

LÉLIO RONALDO MASSAI

**ANÁLISES QUÍMICAS E TESTE DE TOXICIDADE
DOS EFLUENTES KRAFT-E₁ E FINAL E₃, APÓS
TRATAMENTO COM O FUNGO *Lentinus edodes*.**

Este exemplar corresponde à redação final da tese do(a) candidato(a) <i>Lélio Ronaldo Massai</i>
<i>marcelo</i>
e aprovada pela Comissão Julgadora.
<i>19/12/96</i>

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Ciências, área Bioquímica.

Orientadora

Profa. Dra. Nora Marcela Haun Quirós

Campinas, dezembro de 1996

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL DA UNICAMP

M382a

Massai, Lélío Ronaldo

Análises químicas e teste de toxicidade dos efluentes Kraft-E₁ e final E₃, após tratamento com o fungo *Lentinus edodes* / Lélío Ronaldo Massai. -- Campinas, SP : [s.n.], 1996.

Orientador: Nora Marcela Haun Quirós.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

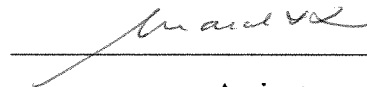
1. Indústria de polpa de madeira - Subprodutos.
 2. Fungos - Biotecnologia. 3. Química analítica.
 4. Toxicidade - Testes. I. Haun Quirós, Nora Marcela.
- II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

LOCAL E DATA: Campinas, 19 de dezembro de 1996

BANCA EXAMINADORA:

TITULARES

Profa. Dra. Nora Marcela Haun Quirós



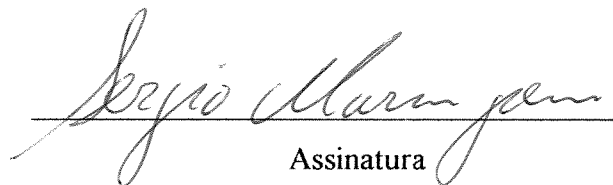
Assinatura

Profa. Dra. Lucia Pereira da Silva



Assinatura

Prof. Dr. Sérgio Marangoni



Assinatura

SUPLENTE

Prof. Dr. José Camillo Novello



Assinatura

APROVADO

“Nada resiste ao trabalho”

A minha mulher Lourdes
A meus filhos Gabriel e Rafael
agradeço e dedico
este trabalho

A minha mãe Rute
A Dna Lourdes, Dna Tóta e Sr. Rui
agradeço a ajuda

AGRADECIMENTOS

- A Pontifícia Universidade Católica de Campinas pelo auxílio econômico.
- A Profa. Dra. Marcela Haun, pela oportunidade, ajuda, estímulo e orientação.
- Ao Prof. Dr. Nelson Durán, pela atenção, ajuda e orientação.
- A todos os amigos do Departamento de Bioquímica em especial aos do Laboratório de Cultura de Células.
- A Sonia do HPLC, pela grande ajuda.
- Ao Chico do Laboratório de Química Biológica, pela ajuda na determinação do TOC.
- A Andréia da Secretaria da pós-graduação pela atenção.
- Aos docentes, funcionários e pós-graduandos do Departamento de Bioquímica da UNICAMP.

RESUMO

Muitos métodos - físicos, químicos e biológicos - tem sido testados na redução da poluição dos efluentes Kraft. E mesmo a tecnologia da reciclagem das águas de processo, que reduz consideravelmente o volume do efluente produzido está sendo muito estudado, contudo a reciclagem parcial utilizada na indústria não reduz necessariamente a emissão de resíduos tóxicos, a menos que se consiga zero de descartes de efluente. Muitos dos compostos formados durante o branqueamento da polpa, não são removidos no tratamento secundário causando sérios danos ao meio ambiente.

Neste estudo, análises químicas comparativas e um teste de toxicidade, foram realizadas nos efluentes Kraft-E₁ (primeira extração) e Final-E₃ (tratamento secundário). As amostras com o pH ajustados para 5,0 com H₂SO₄ 1M foram estocadas à 4°C em frascos de 500mL de polietileno. Após serem tratadas com o fungo *Lentinus edodes* UEC-2021 e após filtração (Millipore 0.22µm) as amostras foram analisadas. Foram obtidos, entre outros resultados, 51% de redução de cor e 65% de redução na concentração de fenol.

SUMMARY

Several methods - physical, chemical and biological - have attempted for reducing pollutants in Kraft Effluents with main purposes: the reuse of water tap and reduce volumes to be discharged. Despite their low toxicity, pulp and paper discharges have a toxic impact on receiving waters because of tremendous volumes discharged with color persisting and organic pollutants even in treated and partially treated effluents. Many compounds formed during pulp bleaching are not removed in the secondary treatment leading to a pulp mill effluent content of hundred different compounds.

In this study a comparative chemical analysis was made with samples of Kraft Effluent-E₁ (first extraction) a main type of chlorine bleach plant wastewater and with the Final Effluent-E₃ after treatment in aerated lagoon with hydraulic dectention time of 3 days. The samples were pH adjusted to 5.0 with H₂SO₄ 1M and stored at 4°C in polyethylene bottles in volumes of 500mL to ensure that all assays would be done with same effluent samples. After incubation with *Lentinus edodes* UEC-2021 and filtration (Millipore 0.22µm) samples were conveniently prepared for analysis. It was obtained a 51% color removal and a 65% reduction value for phenol.

ÍNDICE

RESUMO

SUMMARY

1) INTRODUÇÃO.....	01
1.1) Histórico.....	01
1.2) Industrialização da madeira.....	03
1.3) O processo Kraft.....	05
1.4) Caracterização das águas do processo Kraft.....	07
1.5) Tratamento de águas residuárias.....	09
1.6) Caracterização do fungo <i>Lentinus edodes</i> UEC-2021.....	10
2) OBJETIVOS GERAIS	12
3) PARTE EXPERIMENTAL.....	13
3.1) Coleta e preparação das amostras.....	13
3.2) Tratamento das amostras com o fungo <i>Lentinus edodes</i>	13
3.3) Métodos analíticos.....	14
3.3.1) Determinação de COT (carbono orgânico total).....	14
3.3.2) Determinação de cloretos.....	15
3.3.3) Determinação de cor.....	15
3.3.4) Determinação de fenóis totais.....	16
3.3.5) Determinação de fenol e guaiacol via CLAE (cromatografia líquida de..... alta eficiência).....	16
3.3.6) Determinação de clorolignina.....	17
3.3.7) Determinação de CO ₂ - Sistema FIA (Flow Injection Analysis).....	17
3.3.8) Teste de Toxicidade	19

4) RESULTADOS.....	21
4.1) Nomenclatura das amostras.....	21
4.2) Ordem de apresentação dos resultados.....	21
4.3) Esquema geral dos efluentes.....	22
4.4) Resultados das análises químicas.....	23
4.4.1) Carbono orgânico total (COT).....	23
4.4.2) Cloreto.....	24
4.4.3) Cor.....	25
4.4.4) Fenol total.....	26
4.4.5) Fenol via cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	27
4.4.6) Guaiacol via cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	28
4.4.7) Cloroligninas.....	29
4.5) Teste de toxicidade.....	30
4.6) Quadro geral de resultados das análises químicas.....	36
5) DISCUSSÃO.....	37
6) CONCLUSÕES.....	47
7) ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO E PERSPECTIVAS.....	48
8) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
9) PUBLICAÇÕES; CONGRESSOS; SEMINÁRIOS E CONFERÊNCIAS.....	56
10) ANEXOS.....	57
10.1) ANEXO 1 - Métodos de tratamento de efluentes.....	57
10.2) ANEXO 2 - Enzimas.....	61
10.3) ANEXO 3 - Meios de cultura - Soluções - Reagentes.....	62

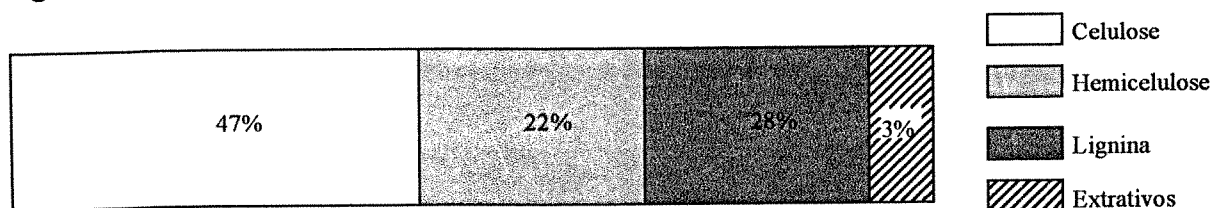
10.4) ANEXO 4 - Curvas de calibração de fenol e cloretos.....	63
10.5) ANEXO 5 - Curva de calibração de CO ₂	64
10.6) ANEXO 6 - Gráfico da determinação de fenol e guaiacol do efluente E ₁ via.... Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	65
10.7) ANEXO 7 - Gráfico de determinação de fenol e guaiacol do efluente E ₂ via.... Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	66
10.8) ANEXO 8 - Gráfico de determinação de fenol e guaiacol do efluente E ₃ via.... Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	67
10.9) ANEXO 9 - Gráfico de determinação de fenol e guaiacol do efluente E ₄ via.... Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	68
10.10) ANEXO 10 - Glossário.....	69

1) INTRODUÇÃO

1.1) Histórico

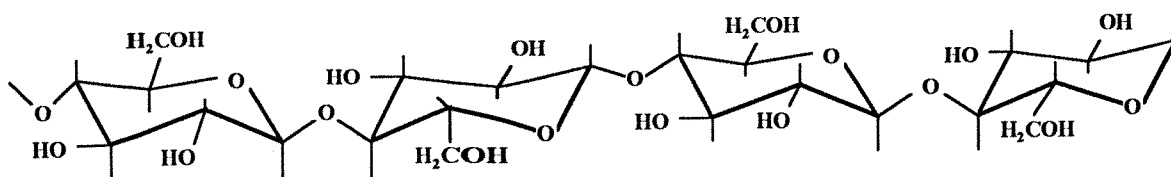
A população mundial utilizou acima de 214 milhões de toneladas de papéis e derivados em 1987 e todas as estimativas demonstram um aumento gradativo neste consumo (Norrstorn e Stromberg, 1990; Bajpai e Bajpai, 1994). No Brasil, a produção das indústrias papelarias foi de 5,3 milhões de toneladas em 1993, 8,2% superior a do ano anterior (ANFPC., 1994). A madeira, matéria prima da indústria de papel e celulose é um recurso natural renovável constituída de celulose, hemicelulose, lignina e extrativos (Figura-1) [IPT, 1985].

Figura 1 – Esquema de composição das madeiras



A celulose (Fengel e Wegener, 1984) é um polímero linear formado exclusivamente por moléculas de glicose unidas através de ligações β -(1-4) glicosídicas (Figura-2).

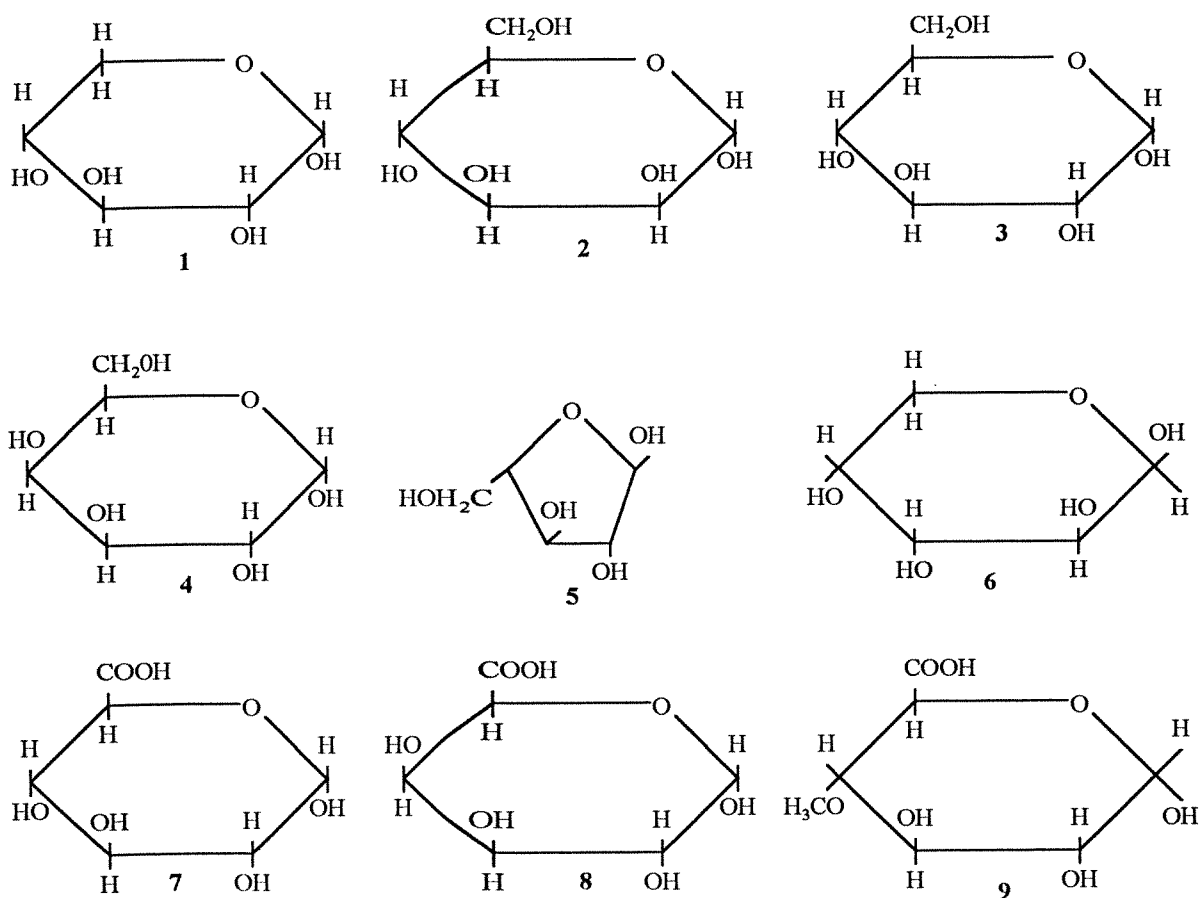
Figura-2 - Estrutura da celulose



O termo hemicelulose não designa um composto químico definido, mas sim uma classe de

componentes poliméricos, formados pela união de açúcares (Figura-3) presentes nos vegetais fibrosos, possuindo cada componente propriedades peculiares (Coughlan e Russel, 1985).

