Biotechnol. Adv., 15 (3/4), p. 583-620, 1997.
- BRITO, L. M. **Manual de Compostagem**. Escola Superior Agrária de Ponte de Lima. 2008. Disponível em: . Acesso em: 11 mar. 2010.
- BHAT, M. K. **Cellulases and related enzymes in biotechnology**. *Biotechnology Advances*, v.18, n. 5, p. 355–383, 2000.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Agenda Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. Brasília: Editora MS. 2005, 1017p.
- CANTÍDIO ALMEIDA DE OLIVEIRA , Emídio ; HENRIQUE SARTORI , Raul ; B. GARCEZ , Tiago. **COMPOSTAGEM**. 2008. 19 f. Dissertação(Mestrado)- ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA LUIZ DE QUIEROZ , Piracicaba, 2008.
- CARLI, Saete Terezinha. **Uso de degradadores biológicos na aceleração do processo de compostagem dos resíduos orgânicos vegetais e palhas de embalagem – estudo de caso na ceasa-curitiba**. 159 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Tuiuti do Paraná – Curitiba – PR, 2010.
- CASTELLANI, A. A. Maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man in sterile distilled water: further researches. **Journal of Tropical Medicine & Hygiene**, Mclean v. 70, p. 181-184, 1967.
- CAO, Y. e TAN, H. **Effects of cellulase on the modification of cellulose**. Carbohydr. Res., 337, p. 1291–1296, 2002.
- CASTRO, M. A.; PEREIRA Jr. N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 33, p. 181-188, 2010.

- CERRI, C. E. P. **Compostagem**. Piracicaba, 2008. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Compostagem\\_000fhc8nfqz02wyiv80efhb2adn37yaw.pdf](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Compostagem_000fhc8nfqz02wyiv80efhb2adn37yaw.pdf)>. Acesso em: 28 de Outubro de 2016.
- COELHO, F. C.. **Manual Técnico**, Programa Rio Rural. Niterói: 2008. Disponível em: <[http://www.pesagro.rj.gov.br/downloads/riorural/03%20 Composto %20Organico.pdf](http://www.pesagro.rj.gov.br/downloads/riorural/03%20Composto%20Organico.pdf)>. Acesso em 30 de Novembro de 2016.
- CORRÊA, D.; PRESSI, F. P.; JACOMETTI, M. L. G.; SPITZNER JR., P. I.; PAREDES, E. A. Tecnologia de fabricação de fertilizantes orgânicos. In: CERRI, C. C.; ATHIÉ, D. The regional colloquium on soil organic matter studies. **Proceedings...** São Paulo, 1982, p.217-222.
- COSTA, M.S.S.M.; COSTA, L.A.M.; SESRAK,M.; OLIBONE, D.; SESTAK, D.; KAUFMANN, A.V.; ROTTA, S.R. **Compostagem de resíduos da indústria de desfibrilação de algodão**. 2005. Eng. Agric. Jaboticabal, v25, p.540-548.
- COWARD-KELLY, G.; AIELLO-MAZZARI, C.; KIM, S.; GRANDA, C.; HOLTZAPPLE, M., Suggested improvements to the standard filter paper assay used to measure cellulase activity. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 82, p. 745-749, 2003.
- CUNHA Queda, A.C.F. 1999. **Dinâmica do azoto durante a compostagem de materiais biológicos putrescíveis**. Dissertação de doutoramento em Engenharia Agro-Industrial, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal. 257pp.
- D'ALMEIDA, M. L. O.; VILHENA, A. **Lixo municipal: manual de gerenciamento integrado**. 2. ed. São Paulo: IPT/CEMPRE, 2000. 370 p.
- DIAS, D. C. da S.; **Estratégias para gerenciamento de resíduos sólidos urbanos no município de Piracanjuba-go**. 147 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Católica de Goiás - Goiânia – GO, 2009.
- DILLON, A. Celulases. In: Said, S.; Pietro, R.C.L. **Enzimas como agentes biotecnológicos**. *Ribeirão Preto: Legis Summa*, p. 243-270,2004.
- DIENES, D.; EGYHÁZI, A. e RÉCZEY, K. **Treatment of recycled fiber with Trichoderma cellulases**. *Ind. Crop. Prod.*, 20, p. 11-21, 2004.
- EPSTEIN, E. **The science of composting**. Lancaster: Technomic Publishing Company, 1997. 487 p.
- FERNANDES, F.; SILVA, S. M. C. P. PROSAB - Programa de Pesquisa em Saneamento Básico. **Manual Prático para a Compostagem de Biossólidos**. Rio de Janeiro: ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1999.
- FERNANDES ZÓIA, D. **Éteres de Celulose com excelentes propriedades em alimentos**. Disponível em:<<http://www.hidrocoloides.com.br/2013/04/hpmc-hidroxipropilmetilcelulose-e-mc.html>>. Acesso em: 03 abr. 2017.
- FOGARTY, A. M; TOUVINEN, O. H. Microbiological degradation of pesticides in yard waste composting. **Microbiological Reviews**, Washington, v.55, p. 225-223, 1991.