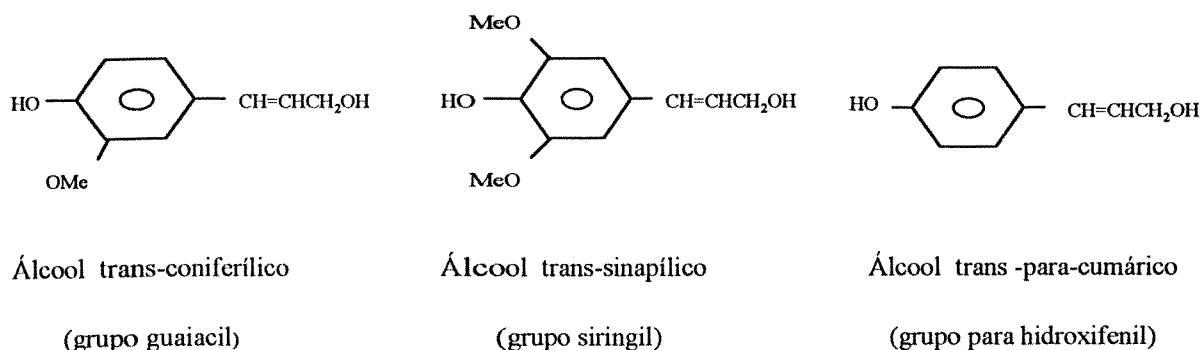
Figura-3 - Açúcares que compõe as hemiceluloses



Onde: 1) β -D-xilose 2) β -D-manose 3) β -D-glucose 4) α -D-galactose 5) α -L-arabinose (furanose) 6) α -L-arabinose (piranose) 7) ácido β -D-galactourônico 8) ácido β -D-glucourônico 9) ácido α -D-0-metilglucourônico.

A lignina, macromolécula fenólica, tridimensional, formada por unidades de álcool coniferílico, siringílico e cumarílico (Figura-4), intimamente ligada com a celulose e hemicelulose, tem importante função no intrincado transporte de água, nutrientes e metabólitos, também agindo na resistência ao ataque de microrganismos, impedindo a penetração de enzimas destruidoras da parede celular (Ferrar, 1988). Existe ainda uma fração menor da madeira formada basicamente por compostos fenólicos e resinas comumente chamada de extrativos e que são frequentemente responsáveis por determinadas características da planta como cor, cheiro, resistência ao apodrecimento, sabor e propriedades abrasivas entre outras.

Figura-4 - Precursores primários da lignina



1.2) Industrialização da madeira

A madeira utilizada no processo de produção de pasta celulósica, deve ser devidamente preparada, sendo descascada e depois reduzida a cavacos. Como é composta de fibras em múltiplas camadas, ligadas entre si por forças interfibrilares e pela lignina que age como ligante, para a separação dessas fibras é necessário se dispendir uma certa quantidade de energia (Lima, 1980). Deste modo, define-se polpação como sendo o processo de separação das fibras da madeira mediante a utilização de energia química e/ou mecânica. Os diversos processos de polpação podem ser classificados de acordo com seus rendimentos em polpa

(Tabela-1). O processo mecânico de obtenção da pasta celulósica é aquele que utiliza, para o desfibramento da madeira, apenas energia mecânica (moinhos de pedra, discos refinadores ou termomecânicos) não envolvendo agentes químicos. Nos processos químicos, utilizam-se soluções de agente químicos específicos, para cozinhar sob pressão a madeira, podendo ser divididos em ácidos e alcalinos de acordo com o pH utilizado (Tabela-2). Os dois principais processos alcalinos na produção de pasta químicas são o processo soda e o processo Kraft (UNEP, 1988; Stocker e Seager, 1987).

Tabela-1 - Processos de obtenção da pasta celulósica

PROCESSO	% de RENDIMENTO
Mecânico	90 - 97
Mecanoquímicos	85 - 95
Semiquímicos	60 - 85
Químico pasta de papel	40 - 60
Químico pasta para dissolução	30 - 45

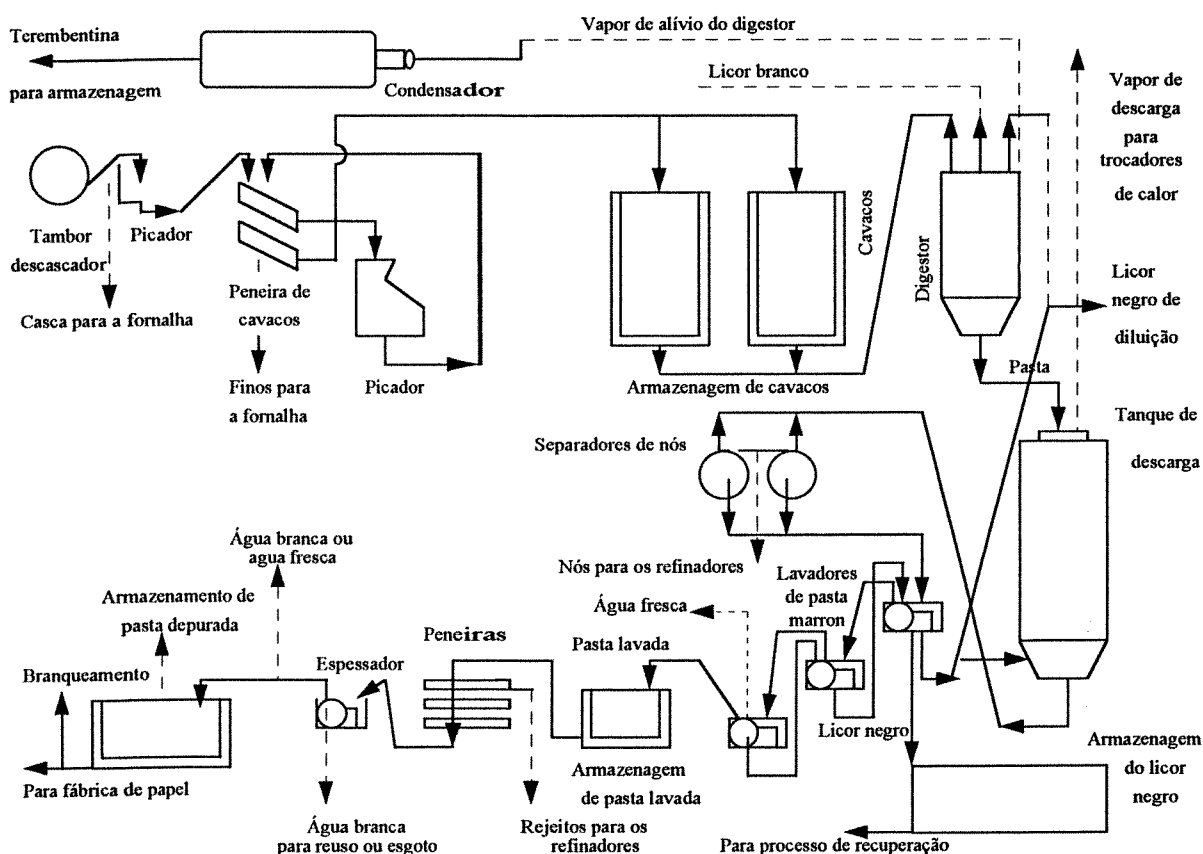
Tabela-2 - Classificação dos processos de polpação

PROCESSO	pH
- Ácido	1,0 - 3,0
- Bissulfito	4,5
- Neutro	6,0 - 8,0
- Alcalino	11,0 - 14,0

1.3) Processo Kraft

O processo Kraft (Figura-5) é um processo de polpação, também chamado erroneamente de processo sulfato, pois este reagente não é utilizado em nenhuma fase do processamento, utiliza hidróxido de sódio e sulfeto de sódio para produzir uma pasta química altamente colorida, devido a ação desses agentes químicos sobre a lignina. Esta pasta deverá ser branqueada por um processo que provoque um mínimo de dissolução de material ou seja, apenas modificando os grupos cromóforos, responsáveis pela coloração (Archibald e col., 1990; Blair e col., 1980, 1984).

Figura-5 - Processo Kraft de papel e celulose (IPT, 1985).



O branqueamento da polpa é feito por seqüências de múltiplos estágios (Tabelas-3 e 4), na primeira parte chamada de pré-branqueamento, a maior parte da lignina é removida por reações de substituição e oxidação com cloro (C) ou mistura de cloro e dióxido de cloro (C+D). Após lavagem, este estágio é seguido por uma extração com hidróxido de sódio (E) durante o qual os componentes solúveis em alcalis são removidos. O verdadeiro branqueamento da polpa ocorre na segunda parte da sequência com a aplicação de fortes oxidantes tais como, dióxido de cloro (D), hipoclorito (H), peróxido de hidrogênio (P) e estágios de extração.

Tabela-3 - Nomenclatura dos estágios de branqueamento

ESTÁGIO	COMPOSIÇÃO QUÍMICA	SÍMBOLOS
Cloração	Cl_2	C
Extração Alcalina	NaOH	E
Hipoclorito de Sódio	$\text{NaOCl} + \text{NaOH}$	H
Dióxido de Cloro	ClO_2	D
Peróxidos	$\text{Na}_2\text{O}_2 + \text{NaOH} + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{NaOH}$	P ou P/E
Oxigênio	$\text{O}_2 + \text{NaOH}$	O
Cloração/baixa concentração	$\text{Cl}_2 + \text{ClO}_2$	CD
Branqueamento sem lavagem intermediária	ClO_2 ou $\text{Cl}_2/\text{NaOH} + \text{NaOH}$ ou $\text{ClO}_2/\text{NaOCl} + \text{NaOH}$	D/C ou C/H ou D/H
Branqueamento com mistura	$\text{Cl}_2 + \text{ClO}_2$	C + D
Cloração/baixa concentração	Cl_2	C
Branqueamento fase gasosa	Cl_2 ou ClO_2	Cg ou Dg
Ozônio	O_3	Z

Os agentes mais comumente empregados no branqueamento das pastas celulósicas químicas são o hipoclorito de sódio e o dióxido de cloro (Das e col., 1969). Algumas vezes, o peróxido de hidrogênio, o peróxido de sódio ou ácido peracético são usados nos estágios finais de branqueamento e oxigênio nos estágios iniciais (Fengel e Wegner, 1984; Erikson, 1992; Bajpai e Bajpai, 1994). Atualmente a maior parte da pasta química é preparada a partir de madeira por meio do processo Kraft (Stocker e Seager, 1987). No Brasil, cerca de 81% da produção de pasta química é feita pelo processo Kraft, aproximadamente 12% pelo processo soda e os 7% restantes por outros processos (UNEP, 1988).

Tabela-4 - Sequências dos estágios de branqueamento

ESTÁGIOS	SEQUÊNCIAS
Três estágios (semi branqueados)	C-E-H-P ou D/C-O-D
Quatro estágios (parcialmente semi-branqueados)	C-E-H-P ou C-E-H-H ou C-H-E-H ou C-D-E-D ou C-E-H-D ou O-C-E-H ou O-C-E-D ou O-D-O-D
Cinco estágios	C-E-H-P-D ou C-E-H-D-P ou C-E-H-E-H ou C- E-D-E-D ou C-E-D-P-D ou C-E-H-E-D ou C- H-D-E-D ou D-E-D-E-D ou C-C/H-E-H-H

1.4) Caracterização das águas residuárias do processo Kraft

As características da contaminação do efluente Kraft podem ser definidas em quatro grandes grupos: sólidos em suspensão, substâncias orgânicas solúveis, contaminação tóxica para a vida aquática e substâncias inorgânicas insolúveis. Os sólidos em suspensão (Tabela-5) que se encontram nos resíduos das fábricas de papel, consistem em pequenas partículas originadas das operações de elaboração da polpa e mesmo de restos de produtos químicos

utilizados no processo como talco, carbonato de cálcio, dióxido de titânio. Os sólidos sedimentáveis (vasa) são a parte dos sólidos em suspensão que causam problemas ao meio ambiente, pois representam de 75 a 90% da quantidade total de sólidos que se depositam nos leitos dos rios dificultando a reprodução dos peixes e de outras formas de vida aquática, pois eliminam os pontos de desovas normalmente localizados entre as pedras no fundo dos rios (Pellinen e Soimasuo, 1993).

Tabela-5 - Características dos Efluentes Kraft e Final

PARÂMETRO	EFLUENTE KRAFT E ₁ (mg/L)	EFLUENTE FINAL E ₃ (mg/L)
pH	9,0 - 11,0	6,5 - 7,5
Sólidos em suspensão	20,0 - 110,0	620,0 - 1120,0
DBO	360,0 - 440,0	240,0 - 380,0
COT	280,0 - 510,0	302,0 - 490,0
Cor (APHA unidades)	2365	2600

O segundo tipo de contaminação devida à indústria de papel e celulose se deve às substâncias orgânicas solúveis. Em termos industriais a celulose é a substância desejada contida na polpa de madeira, representando quase 50% da matéria prima. Devido a isso, dependendo do processo de obtenção da polpa que se deseja, pode ser que haja necessidade de se desprezar até 50% de substâncias orgânicas. A parte mais importante dos despejos, no comprometimento do meio ambiente, consiste em polissacarídeos de baixa massa molecular, frações de moléculas de lignina e materiais extrativos. Estas substâncias servem de alimentos aos microorganismos contidos na água, fato que provoca um rápido desenvolvimento com aumento do consumo de oxigênio e transformação do ambiente aeróbico para anaeróbico com a conseqüente morte de peixes e outras formas aquáticas (UNEP, 1988; Nicol, e col., 1988; Larrea e col., 1989). Em termos de contaminação tóxica foram identificados mais de

300 compostos clorados no efluente Kraft, desde os mais simples, como os compostos fenólicos clorados, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos até cloroligninas com peso molecular médio maior que 1000g/mol (Esposito, 1995). Cerca de 70% dos compostos orgânicos clorados são encontrados sob a forma de cloroligninas sendo esses compostos bioacumulativos e genotóxicos. Na polpa Kraft estima-se que cerca de 3.000g de compostos orgânicos clorados são formados por tonelada de polpa, durante o branqueamento convencional (Sprague, 1969, 1970, 1971, 1991; Haggblom e Salkinoja, 1991; Eriksson, 1992; Harris e col., 1992)). E finalmente, o problema cada vez mais grave: o crescimento de algas em rios, lagos, lagoas ou qualquer outro manancial que receba lançamento rico em substâncias inorgânicas nutritivas, principalmente nitrogênio e fósforo como é o caso dos efluentes *in natura* das indústrias de papel e celulose (Esposito e col., 1991).

1.5) Tratamento de águas residuárias

Embora com produção sempre crescente (aproximadamente 5% ao ano no mundo), a contaminação provocada pela indústria papelreira está em ritmo decrescente. Altos investimentos na construção e/ou reformas das estações de tratamento de água residuárias, bem como em melhorias no processo, tem sido realizadas visando a diminuição da emissão de agentes contaminantes (Lamardo, 1982; Waldichuk, 1989). Como consequência, os resultados dos últimos dez anos se mostraram eficazes, como exemplo, podemos citar a diminuição para níveis inferiores à ppb (parte por bilhão) das concentrações de metais pesados, principalmente efluentes atualmente lançados (Anexo-1).

Porém, muito ainda se tem a realizar pois, compostos tóxicos como fenol e guaiacol, entre outros, continuam a ser lançados em quantidades não recomendáveis (Davis e Burns, 1978; Santos e col., 1993). O mesmo pode-se dizer com relação à cor dos efluentes, que não é reduzida pelos tratamentos convencionais (Anexo-1) provocando o fato de que muitas

vezes o efluente final tratado seja lançado mais colorido que o efluente bruto (Blair e Davis, 1984; Baeza e col., 1991; Duran e col., 1991; Cammarota e Sant'Anna, 1992). Sabemos que todos os compostos orgânicos são susceptíveis de sofrer decomposição biológica, entretanto em virtude do crescimento industrial esse conceito nem sempre pode ser aplicado. A biodegradação de qualquer composto orgânico requer a presença de uma enzima específica (Anexo-2), pode-se supor que para cada composto sintetizado naturalmente pelos seres vivos, exista uma enzima que o decompõe para compostos mais simples desencadeando o processo de mineralização da matéria orgânica. Mas alguns processos químicos produzem compostos que não tem enzimas naturais capazes de decompô-los, podendo ser afirmado que a natureza não estava preparada para a presença dos mesmos (Branco e Hess, 1975).

A resposta para essas situações, poderiam surgir de trabalhos em biotecnologia, como é o caso do presente estudo, que tem como meta principal aumentar a biodegradabilidade dos efluentes da indústria de papel e celulose, em seus parâmetros agressivos (cor e aspecto) e tóxicos (cloroligninas, fenóis, guaiaicóis), através da utilização do fungo *Lentinus edodes* UEC-2021.

1.6) Caracterização do fungo *Lentinus edodes* UEC-2021

Durante muito tempo, os fungos foram classificados como plantas, mas como se constituem em um grupo de organismos muito diferentes quando comparados a qualquer outro, ficou apropriado separá-los em um reino à parte (Curtis, 1977). Com exceção de algumas formas celulares, como as leveduras, os fungos são basicamente constituídos de massa de filamentos sendo que um filamento de fungo é chamado de hifa, e todas as hifas de um organismo são coletivamente chamadas de micélio. O micélio pode aparecer na superfície do nutriente ou pode ficar abaixo da superfície (Bajpai e Bajpai, 1993). Todos os fungos são heterótrofos e devido a sua forma filamentosa, cada célula está separada do substrato por apenas alguns micrômetros e a sua separação consiste somente em uma fina parede celular.

Podem digerir materiais orgânicos por meio de enzimas extracelulares, que secretam ao meio (Anexo-2). O crescimento é sua única forma de mobilidade excetuando-se as células sexuais e os esporos que podem ser disseminados na água ou no ar. Os fungos são os principais responsáveis pela degradação da matéria orgânica, sua atividade é tão vital para a manutenção das formas mais complexas de vida quanto são as atividades dos organismos produtores de alimentos. A habilidade de degradar polissacarídeos de determinadas espécies de fungos está sendo muito utilizada no tratamento biológico de efluentes principalmente da indústria de papel. O reino dos fungos consiste de um único filo *MYCOTA* subdividido em três classes principais: zigomicetes, ascomicetes e basidiomicetes (Alexopoulos e col, 1996).

Os basidiomicetes apresentam um sistema lignolítico bastante desenvolvido, são classificados conforme o tipo de degradação que provocam na madeira como: “White-Rot” - fungo de decomposição branca que ataca da mesma forma os três componentes da madeira: celulose, hemicelulose e lignina, “Brown-Rot” - fungo de decomposição marrom principal formador de húmus, ataca a porção polissacarídea da madeira causando pouca transformações na lignina e “Soft-Rot” - fungo da decomposição macia, produz amolecimento superficial da madeira pelo ataque à lignina e aos polissacarídeos.

A habilidade de descolorir efluentes Kraft, degradar cloroligninas e polissacarídeos dos fungos de decomposição branca é discutida há mais de 10 anos (Lankinem e col., 1991; Exposito, 1995). Neste trabalho foi utilizado o fungo *Lentinus edodes* UEC-2021, basidiomiceto lignolítico de decomposição branca, fornecido pelo Laboratório de Química Biológica do Instituto de Química da Unicamp, onde já foram classificadas e avaliadas cerca de 51 cepas de fungos lignolíticos com ação em efluentes de indústria de papel.

2) OBJETIVOS GERAIS

2.1) Avaliação da ação do fungo *Lentinus edodes* UEC-2021 no Efluente Final-E_F de uma indústria de papel e celulose.

2.2) Avaliação via CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) da ação do fungo *Lentinus* sobre fenóis específicos (Fenol e Guaiacol).

2.3) Avaliação da ação do fungo *Lentinus edodes* UEC-2021 no efluente Kraft-E₁ da primeira extração alcalina.

2.4) Avaliação comparativa da toxicidade dos efluentes Kraft-E₁ (1ª extração alcalina) e do Final-E_F (com tratamento primário e secundário realizados pela indústria), após serem tratados com *Lentinus edodes*, através da produção de CO₂ de culturas de *Escherichia coli*, pela técnica FIA (flow injection analysis).

3) PARTE EXPERIMENTAL

3.1) Coleta da amostra e preparação

As amostras utilizadas neste trabalho são provenientes de uma indústria de papel e celulose, do estado de São Paulo. Foram coletadas amostras dos efluentes: Kraft-E₁ - 1a. extração alcalina, efluente bruto sem tratamento E₀ e Final-E_F após tratamento primário e secundário executado pela indústria (Tabela-6). No laboratório o pH das amostras foi ajustado para 5,0 com ácido sulfúrico 1M e congeladas em frascos de polietileno de 200mL.

Tabela-6 - Condições da coleta

EFLUENTE → ↓ PARÂMETRO	KRAFT-E ₁	FINAL-E ₃
Temperatura do ar (°C)	25	25
Temperatura da água (°C)	23	22
pH	10,8	7,3
Chuva	Não	Não

3.2) Tratamento dos efluentes com o fungo *Lentinus edodes*

A partir de uma cultura de manutenção do fungo (Esposito, 1995), algumas cepas foram repicadas em placas de Petri contendo o meio agar extrato de malte 1,25% (Anexo-3) e incubadas por 5 dias, em estufa à 30°C na ausência de luz. Concluída essa fase de recuperação do microrganismo, foram recortados 15 círculos de 0,5cm de diâmetro, da placa contendo o meio sólido e o fungo desenvolvido, com auxílio da alça de platina, e

inoculados em Erlenmeyer de 250mL, contendo 20mL do efluente, 80mL de água destilada e 1,25g do meio extrato de malte com pH 5,0, previamente esterilizados em autoclave por 15 minutos a 15 libras de vapor (121°C) e incubados na estufa com agitador a 30°C por 5 dias na ausência de luz. Após esta fase de adaptação do fungo com o efluente, a parte líquida foi eliminada através de filtração a vácuo e os substratos com o fungo adaptado, foram inoculados em 100mL do efluente (com pH ajustado para 5,0) em um Erlenmeyer de 250mL, incubado na estufa sob agitação nas mesmas condições anteriores. O efluente tratado foi então filtrado e reservado para as análises e testes programados. Todo esse tratamento sempre foi realizado em triplicatas e com o acompanhamento de uma amostra controle, que serviu como padrão para as análises comparativas e as conclusões gerais e finais do trabalho.

3.3) Métodos analíticos

3.3.1) Determinação de COT (carbono orgânico total)

Para a determinação do COT, no Laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química da Unicamp, as amostras foram diluídas 20 vezes para eliminar a interferência do cloro e as análises foram executadas de acordo com a metodologia padrão. O carbono orgânico presente nos efluentes é composto de uma variedade de compostos orgânicos em vários estados de oxidação. Para se determinar a quantidade de carbono orgânico, as moléculas são quebradas para unidades de moléculas mais simples e convertidas para uma forma molecular única, que pode ser medida quantitativamente. Métodos COT, utilizam calor e oxigênio, irradiação ultravioleta, oxidantes químicos, ou combinações desses oxidantes para converter carbono orgânico em dióxido de carbono, que é medido diretamente por um analisador de infravermelho não dispersivo, ou ser titulado quimicamente ou ainda ser reduzido para metano e medido com um detector de ionização de

chama. No analisador COT utilizado neste trabalho a determinação do carbono total (CT) foi feita através do método de oxidação com aquecimento (680°C), catalisada por platina adsorvida em óxido de alumínio. A quantificação do carbono orgânico total (COT) se dá por meio de um analisador infravermelho não dispersivo. O carbono inorgânico da amostra foi convertido a CO₂ quando o mesmo reage com solução acidificada pelo reagente para determinação do carbono inorgânico. A quantificação se dá semelhante ao COT. O carbono total foi determinado por soma (Moraes, 1995).

3.3.2) Determinação de cloretos

A determinação de cloretos foi efetuada através de um eletrodo específico no aparelho Orion (Laboratório de Química Biológica). Os resultados foram comparados à uma curva padrão (Anexo-4) previamente determinada a partir de solução padrão de cloreto de sódio 1M (Anexo-3). As amostras foram analisadas sem tratamento prévio.