FREUDENRICH, Craig. **How Stuff Works - Como funciona a compostagem**. Publicado em 02 de abril de 2001 (atualizado em 29 de outubro de 2007). Disponível em: Acesso em 30 de Novembro de 2016.

GIONGO, J.L. **Caracterização e Aplicação de proteases Produzidas por Linhagens de Bacillus sp.** UFRS, 81p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós – Graduação em Microbiologia agrícola e do Ambiente - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. RS, 2006.

GOMES, E.; Guez, M.A.U.; Martin,N.; Silva R. Enzimas termoestáveis: fontes, produção e aplicação industrial. **Química Nova**, 30:136-145. 2007.

GONÇALVES, F.A.G. **Produção de lipase extracelular por leveduras em cultivo submerso**. Dissertação (Mestrado). 2007, 67p. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2007.

GUSTINELLI BORTOLAZZO, Nara **Isolamento e seleção de fungos celulolíticos para hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar**. 2011.77 f. Dissertação de Mestrado, Licenciatura em Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011. Disponível em:<[http://file:///E:/Trabalhos%20acadêmicos/TCC/downloads%20do%20tcc/Nara\\_Gustinelli\\_Bortolazzo.pdf](http://file:///E:/Trabalhos%20acadêmicos/TCC/downloads%20do%20tcc/Nara_Gustinelli_Bortolazzo.pdf)>. Acesso em: 03 abr. 2017.

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

HU, D.; Wang, R.; Yan, J.; Xu, C.; Wang, Y. A pilot ecological engineering project for municipal solid waste reduction, disinfection, regeneration and industrialization in Guanghan City, China. **Ecol. Eng.**, Oxford, v. 11, p. 129–138, 1998.

INÁCIO, C. de T.; MILLER, P. R. M. **Compostagem: ciência e prática para a gestão de resíduos orgânicos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 156p. v. 1.

JOSHI, C. P.; MANSFIELD, S. D. **The cellulose paradox - simple molecule, complex biosynthesis**. Curr. Opin. Plant Biol., v. 10, p. 220–226, 2007.

JUHÁSZ, T.; SZENGYEL, Z.; RÉCZEY, K.; SIIKA-AHO, M. e VIIKARI, L. **Characterization of cellulases and hemicellulases produced by Trichoderma reesei on various carbon sources**. Process Biochem, v. 40, p. 3519-3525, 2005.

KIEHL, E. J. **Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto**. 4. Edição. Piracicaba: E. J. Kiehl, 2004, 173p.

KIEHL, E.J. **Manual de Compostagem: Maturação e qualidade do composto**. 3ª Edição. Piracicaba, SP: E. J. Kiehl, 2002. 171 p.