3.3.3) Determinação de cor

A cor foi avaliada de acordo com o método padrão (Livernoche e col., 1983). O pH do efluente (previamente filtrado em membrana millipore 0,47µm) foi ajustado para 7,6 com tampão fosfato 0,1M (Anexo-3) e determinada sua absorbância à 465nm, utilizando água destilada como branco. As absorbâncias podem ser transformadas em unidades de cor (UC) de acordo com a equação:

$$UC = \frac{500 \times A_2}{A_1}$$

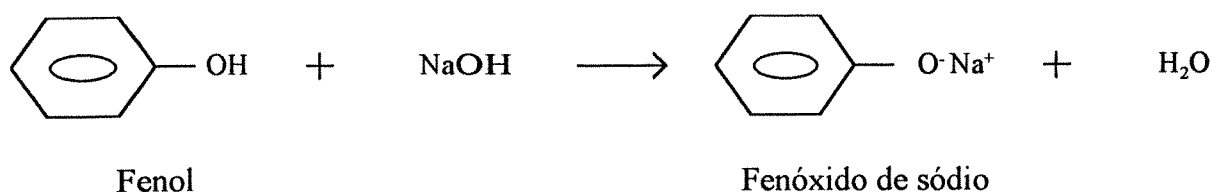
Onde: A_1 = Absorbância de uma solução de platina-cobalto de 500 UC ($A_{465} = 0,132$)
 A_2 = Absorbância do efluente

3.3.4) Determinação de fenóis totais

A determinação de fenóis totais foi realizada colorimetricamente segundo padrão APHA (1989) de Folin-Ciocalteu. O princípio do método é a reação entre o reagente Folin, uma mistura de heteropoliácidos fosfomolibdênicos, fosfotungstênicos e fenóis, com subsequente oxidação dos fenóis e formação de um complexo azul de molibdênio e tungstênio, a uma taxa proporcional à concentração de fenóis. A mistura da reação foi composta de 1mL da amostra, 250μL de carbonato-tartarato de sódio e 25μL de Folin. Após 30 minutos, a temperatura de 20°C, a absorbância foi lida no espectrofotômetro a 700nm e comparada a uma curva padrão de fenol (Anexo-4) e os resultados são obtidos em ppm (partes por milhão). Como branco foi utilizado água destilada.

3.3.5) Determinação de fenol e guaiacol por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência)

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é uma técnica que permite separar, isolar e identificar os componentes de uma mistura de espécies químicas. As amostras desse trabalho foram submetidas ao seguinte tratamento: após coletar 100mL do efluente em uma cápsula de porcelana, o pH da amostra foi elevado a 12,0 com a adição de NaOH 6M ocorrendo a seguinte reação:



A amostra foi colocada em Banho Maria até secagem completa. Em seguida, o sal formado foi diluído com 25mL de água destilada e seu pH foi reduzido para 4,0 com HCl 1N, para separação dos fenóis presentes. Após filtração as amostras foram analisadas no aparelho HP-

1090 Liquid Chromatograph nas seguintes condições: a) coluna bondapack C18 b) fluxo de 0,35mL/min c) temperatura 40°C d) pressão de 60 Bar e) volume de injeção de 25µL f) eluente - metanol/água (40/60) g) detector UV/visível h) comprimento de onda de 270 a 280nm.

3.3.6) Determinação de cloroligninas

Foi realizada seguindo o método padrão (Esposito, 1995), após a filtração do efluente e ajuste para pH 7,6, com tampão fosfato é determinada sua absorvância a 280nm no espectrofotômetro. O resultado expresso em mg/L foi calculado utilizando-se a seguinte fórmula:

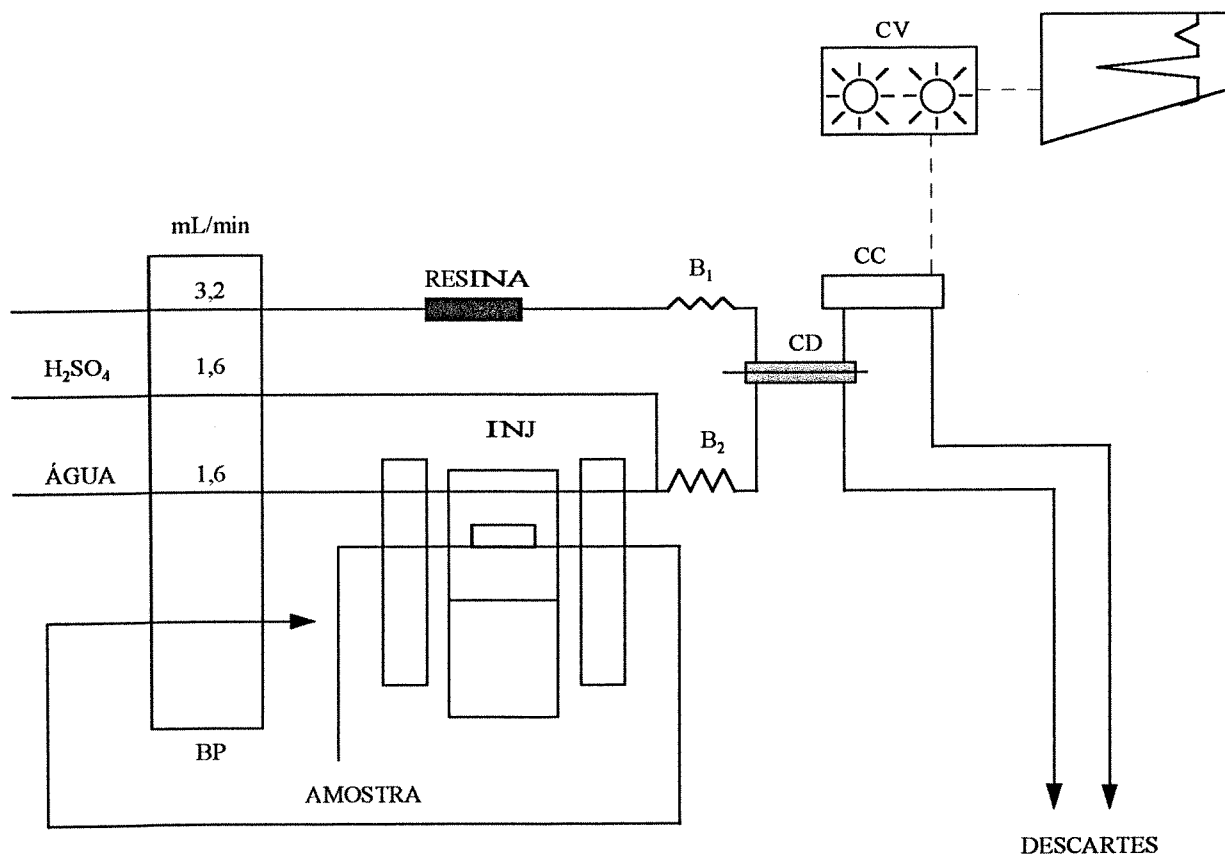
$$C = \frac{A}{20 \times D}$$

Onde: C = clorolignina em g/L
 A = absorvidade a 280 nm
 D = fator de diluição
 20 = absorvidade a 20 L/g.cm

3.3.7) Determinação do CO₂ pelo Sistema de Análise por Injeção em Fluxo Contínuo

O procedimento experimental utilizado na determinação de CO₂ foi baseado no trabalho de Guimarães (1990) (figura-7). Um volume determinado da amostra (135µL) contendo as espécies carbônicas (CO₂, HCO₃⁻ e CO₃⁼) é injetado num fluxo carregador (água deionizada) o qual conflui com outro fluxo de ácido sulfúrico diluído (0,2 mol L⁻¹). O gás formado (CO₂), no meio ácido, ao passar pela cela de difusão, permeia por uma membrana de teflon e atinge um fluxo de água deionizada, deslocando a equilíbrio para a formação dos íons bicarbonato e carbonato. A condutividade deste fluido que vinha sendo monitorada constantemente, é então alterada devido ao CO₂ presente na amostra.

Figura-7 - Esquema do sistema FIA-Condutométrico (Guimarães, 1990)



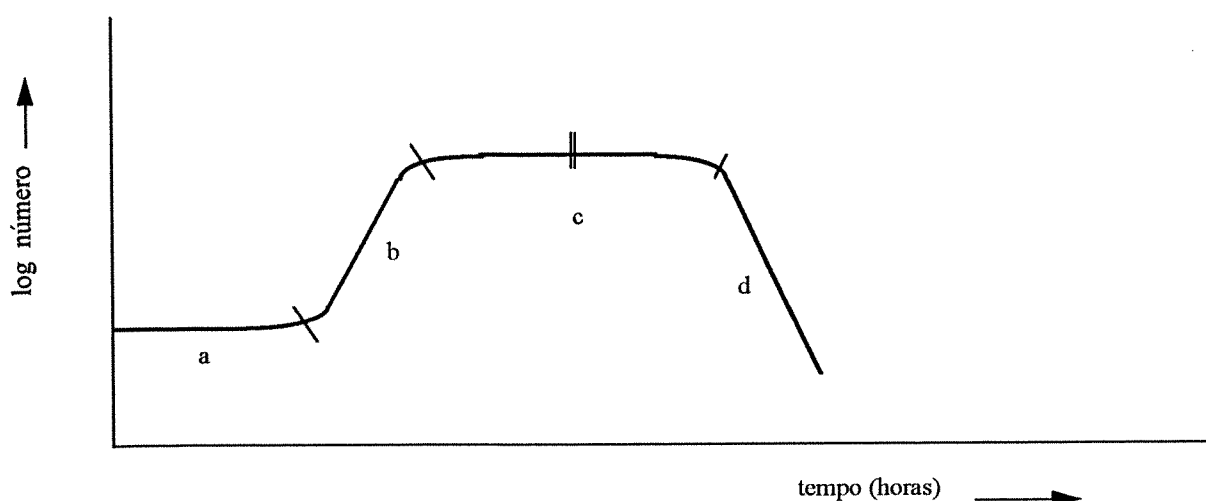
Onde: CD = célula de difusão; CC = célula de condutividade e CV = condutivímetro

A mudança na condutância é proporcional à concentração total de CO_2 presente na amostra. Os padrões de carbonato foram obtidos a partir da solução estoque Na_2CO_3 (0,1M). O carbonato de sódio foi previamente aquecido a $300^\circ C$ por 1 hora e colocado em dessecador até resfriar à temperatura ambiente e peso constante. Pesou-se certa quantidade de sal para a concentração desejada e diluiu-se com água destilada em balão volumétrico. A solução foi transferida para um frasco de polietileno bem lacrado para evitar absorção de CO_2 do ar. As retiradas das alíquotas para preparação dos padrões foram realizadas sem contato com o ar (Anexo-5).

3.3.8) Teste de Toxicidade

Testes de toxicidade são baseados no uso de material vivo para definir a natureza e o grau de efeitos nocivos produzidos por agentes tóxicos. Estes testes são utilizados no gerenciamento de águas naturais e no controle de águas poluídas. Quando se observa o crescimento de microorganismos em um meio de cultura, verifica-se que esse crescimento se dá segundo uma curva na qual se observa várias fases (Figura-8):

Figura-8 - Crescimento de uma cultura bacteriana em coordenadas normais



a) Fase de Latência. Inicialmente há um período em que a contagem de microorganismos não revelam aumento de número. b) Fase de crescimento exponencial. Nessa fase, os microorganismos se multiplicam por divisão binárias e se encontram na plenitude de suas capacidades, num meio cujo suprimento de nutrientes é superior às necessidades do microorganismo semeado. c) Fase estacionária. Fase em que a velocidade crescimento vai diminuindo até atingir a fase em que o número de novos microorganismos é igual ao número dos morrem. d) Fase de declínio. Depois de um certo tempo, o número de microorganismos que morre torna-se progressivamente superior ao dos que surgem. Eventualmente a cultura se esteriliza (Branco, 1978; Lima, 1995).

O meio de cultura utilizado para o crescimento da *E. coli*, foi preparado pela adição de 7,0g de K_2HPO_4 , 3,0g de KH_2PO_4 , 0,5g de citrato de sódio, 1,0g de $(NH_4)_2SO_4$, 0,2g de $MgSO_4 \cdot H_2O$ em um litro de água bidestilada. A concentração de glicose utilizada foi de 2% p/v, o pH foi ajustado para 7,2 com KOH 0,1M e o meio foi esterilizado no forno microondas. O meio de cultura foi inoculado com *E. coli* (microrganismo teste) e a concentração do CO_2 produzida pela respiração microbiana e presente no meio líquido foi monitorada até atingir 0,5ppm (fase estacionária). O frasco foi mantido em banho termostatzado à 37°C. Aliquotas de 50mL do meio foram transferidas para erlenmeyers de 125mL e inoculadas com 4% e 10% de aliquotas dos efluentes e para controle foi utilizado 10mL de água destilada estéril com 40mL do meio, sendo todos os testes em triplicatas.

A concentração do CO_2 nos diversos frascos foi obtida por interpolação na curva de calibração. As determinações foram realizadas a cada 15 minutos através do sistema FIA-Conducométrico baseado nos trabalhos de Guimarães (1990) e Moraes (1995).

A fermentação da glicose pela *Escherichia coli* produz a acidificação do meio e liberação do CO_2 . Por este teste determinou-se comparativamente a toxicidade dos efluentes Kraft E₁ e Final E₃, após tratamento com *Lentinus edodes*, pelo cálculo da taxa de crescimento que é determinada através da seguinte fórmula:

$$\text{Taxa de crescimento} = \frac{\text{ppm de } CO_2 \text{ do efluente}}{\text{ppm de } CO_2 \text{ do controle}} \times 100$$

4) RESULTADOS

4.1) Nomenclatura das amostras

Para um melhor direcionamento na execução das análises e melhor compreensão e comparação dos resultados fica estabelecido a partir deste item a seguinte nomenclatura das amostras analisadas (Tabela-9).

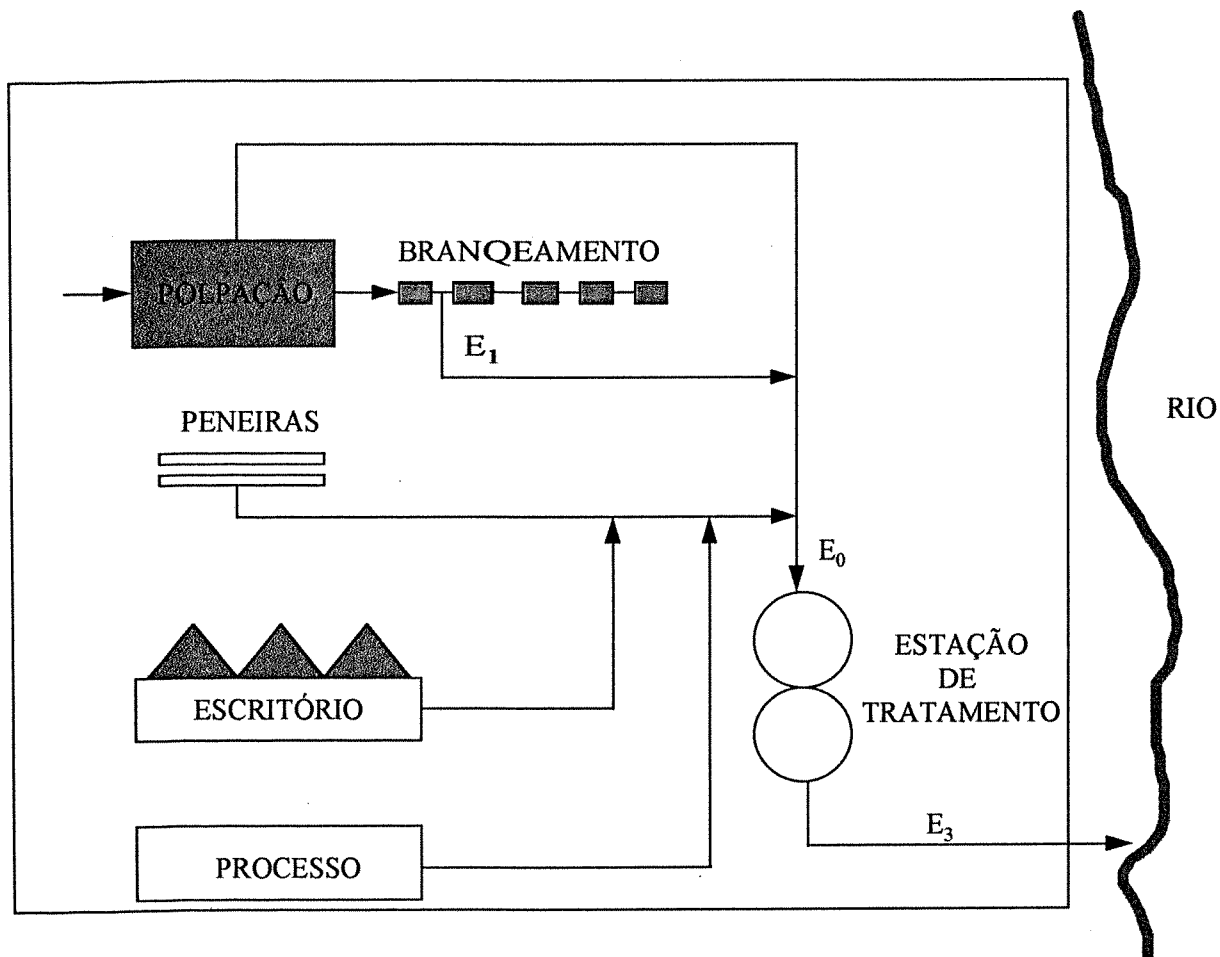
Tabela 9 - Nomenclatura das amostras (ver item 4.3 da página22)

AMOSTRA	DESCRIÇÃO DO TRATAMENTO
E ₀	Efluente Final-E _F geral da indústria sem tratamento
E ₁	Efluente Kraft-E ₁ da 1a. Extração alcalina
E ₂	Efluente Kraft-E ₁ da 1a. Extração alcalina após tratamento com <i>Lentinus edodes</i>
E ₃	Efluente Final-E _F após passar pela Estação de tratamento da Indústria
E ₄	Efluente Final-E _F após passar pela estação de tratamento da indústria e ser tratado com <i>Lentinus edodes</i>

4.2) Ordem de apresentação dos resultados

Os resultados individuais das análises, e seus respectivos desvios padrões (S) calculados segundo a relação amplitude e desvio padrão (Palmer,1990) se apresentam tabelados na seguinte ordem: COT, cloretos, cor, fenol total, fenol/CLAE, guaiacol/CLAE, cloroligninas e toxicidade. Resultados acima de 5 desvios foram eliminados segundo indicações (*) nas respectivas tabelas.

4.3) Esquema geral dos efluentes emitidos pela indústria



4.4) Resultados das Análises Químicas

4.4.1) Tabela 10 - Resultados do parâmetro carbono orgânico total (COT)

Observações: - Os valores com (*) foram rejeitados. - Resultados em mg/L e lançados com três algarismos significativos. Condições experimentais - item 3.3.1 página 14

↓EFLUENTE ANÁLISES↓		mg/L	mg/L	mg/L	MÉDIA	DESVIO PADRÃO (S)
E ₁	A ₁	717 ^(*)	650	652	651	1,77
	A ₂	657	656	661	658	2,96
	A ₃	662	659	658	660	2,37
E ₂	A ₁	508	508	595 ^(*)	508	zero
	A ₂	500	476 ^(*)	496	498	3,54
	A ₃	505	507	504	505	1,78
E ₃	A ₁	105	103	109	106	3,55
	A ₂	103	103	103	103	zero
	A ₃	103	104	103	103	0,592
E ₄	A ₁	166	173	171	170	4,14
	A ₂	188	184	188	186	2,36
	A ₃	183	183	163 ^(*)	183	zero

4.4.2) Tabela-11 - Resultados do parâmetro cloreto

Observações: Os valores com (*) foram rejeitados. - Resultados em mg/L e lançados com três algarismos significativos. Condições experimentais - item 3.3.2, página 15

↓EFLUENTES ANÁLISES↓		mg/L	mg/L	mg/L	MÉDIA	DESVIO PADRÃO (S)
E ₀	A ₁	1559	1557	1555	1557	2,37
	A ₂	1564	1563	1559	1562	2,96
	A ₃	1561	1561	1561	1561	zero
E ₁	A ₁	939	940	940	940	0,59
	A ₂	942	942	942	942	zero
	A ₃	941	939	991 ^(*)	940	1,77
E ₂	A ₁	1350	1350	1344	1348	3,55
	A ₂	1278 ^(*)	1326	1326	1326	zero
	A ₃	1327	1327	1324	1326	1,78
E ₃	A ₁	815	816	818	816	1,78
	A ₂	813	778 ^(*)	815	814	1,77
	A ₃	818	818	818	818	zero
E ₄	A ₁	959	964	963	962	2,96
	A ₂	955	960	959	958	2,96
	A ₃	985	987	926 ^(*)	986	1,77

4.4.3) Tabela-12 - Resultados do parâmetro cor

Observações: - Os valores com (*) foram rejeitados. - Resultados em unidade de cor (UC) e com três algarismos significativos - Condições experimentais - item 3.3.3, página 15.

↓EFLUENTES ANÁLISES↓		mg/L	mg/L	mg/L	MÉDIA	DESVIO PADRÃO (s)
	A ₁	1469	1467	1467	1468	1,18
E ₀	A ₂	1471	1469	1464	1468	4,14
	A ₃	1470	1466	1465	1467	2,95
	A ₁	1383 ^(*)	1375	1378	1377	2,65
E ₁	A ₂	1378	1378	1155 ^(*)	1378	zero
	A ₃	1381	1377	1379	1379	2,37
	A ₁	678	708 ^(*)	681	680	2,65
E ₂	A ₂	669	673	671	671	2,37
	A ₃	670	674	603 ^(*)	672	3,54
	A ₁	2559	2562	2560	2560	1,78
E ₃	A ₂	2562	2560	2568	2563	4,73
	A ₃	2534	2560 ^(*)	2536	2535	1,77
	A ₁	1383	1386	1379	1383	4,14
E ₄	A ₂	1182 ^(*)	1614	1614	1614	zero
	A ₃	1618	1613	1615	1615	2,96

4.4.4) Tabela-13 - Resultados do parâmetro fenol total

Observações: - Os valores com (*) foram rejeitados.- Resultados em mg/L e com três algarismos significativos. - Condições experimentais - item 3.3.4, página 16

↓EFLUENTES ANÁLISES↓		mg/L	mg/L	mg/l	MÉDIA	DESVIO PADRÃO (s)
	A ₁	75,6	75,9	75,9	75,8	0,178
E ₀	A ₂	75,4	75,4	75,4	75,4	zero
	A ₃	76,0	75,3	75,8	75,7	0,414
	A ₁	65,1	66,4	66,2	65,9	0,769
E ₁	A ₂	63,1	63,4	63,2	63,2	0,178
	A ₃	67,1	67,1	75,5(*)	67,1	zero
	A ₁	20,6	20,5	20,2	20,4	0,237
E ₂	A ₂	22,7	22,7	23,0	22,8	0,178
	A ₃	23,5	23,0	23,0	23,2	0,296
	A ₁	62,0	62,0	62,0	62,0	zero
E ₃	A ₂	63,1	63,0	63,1	63,1	0,0591
	A ₃	63,3	63,7	62,9	63,3	0,60
	A ₁	30,5	28,0	31,2	29,9	1,89
E ₄	A ₂	26,3	26,3	35,8(*)	26,3	zero
	A ₃	27,8	27,6	27,7	27,7	0,118

4.4.5) Tabela-14 - Resultados do parâmetro fenol por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Observações: - Os valores com (*) foram rejeitados.- Resultados em mg/L e com três algarismos significativos. - Condições experimentais - item 3.3.5, página 16.

↓EFLUENTES ANÁLISES↓	mg/L	mg/L	mg/L	MÉDIA	DESVIO PADRÃO (S)
A ₁	1,05	1,05	1,25 ^(*)	1,05	zero
E ₁ A ₂	0,96	0,97	1,00	0,98	0,0237
A ₃	0,99	1,05	1,04	1,03	0,0355
A ₁	0,57	0,53	0,52	0,54	0,0296
E ₂ A ₂	0,50	0,52	0,51	0,51	0,0118
A ₃	0,50	0,47	0,47	0,48	0,0178
A ₁	0,33	0,33	0,21 ^(*)	0,33	zero
E ₃ A ₂	0,32	0,34	0,21 ^(*)	0,33	0,00591
A ₃	0,29	0,29	0,32	0,30	0,0178
A ₁	0,31	0,26	0,30	0,29	2,96
E ₄ A ₂	0,25	0,25	0,25	0,25	zero
A ₃	0,27	0,27	0,26	0,27	0,00592

4.4.6) Tabela-15 - Resultados do parâmetro guaiacol por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Observações: - Os valores com (*) foram rejeitados. Resultados em mg/L e com três algarismos significativos. - Condições experimentais - item 3.3.5, página 16.

↓EFLUENTES ANÁLISES↓	mg/L	mg/L	mg/L	MÉDIA	DESVIO PADRÃO (S)
A ₁	1,59	1,60	1,61	1,60	0,0118
E ₁ A ₁	1,46	1,45	1,46	1,46	0,00592
A ₃	1,38	1,44	1,41	1,41	0,0355
A ₁	0,50(*)	0,71	0,71	0,71	zero
E ₂ A ₂	0,63	0,67	0,68	0,66	0,0296
A ₃	0,64	0,64	0,64	0,64	zero
A ₁	0,66	0,62	0,61	0,63	0,0296
E ₃ A ₂	0,69(*)	0,57	0,58	0,58	0,00592
A ₃	0,56	0,56	0,65(*)	0,56	zero
A ₁	0,32	0,33	0,36	0,34	0,0237
E ₄ A ₂	0,35	0,29	0,32	0,32	0,0355
A ₃	0,36	0,32	0,31	0,33	0,0296

4.4.7) Tabela-16 - Resultados do parâmetro clorolignina

Observações: - Os valores com (*) foram rejeitados. - Resultados em mg/L e lançados com três algarismos significativos. Condições experimentais - item 3.3.6, página 17.