KIEHL, E. J. **Manual de Compostagem: maturação e qualidade do composto**. Piracicaba, SP. E. J. Kiehl, 1998.

KIEHL, E.J. **Fertilizantes orgânicos**. São Paulo, Ceres, 1985.

KIRKY, T. K.; FARREL, R. L. Enzymatic “combustion”: the microbial degradation of lignin. **Annual Review of Microbiology**, v.41, p.465-505, 1987.

KUBITZA, F.; CAMPOS, J. L. **O aproveitamento dos subprodutos do processamento de pescado**. Panorama da Aquicultura, Rio de Janeiro, v. 16, n. 94, p. 23-29, 2006.

MALHEIROS, Sergio M. P. **Avaliação do processo de compostagem utilizando resíduos agroindustriais**. Campinas-SP, 1996. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=vtls000116365>>. Acesso em: 24/02/2017.

MANDELS, M. **Applications of cellulases**. Biochemical Society Transactions,13, p. 414-415, 1985.

MASSUKADO, L. M. **Desenvolvimento de processo de compostagem em unidade descentralizada e proposta de software livre para gerenciamento municipal de resíduos sólidos domiciliares**. Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, São Carlos. 2008. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/>>. Acesso em: 29/10/2016.

MELO, Itamar Soares de. A importância da celulase na degradação de matéria orgânica. In: FRIGHETTO, R. T. S.; VALARINI, P. J. **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo**: manual técnico. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000, 198p.

MERCKEL, A. J. **Gerenciamento de resíduos sólidos** , 1981.

Miller, F.C. 1992. **Composting as a process base don the control of ecologically selective factors**. In: Meeting, F.B. Soil Microb. Ecol., 18: 515- 543.

MIYASHITA, C. M.; ROSSINI, E.; CUNHA, E. Q.; IWATA, M. K.; MALUF, W. R. **Compostagem e sua aplicação**. Universidade Federal de Lavras. Boletim técnico de Hortaliças Nº 66; 1ª Edição, 2001.

MUSSATTO, S.I. FERNANDES, M.; MILAGRES, A.M.F. Enzimas: poderosa ferramenta na indústria. **Revista Ciência Hoje**, v.41, n. 242,2007.

NEIDLEMAN, S.L. Enzymes in the food industry: a backward glance. **Food Technology**,Chicago, v. 45, p. 88-91, 1991.

OLIVEIRA, A. M. G.; AQUINO, A. M.; CASTRO NETO, M. T. **Compostagem caseira de lixo orgânico doméstico**. Cruz das Almas, 2005. Disponível em: <[https://www2.dti.ufv.br/noticia/files/anexos/phpk6sIUt\\_4827.pdf](https://www2.dti.ufv.br/noticia/files/anexos/phpk6sIUt_4827.pdf)>. Acesso em: 28 de Outubro de 2016.

OLIVEIRA , E. C. A.; SARTORI , R. H.; GARCEZ, T. B .**COMPOSTAGEM**. Disponível em:<[https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Compostagem\\_000fhc8nfqz02wyiv80efhb2adn37yaw.pdf](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Compostagem_000fhc8nfqz02wyiv80efhb2adn37yaw.pdf)>.Acesso em:03 abr. 2017.

OLIVEIRA, Selene. **Compostagem:Vermicompostagem**. Apostila elaborada para o curso de Zootecnia da UNESP/fca- Depto de Recursos Naturais, Campus de Botucatu. Botucatu: UNESP, 2001 Disponível em: < [http://www.darwinnet.org/docs/Compostagem\\_Vermicompostagem.pdf](http://www.darwinnet.org/docs/Compostagem_Vermicompostagem.pdf)>. Acesso em: 14 de novembro de 2016.