↓EFLUENTES ANÁLISES↓		mg/L	mg/L	mg/L	MÉDIA	DESVIO PADRÃO (S)
	A ₁	8,1	8,2	8,3	8,2	0,118
E ₀	A ₂	7,9	8,0	8,0	8,0	0,0592
	A ₃	7,8	7,8	7,8	7,8	zero
	A ₁	7,55	7,56	7,54	7,54	0,00592
E ₁	A ₂	7,55	7,58	7,65	7,60	0,0592
	A ₃	7,55	7,61	7,58	7,58	0,0355
	A ₁	4,70	4,70	4,70	4,70	zero
E ₂	A ₂	4,68	4,68	4,70	4,69	0,0118
	A ₃	4,48	4,52	4,98(*)	4,50	0,0354
	A ₁	3,11	3,15	3,16	3,13	0,0296
E ₃	A ₂	3,19	3,21	3,21	3,20	0,0118
	A ₃	3,20	3,21	3,21	3,21	0,00592
	A ₁	1,80	1,77	1,75	1,78	0,0296
E ₄	A ₂	1,62	1,58	1,60	1,60	0,0237
	A ₃	1,78	1,75	1,70	1,74	0,0473

4.5) Resultados do Teste de Toxicidade

4.5.1) Tabela-17 - Toxicidade - **Altura dos picos/produção de CO₂** para amostras com concentrações de 4% e 10%. Condições experimentais - item 3.3.7, página 17.

Tempo (min)	Análises	Altura do pico (cm)									
		Controle	E ₁		E ₂		E ₃		E ₄		
			4%	10%	4%	10%	4%	10%	4%	10%	
0	A ₁	6,1	7,1	8,4	7,9	7,5	6,3	6,6	7,2	8,7	
	A ₂	6,3	7,5	8,7	7,8	8,0	6,3	6,7	6,9	8,3	
	A ₃	6,6	7,0	8,7	8,3	7,6	6,9	6,3	7,2	8,9	
20	A ₁	7,6	7,8	9,1	9,3	10,1	7,3	7,5	8,1	8,9	
	A ₂	7,5	7,7	9,6	9,5	11,0	7,2	7,3	8,0	9,4	
	A ₃	7,5	7,9	9,2	9,1	10,4	7,4	7,3	8,4	9,9	
40	A ₁	8,1	8,5	10,0	9,2	11,2	8,3	8,1	9,5	10,2	
	A ₂	8,2	8,9	10,1	9,2	10,8	8,0	8,8	8,6	9,9	
	A ₃	8,6	8,6	10,5	9,8	11,3	8,6	8,6	9,2	10,5	
60	A ₁	9,3	10,0	11,1	10,4	12,1	9,8	10,2	10,6	11,4	
	A ₂	9,6	10,1	11,0	10,7	12,3	9,6	9,7	10,4	11,4	
	A ₃	10,2	10,2	11,7	11,2	12,8	10,3	10,1	10,8	11,7	
80	A ₁	10,9	11,3	13,0	12,1	14,2	11,3	12,3	13,0	12,0	
	A ₂	11,5	11,5	12,4	13,2	15,1	11,5	12,0	12,2	13,6	
	A ₃	12,2	12,3	13,7	12,5	13,9	12,0	12,6	13,6	13,7	
100	A ₁	12,5	13,6	14,8	14,6	15,1	13,7	14,8	14,8	16,0	
	A ₂	13,6	12,8	15,9	15,7	16,3	13,2	13,6	16,1	14,5	
	A ₃	14,6	14,7	14,0	13,5	14,8	15,1	15,4	14,1	16,6	
120	A ₁	16,1	17,0	18,1	18,2	17,6	19,2	18,8	18,6	19,5	
	A ₂	17,3	17,9	19,7	19,4	19,6	18,2	20,0	20,6	21,5	
	A ₃	18,0	15,9	19,4	17,6	18,7	17,2	18,2	19,0	20,2	

4.5.2) Tabela-18 - Toxicidade - Média e desvio padrão de 3 picos de produção de CO₂ em amostras com 4% de concentração O₂, segundo dados da tabela -17 página 30. Condições experimentais item 3.3.7, página 17.

Tempo (min)	Altura do pico (cm)									
	Controle		E ₁		E ₂		E ₃		E ₄	
	$\bar{X}$	S	X	S	X	S	X	S	X	S
0	6,3	0,30	7,2	0,30	8,0	0,30	6,5	0,36	7,1	0,18
20	7,5	0,06	7,8	0,12	9,3	0,24	7,3	0,12	8,1	0,30
40	8,3	0,30	8,7	0,24	9,4	0,36	8,3	0,36	9,1	0,53
60	9,7	0,53	10,0	0,12	10,8	0,47	9,9	0,41	10,6	0,24
80	11,5	0,77	11,7	0,59	12,6	0,65	11,6	0,41	13,0	0,83
100	13,6	1,24	13,7	1,12	14,6	1,30	14,0	1,12	15,0	1,18
120	17,1	1,12	16,8	1,18	18,4	1,07	18,2	1,18	19,4	1,18

4.5.3) Tabela-19 - Toxicidade - Média e desvio padrão de 3 picos de produção de CO₂ para amostras com 10% de concentração O₂, segundo dados da tabela-17 página 30. Condições experimentais item 3.3.7, página 17.

Tempo (min)	Altura do pico (cm)									
	Controle		E ₁		E ₂		E ₃		E ₄	
	$\bar{X}$	S	X	S	X	S	X	S	X	S
0	6,3	0,30	8,6	0,18	7,7	0,30	6,5	0,24	8,7	0,24
20	7,5	0,06	9,3	0,30	10,5	0,53	7,4	0,12	9,1	0,30
40	8,3	0,30	10,2	0,30	11,1	0,30	8,5	0,41	10,2	0,36
60	9,7	0,53	11,3	0,41	12,4	0,41	10,0	0,30	11,5	0,18
80	11,5	0,77	13,0	0,77	14,4	0,71	12,3	0,36	13,1	1,01
100	13,6	1,24	14,9	1,12	15,4	0,89	14,6	1,07	15,7	1,24
120	17,1	1,12	18,4	0,95	18,7	1,18	19,0	1,07	20,4	1,18

4.5.4) Tabela-20 - Toxicidade - Produção de CO₂ por *E coli* em ppm. Calculada através do lançamento dos resultados da tabela 17 da página 29, na curva padrão de CO₂ (Anexo-5).

Tempo (min)	Análises	CO ₂ (ppm)									
		Controle	E ₁		E ₂		E ₃		E ₄		
			4%	10%	4%	10%	4%	10%	4%	10%	
0	A ₁	0,396	0,547	0,743	0,668	0,608	0,427	0,472	0,562	0,789	
	A ₂	0,427	0,608	0,789	0,653	0,683	0,427	0,487	0,517	0,728	
	A ₃	0,472	0,532	0,789	0,728	0,623	0,517	0,427	0,562	0,819	
20	A ₁	0,623	0,653	0,849	0,879	1,00	0,578	0,608	0,698	0,819	
	A ₂	0,608	0,638	0,925	0,909	1,14	0,562	0,578	0,683	0,894	
	A ₃	0,608	0,668	0,864	0,849	1,05	0,593	0,578	0,743	0,970	
40	A ₁	0,698	0,759	0,985	0,864	1,17	0,728	0,698	0,909	1,02	
	A ₂	0,713	0,819	1,00	0,864	1,11	0,683	0,804	0,774	0,970	
	A ₃	0,774	0,774	1,06	0,955	1,18	0,774	0,774	0,864	1,06	
60	A ₁	0,879	0,985	1,15	1,05	1,30	0,955	1,02	1,08	1,20	
	A ₂	0,925	1,00	1,14	1,09	1,33	0,925	0,940	1,05	1,20	
	A ₃	1,02	1,02	1,24	1,17	1,40	1,13	1,00	1,11	1,24	
80	A ₁	1,12	1,18	1,44	1,41	1,62	1,18	1,33	1,44	1,29	
	A ₂	1,21	1,21	1,35	1,47	1,75	1,21	1,29	1,32	1,53	
	A ₃	1,32	1,33	1,54	1,36	1,57	1,29	1,38	1,53	1,54	
100	A ₁	1,36	1,53	1,71	1,68	1,75	1,54	1,70	1,70	1,89	
	A ₂	1,53	1,41	1,88	1,84	1,94	1,47	1,53	1,91	1,66	
	A ₃	1,68	1,69	1,59	1,51	1,71	1,75	1,80	1,60	1,98	
120	A ₁	1,91	2,04	2,21	2,22	2,13	2,37	2,31	2,28	2,42	
	A ₂	2,09	2,18	2,45	2,40	2,43	2,22	2,49	2,58	2,71	
	A ₃	2,19	1,88	2,40	2,13	2,30	2,07	2,22	2,34	2,52	

4.5.5) Tabela-21 - Toxicidade - Média e Desvio padrão da produção de CO₂ em ppm nas amostras com 4% de concentração O₂, segundo dados da tabela -20 página 32. Condições experimentais item 3.3.7, página 17.

Tempo (min)	CO ₂ (ppm)									
	Controle		E ₁		E ₂		E ₃		E ₄	
	$\bar{X}$	S	X	S	X	S	X	S	X	S
0	0,432	0,0450	0,562	0,0450	0,683	0,0444	0,457	0,0533	0,547	0,0266
20	0,613	0,00889	0,653	0,0178	0,879	0,0355	0,578	0,0183	0,708	0,0355
40	0,728	0,0450	0,784	0,0355	0,894	0,0539	0,728	0,0538	0,849	0,0799
60	0,941	0,0834	1,00	0,0207	1,10	0,0710	1,00	0,121	1,08	0,0355
80	1,217	0,118	1,24	0,0888	1,41	0,0651	1,23	0,0651	1,43	0,124
100	1,523	0,189	1,54	0,166	1,68	0,195	1,59	0,166	1,73	0,183
120	2,06	0,166	2,03	0,178	2,25	0,160	2,22	0,178	2,40	0,178

4.5.6) Tabela-22 - Toxicidade - Média e Desvio padrão da produção de CO₂ em ppm nas amostras com 10% de concentração O₂, segundo dados da tabela -20 página 32. Condições experimentais item 3.3.7, página 17.

Tempo (min)	CO ₂ (ppm)									
	Controle		E ₁		E ₂		E ₃		E ₄	
	$\bar{X}$	S	X	S	X	S	X	S	X	S
0	0,432	0,0450	0,774	0,0272	0,639	0,0444	0,462	0,0355	0,779	0,0538
20	0,613	0,00889	0,879	0,0450	1,06	0,0828	0,588	0,0178	0,894	0,0863
40	0,728	0,0450	1,02	0,0444	1,15	0,0414	0,759	0,0627	1,02	0,0533
60	0,941	0,0834	1,18	0,0592	1,34	0,0592	0,987	0,0473	1,21	0,0237
80	1,217	0,118	1,44	0,112	1,65	0,107	1,33	0,0533	1,45	0,148
100	1,523	0,189	1,73	0,195	1,80	0,136	1,68	0,160	1,84	0,189
120	2,06	0,166	2,35	1,142	2,29	0,178	2,34	0,160	2,55	0,172

4.5.7.) Tabela 23 - Taxa de crescimento da *E coli* na presença dos efluentes E₁ e E₂ com concentração de 4%, comparados ao controle. Cálculos referentes à fórmula da página 20.

Tempo (minutos)	% de Crescimento		
	E ₁	E ₂	Taxa de Crescimento
0	126,4	150,9	19,4
20	110,0	144,3	31,2
40	107,0	121,2	13,3
60	103,7	115,7	11,6
80	102,2	112,4	9,98
100	100,6	109,4	8,75
120	97,8	109,3	11,8

4.5.8) Tabela 24 - Taxa de crescimento da *E coli* na presença dos efluentes E₃ e E₄ com concentração de 4%, comparados ao controle. Cálculos referentes a fórmula da página 20.

Tempo (minutos)	% de Crescimento		
	E ₃	E ₄	Taxa de Crescimento
0	105,7	124,5	17,8
20	98,6	117,1	18,8
40	100,0	115,3	15,3
60	102,8	113,0	9,92
80	100,7	117,5	16,7
100	103,5	112,9	9,08
120	107,9	116,3	7,78

4.5.9) Tabela 25 - Taxa de crescimento da *E coli* na presença dos efluentes E₁ e E₂ com concentração de 10%. Cálculos referentes a fórmula da página 20.

Tempo (minutos)	% de Crescimento		
	E ₁	E ₂	Taxa de Crescimento
0	169,8	203,8	35,9
20	144,3	171,4	18,8
40	136,5	152,9	12,0
60	123,1	139,8	13,6
80	117,5	133,6	13,7
100	112,3	117,0	4,18
120	109,3	111,0	1,56

4.5.10) Tabela 26 - Taxa de crescimento da *E coli* na presença dos efluentes E₃ e E₄ com concentração de 10%. Cálculos referentes a fórmula da página 20.

Tempo (minutos)	% de Crescimento		
	E ₃	E ₄	Taxa de Crescimento
0	105,7	171,7	62,4
20	100,0	140,0	40,0
40	103,5	136,5	31,9
60	103,7	126,9	22,4
80	109,5	118,2	7,95
100	109,4	119,3	9,23
120	113,7	123,3	8,44

4.6) - Tabela - 27 - Quadro geral dos resultados das análises químicas, em ppm

EFLU- ENTES	ANÁLISES	COT	CLORETO	COR (UC)	FENOL TOTAL	CLAE FENOL	CLAE GUAIACOL	CLORO- LIGNINA
	A ₁	ND	1557	1468	75,8	ND	ND	8,2
	A ₂	ND	1562	1468	75,4	ND	ND	8,0
E ₀	A ₃	ND	1561	1467	75,7	ND	ND	7,8
	Média	ND	1560	1468	75,6	ND	ND	8,0
	Desvio	ND	2,96	0,592	0,237	ND	ND	0,237
	A ₁	651 ^(*)	940	1377	65,9	1,05	1,60 ^(*)	7,54
	A ₂	658	942	1378	63,2	0,98 ^(*)	1,46	7,60
E ₁	A ₃	660	640	1379	67,1	1,03	1,41	7,50
	Média	659	942	1378	65,4	1,04	1,44	7,55
	Desvio	1,77	2,4	1,2	2,3	0,012	0,044	0,059
	A ₁	508	1348 ^(*)	680 ^(*)	20,4 ^(*)	0,54	0,71	4,70
	A ₂	498 ^(*)	1326	671	22,8	0,51	0,66	4,69
E ₂	A ₃	505	1326	672	23,2	0,48	0,64	4,50
	Média	507	1326	672	23,0	0,51	0,67	4,63
	Desvio	2,65	zero	0,88	0,35	0,036	0,041	0,059
	A ₁	106	816	2560	62,0	0,33	0,63	3,13
	A ₂	103	814	2563	63,1	0,33	0,58	3,20
E ₃	A ₃	103	818	2535 ^(*)	63,3	0,30	0,56	3,21
	Média	104	816	2562	62,8	0,32	0,59	3,18
	Desvio	1,77	2,36	2,65	0,76	0,018	0,041	0,047
	A ₁	170 ^(*)	962	1683	29,9	0,29	0,34	1,78
	A ₂	186	958	1614	26,3	0,25	0,32	1,60 ^(*)
E ₄	A ₃	183	986 ^(*)	1615	27,7	0,27	0,33	1,74
	Média	185	960	1615	27,8	0,27	0,33	1,76
	Desvio	2,65	3,53	0,88	2,13	0,035	0,012	0,024

5) DISCUSSÃO

5.1) Considerações preliminares

Os efluentes do processamento Kraft E_1 (Figura-5, página-8), efluentes de outras etapas do processo e o esgoto sanitário da indústria, são aduzidos à um tanque equalizador para homogeneização. Esse efluente bruto (E_0) é então tratado pela indústria (Anexo-1), fornecendo o efluente final tratado (por nós denominado E_3) que é lançado no corpo receptor, que passa nas imediações da indústria.

5.2) Comentários individuais sobre os parâmetros analisados

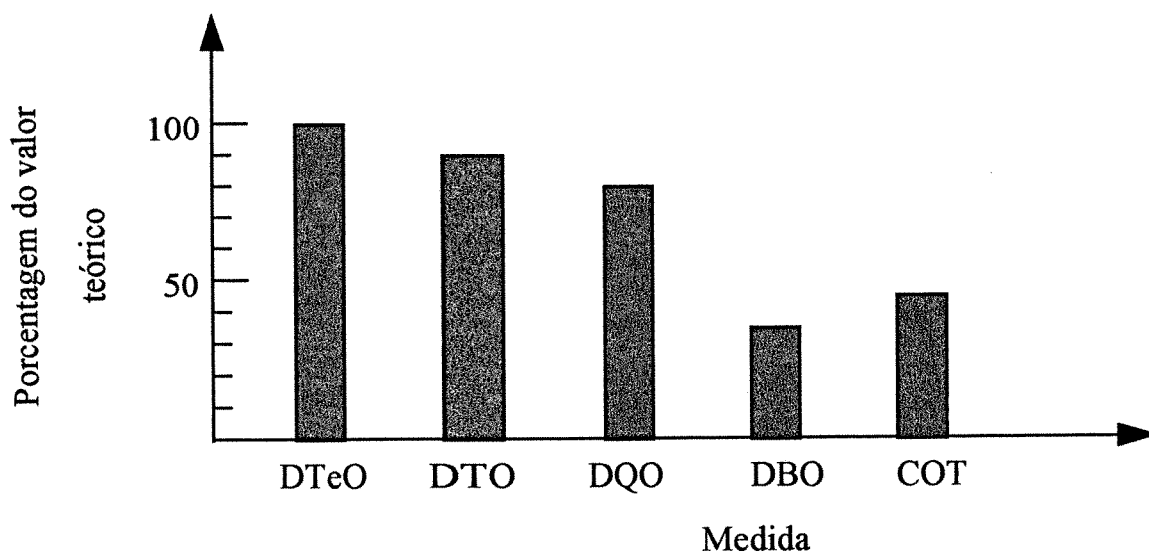
5.2.1 - COT (carbono orgânico total)

Os métodos de laboratório mais utilizados para a avaliação da matéria orgânica de efluentes são: DBO (demanda bioquímica de oxigênio), DQO (demanda química de oxigênio) e COT (carbono orgânico total). Mais recentemente dois outros métodos estão sendo bastante utilizados a DTO (demanda total de oxigênio) e DTeO (demanda teórica de oxigênio). O gráfico (Figura-10) mostra as relações entre essas determinações. Como na maioria das vezes a DBO é utilizada na avaliação da carga orgânica pela indústria papelreira, pelo gráfico podemos fazer a conversão de DBO para COT, visto que em nosso trabalho optamos pela avaliação da carga orgânica pelo carbono orgânico total, por ser um método preciso e rápido. De acordo com o gráfico a DBO representa 80% do COT (Metcalf-Eddy, 1992).

5.2.2) Cloretos

O íon cloreto é um dos principais ânions encontrados nas águas, principalmente na do mar, onde aparece em teores de até 19000mg/L.

Figura-10 - Gráfico comparativo dos parâmetros de avaliação da carga orgânica



Em regiões costeiras os valores de cloretos encontrados variam de 120 a 360mg/L nas águas subterrâneas e superficiais. Seu aparecimento em águas potáveis indica provável contato com esgotos industriais e/ou domésticos. Nas águas industriais aceleram a corrosão de tubulações, caldeiras e outras instalações inclusive as de tratamento (Ollis e Schiavello, 1988). A prática utilizada, por muitas indústrias, de se livrar de lodos e mesmo dos efluentes, através de seu uso na agricultura como adubo orgânico, pode ser prejudicada pelo conteúdo de cloretos que é fitotóxico em teores acima de 100 mg/L (Nicol, 1988).

5.2.3) Cor

A cor produzida pelos efluentes das fábricas de papel e celulose, têxteis, curtumes, matadouros e outras indústrias é indicadora de contaminação (Lankinen, 1991; Bajpai e Bajpai, 1994). Esta contaminação que é visível, frequentemente é a que causa maiores

problemas para a indústria. Os tratamentos convencionais das indústrias apresentam grandes dificuldades e poucos são bem eficientes na eliminação da cor dos efluentes. A literatura cita oxidantes químicos como cloro, ozônio ou água oxigenada para reduzir a cor, porém esses produtos encarecem muito o tratamento devido ao grande volume que seria necessário utilizar (Sawyer and McCarty, 1982; Ollis and Schiavello, 1988). Além disso, combinações entre esses agentes e poluentes presentes no efluente podem desencadear a formação de compostos ainda mais tóxicos. O oxigênio molecular, outro tratamento bastante utilizado, tem ação bastante lenta, principalmente para efluente com grande concentração de resíduos sólidos. Radicais livres, especialmente o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$), são poderosos oxidantes e podem induzir a mineralização de matéria orgânica e eliminação da coloração. Eles podem ser gerados na água pela γ -radiólise usando irradiações do ^{60}Co . A aplicabilidade desse método demonstrada por Gupta e Anderson (1991) é limitada devido ao alto custo, difícil operacionalidade e a não aceitação da tecnologia nuclear em nosso meio.

5.2.4) Fenol e Guaiacol determinados por CLAE

A presença dos compostos fenólicos nas águas tem grande efeito sobre a fauna aquática sendo que os clorofenóis são tóxicos aos peixes em concentrações acima de 0,2mg/L. Em baixas concentrações, 1 $\mu\text{g/L}$, produzem gosto medicinal em peixes e na água potável inclusive após tratamento.

5.2.5) Cloroligninas

As cloroligninas não podem penetrar na membrana celular dos organismos vivos, porém pode ser degradadas lentamente pela ação combinada de fatores físicos, químicos e biológicos gerando compostos de massa molecular reduzida que igualmente são nocivos ao

ecossistema aquático pois também impedem a absorção de luz (Cammarota, 1991).

5.3) Avaliação do tratamento efetuado pela indústria

Comparando os resultados obtidos nas amostras E_0 (efluente bruto sem tratamento) e E_3 (efluente após tratamento convencional efetuado pela indústria) indicados na Tabela 27 na página 36, através da Tabela 28 abaixo, temos condições de avaliar a eficiência do tratamento realizado pela indústria.

Tabela - 28 - Comparação efluente bruto E_0 e efluente final E_3

EFLUENTES	COT	CLORETO	COR	FENOL TOTAL	CLAE - FENOL	CLAE - GUAIACOL	CLORO- LIGNINA
E_0 (ppm)	395 [#]	1560	1468	75,5	-	-	8,00
E_3 (ppm)	104	816	2562	62,8	0,32	0,59	3,18
% Redução	74	48	-	17	-	-	60
% Aumento	-	-	75	-	-	-	-

Segundo Smith e col., (1992) a redução da COT ([#]resultado fornecido pela indústria) no tratamento convencional de efluentes da indústria de papel é de 70% portanto, a redução de 74% obtida pela indústria está dentro dos padrões para o tipo de tratamento. Nemerow, (1985) cita reduções de 62,6% e para outros tipos de indústrias e tratamentos, as reduções podem ser de até 95%, como exemplo, podemos citar os efluentes de indústria alimentícias submetidos ao tratamento terciário de osmose reversa (Smith e col, 1992), processo caríssimo e de baixo rendimento em termos de volume de efluente final tratado. Quanto aos cloretos a redução de 48% comparando-se com índices obtidos por indústrias alimentícias, curtumes etc., estão de acordo com os padrões para o tipo de tratamento utilizado. Smith e col, (1992) citam reduções de até 94,6% pelo tratamento de osmose reversa.

O parâmetro cor com o aumento de 75% no resultado do efluente bruto, ratifica a afirmativa de que o tratamento convencional, realizado pela indústria papelreira não elimina, pelo contrário, aumenta a coloração do efluente. A solução do problema em algumas indústrias, foi a de implantar tratamento terciário como por exemplo, a coagulação, floculação e precipitação com sulfato de alumínio ao final do tratamento secundário. Esse procedimento frequentemente acarreta alguns problemas tais como: 1) falta de espaço físico; 2) encarecimento do tratamento e 3) geração de lodos. No parâmetro fenol a redução de 17% está bem abaixo do esperado, Smith e col, (1972) citam reduções de até 90% em tratamento com lodo ativado, 43% com precipitação com FeCl_3 e 40% com precipitação com cal. Nas cloroligninas a redução de 60% foi satisfatória. Resumidamente podemos constatar, por esta comparação, que o tratamento efetuado pela indústria não é eficiente, principalmente nos parâmetros cor que aumentou e fenol pela baixa redução apresentada, tais resultados depõem contra resultados satisfatórios de outros parâmetros.