- OLIVEIRA, R., 2000. **Tratamento de resíduos sólidos**. Universidade do Minho, Braga, Portugal.
- OLSSON, L.; HAHN-HAGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production. **Enzyme Microbiology Technology**, v. 18, p. 312-331, 1996.
- PEIXOTO, R. T. dos G. Compostagem: opção para o manejo orgânico do solo. Londrina : IAPAR, 1988. (**IAPAR. Circular, 57**).
- PEREIRA Jr., N.; Couto, M. A. P.; Santa Anna, L. M. M. **Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production within the context of biorefinery**. Series on Biotechnology, Ed. 1, v. 2, 2008.
- Pereira Neto, J.T. 2007. **Manual de compostagem: processo de baixo custo**. UFV. Viçosa. 81 p.
- PEREIRA NETO, J.T. **Manual de compostagem processo de baixo custo**. Belo Horizonte: UNICEF. 56p. 1996.
- PEREIRA NETO, J. T.; CUNHA, W. G. **Influência da inoculação de composto orgânico maturado, no período de compostagem de resíduos orgânicos**. In: XVIII Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Salvador, 1995.
- PEREIRA NETO, J.T. Tratamento, reciclagem e impacto ambiental de dejetos agrícolas. In: CONFERÊNCIA SOBRE AGRICULTURA E MEIO AMBIENTE, 1., 1992, Viçosa. Anais... Viçosa: UFV-NEPEMA, 1994. p.61-74.
- PETROVA, S. D.; BAKALOVA, N. G. e KOLEV, D. N. **Properties of two endoglucanases from a mutant strain Trichoderma sp. M7**. Biotechnol. Lett., v. 24, p. 2107- 2111, 2002.
- PUYUELO, B.; GEA, T.; SÁNCHEZ, A. **A new control strategy for the composting process based on the oxygen uptake rate**. Chemical Engineering Journal, Lausanne, n.165, p.161-169, 2010.
- RASAPOOR, M.; NASRABADI, T.; KAMALI, M.; HOVEIDI; H. **The effects of aeration rate on generated compost quality, using aerated static pile method**. Waste Management, v. 29, p. 570-573, 2009.
- ROVEDA, M.; HEMKEMEIER, M.; COLLA, L. M. Avaliação da produção de lipases por diferentes cepas de microrganismos isolados em efluentes de laticínios por fermentação submersa **Ciênc. Technol. Aliment.**, Campinas, 30(1): 126-131. 2010.
- RUEGGER, M. J. S.; TAUKE-TORNISIELO, S. M. Atividade de celulasas de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n. 2, p. 205-211, 2004.
- TRAUTMANN, N.; OLYNCIWI, E. Compost Microorganisms. In: **CORNELL Composting, Science & Engineering**, 2005. Disponível em: Acesso em: 31/10/2016.
- TEERI, T. T. **Crystalline cellulose degradation: new insight into the function of cellobiohydrolases**. *Tibtech May.* , v. 15, p.160 – 167, 1997.

TEIXEIRA, R.F.F. Compostagem. In: HAMMES, V.S. (Org.) **Educação ambiental para o desenvolvimento sustentável**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002, v.5, p.120-123.

TOLAN, J. S.; Foody, B. **Cellulase from submerged fermentation**. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, vol. 65, 1999.

TUOMELA, M.; HATAKKA, A.; ITAVAARA, M. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. **Bioresource technology**, v. 72, p. 169-183, 2000.

VALENTE, B. S.; XAVIER, E.G.; MORSELLI, T. B. G. A.; JAHNKE, D. S.; BRUM, B. de S. Jr.; CABRERA, B. R.; MORAES, P de O. e LOPES, D. C. N. **Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos**. Archivos de zootecnia. v.58. p.60-76, 2009.

YUAN, Y., TAO, Y., ZHOU, S., YUAN, T., LU, Q., HE, J. Electron transfer capacity as a rapid and simple maturity index for compost. **Bioresource Technology**. v 116. p 428-434. 2012.

ZUCCONI F, De Bertoldi M. **Compost specifications for the production and characterization of compost from municipal solid waste**. In: M. de Bertoldi, editor. **Compost.- Production, Quality and Use**. pp.30-60, 1986.