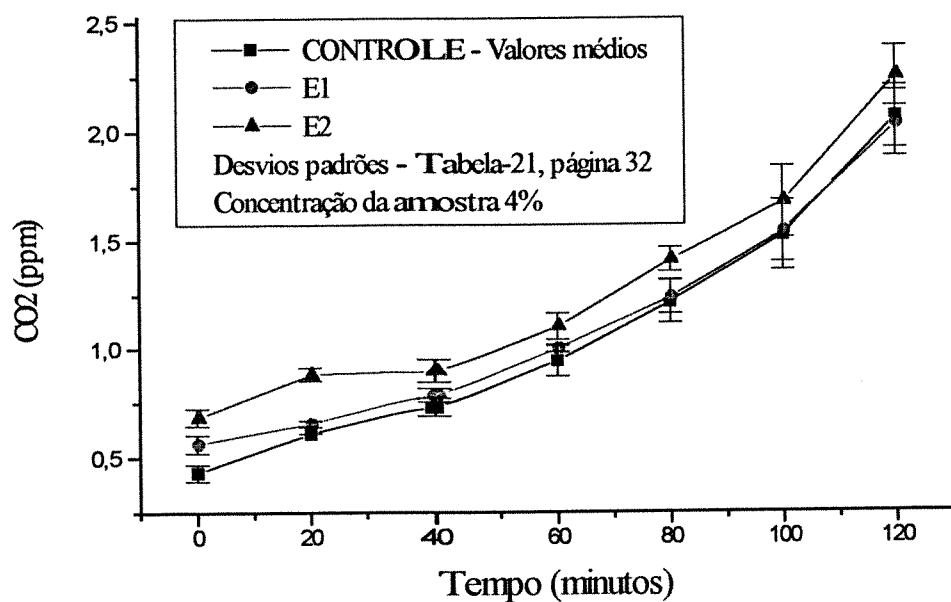
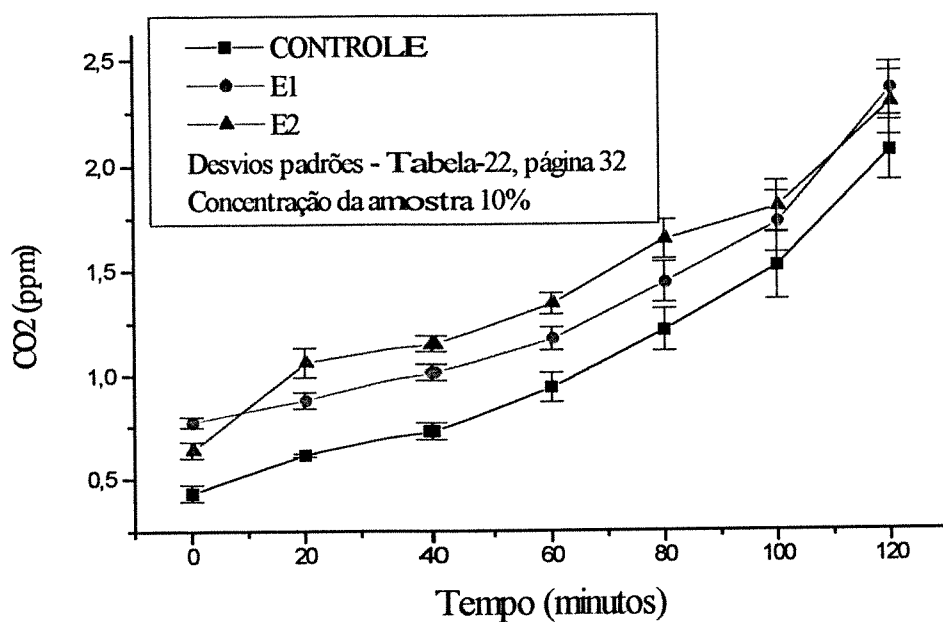
5.4) Avaliação do tratamento fúngico do efluente E_1

Tabela - 29 - Quadro comparativo entre os resultados das análises das amostras dos efluentes E_1 (efluente Kraft da 1ª extração alcalina, antes do tratamento fúngico) e E_2 (efluente Kraft da 1ª extração alcalina após ser tratado com *Lentinus edodes*). Dados relativos à Tabela 27, página 36.

EFLUENTES	COT	CLORETO	COR	FENOL TOTAL	CLAE - FENOL	CLAE - GUAIACOL	CLORO- LIGNINA
E_1 (ppm)	659	942	1378	65,4	1,04	1,49	7,55
E_2 (ppm)	507	1326	672	23,0	0,51	0,67	4,63
(%) Redução	23	-	51	65	50	55	39
(%) Aumento	-	41	-	-	-	-	-

A tabela 29 mostra que o microrganismo foi muito eficiente ao ataque ao fenol, com 65% de redução dos valores do efluente E₁, com relação as análises CLAE de fenol e guaiacol os resultados apresentaram grandes reduções 50 e 55% respectivamente (Anexos 6 e 7). A cor também sofreu uma alta redução bem como clorolignina e carbono orgânico total, mas o fato que chama mais atenção é o aumento em 41% dos níveis de cloretos no efluente tratado. Isto ocorre, devido a ação do microrganismo nas cloroligninas e consequente liberação do ânion cloreto ao meio.

Com relação à toxicidade, as tabelas 23 (página 34) e 25 (página 35) da taxa de crescimento, demonstram um pequeno aumento da produção de CO₂ nos efluentes E₁ e E₂ nas respectivas diluições 4 e 10%. O aumento da concentração de CO₂ indica maior atividade do microrganismo nas amostras testadas, conseqüentemente, houve metabolização de alguns dos componentes do efluente. Fato também demonstrado nos gráficos das figuras 11 e 12, onde o efluente E₂ (—▲—) no gráfico, quando comparado ao controle (—■—) no gráfico, apresenta maior produção de CO₂, ratificando a maior metabolização do efluente tratado com o fungo *Lentinus edodes*. Por outro lado, notamos também um ínfimo aumento de produção de CO₂ no efluente E₁ (—●—) no gráfico, quando comparado ao controle. Em vista disto, podemos concluir que nas diluições testadas, tanto o efluente E₁ como o efluente E₂ não são tóxicos, pois o microrganismo continuou a oxidar a matéria orgânica presente.

Figura 11 -Gráfico dos valores médios de produção de CO₂ com 4% dos efluentes E₁ e E₂Figura 12 - Gráfico dos valores médios de produção de CO₂ com 10% dos efluentes E₁ e E₂

5.5) Avaliação do tratamento fúngico do efluente E₃

Tabela - 30 - Quadro comparativo entre os resultados das análises das amostras dos efluentes E₃ (efluente final tratado convencionalmente pela indústria, antes do tratamento fúngico) e E₄ (efluente E₃ tratado com *Lentinus edodes*). Dados relativos à Tabela 27, página 36.

Tabela - 30 - Comparação entre os efluentes E₃ e E₄

EFLUENTES	COT	CLORETO	COR	FENOL TOTAL	CLAE - FENOL	CLAE - GUAIACOL	CLORO- LIGNINA
E ₃ (ppm)	104	816	2562	62,8	0,32	0,59	3,18
E ₄ (ppm)	185	960	1615	27,8	0,27	0,33	1,76
(%) Redução	-	-	37	56	16	44	45
(%) Aumento	78	18	-	-	-	-	-

Nesta comparação notamos o aumento de 78% do parâmetro COT, que ocorreu devido a presença do esgoto sanitário na amostra. Este suprimento de matéria orgânica favoreceu o desenvolvimento dos microrganismos no sistema, provocando o aumento da carga orgânica. O parâmetro cloreto, aumentou 18% devido a ação do fungo nas cloroligninas remanescentes e liberação do ânion cloreto ao meio. Quanto ao parâmetro cor a redução de 37% pode ser considerada excelente pois, se compararmos a redução de cor de E₁ para E₂ (51%) e a redução de cor de E₃ para E₄ (37%), notaremos que no efluente E₃ o microrganismo encontrou materiais de difícil metabolização devido ao fato dele ser proveniente de uma mistura de efluentes, já no efluente E₁ a ação foi mais específicas para ligninas sem muitos interferentes, como os sólidos totais, principalmente. O mesmo pode-se dizer do parâmetro fenol total com excelente redução de 56%. Os parâmetros mais específicos fenol e guaiacol via CLAE demonstraram reduções de 16% e 44% (Anexos 8 e 9) respectivamente.

Com relação à toxicidade, as tabelas 24 (página 34) e 26 (página 35) da taxa de crescimento, demonstram um pequeno aumento da produção de CO_2 nos efluentes E_3 e E_4 nas respectivas diluições 4 e 10%. O aumento da concentração de CO_2 indica maior atividade do microrganismo na amostra tratada com o fungo, conseqüentemente, houve maior metabolização, como mostrado anteriormente.

Fato também demonstrado nos gráficos das figuras 13 e 14, onde os efluentes E_3 (—●—) e E_4 (—▲—), quando comparados ao controle (—■—) no gráfico apresentam maior produção de CO_2 , ratificando a maior metabolização na amostra do efluente tratado com o fungo *Lentinus edodes*, demonstrando novamente a baixa toxicidade aguda dos efluentes nas diluições testadas.

Figura 13-Gráfico dos resultados médios de produção de CO_2 com 4% dos efluentes E_3 e E_4

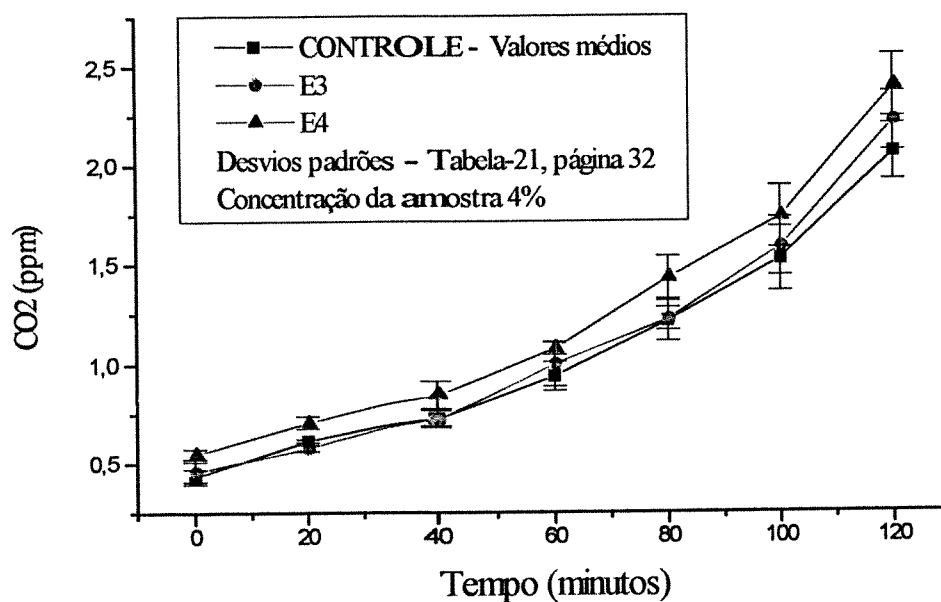
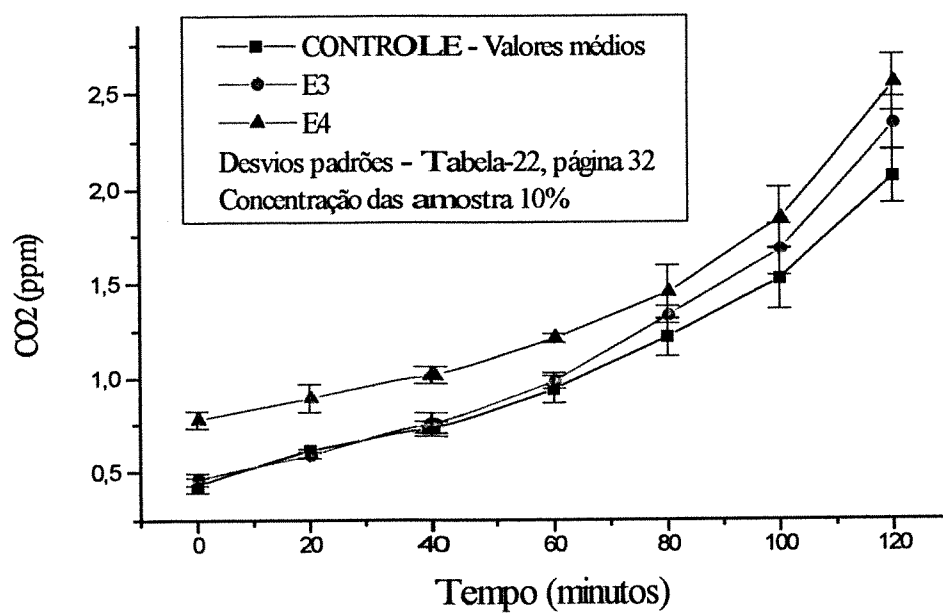


Figura 14 -Gráfico dos valores médios de produção de CO_2 com 10% dos efluentes E_3 e E_4



6) CONCLUSÕES

- 1) O tratamento dos efluentes da empresa é falho na redução da coloração e no parâmetro fenol necessitando de um tratamento terciário.
- 2) O aumento de cloretos, nos efluentes tratados com o fungo *Lentinus edodes*, foi devido ao ataque às cloroligninas e consequente liberação do ânion cloreto no meio. Fato que demonstra a eficiência do microorganismo. Esta liberação do ânion cloreto não tornou o efluente tóxico, como demonstra o teste de toxicidade (item 5).
- 3) A redução dos parâmetros: cor, ligninas, fenóis, fenol-CLAE e guaiacol-CLAE demonstram a eficiência do fungo no efluente final E₃, mesmo com a presença do esgoto doméstico e sua natural interferência.
- 4) Quanto ao aumento do COT no sistema, em termos de meio ambiente, é preferível emitir matéria orgânica biodegradável e facilmente absorvida pelos corpos de água do que produtos tóxicos de difícil decomposição e acumulativos.
- 5) Com relação ao teste de toxicidade todos os resultados demonstram que os efluentes resultantes do tratamento com o fungo *Lentinus edodes* UEC-2421 (E₂ e E₄), bem como os efluentes sem o tratamento fúngico (E₁ e E₃), apresentaram pequeno aumento na produção de CO₂, devido a metabolização de algum componente presente nos efluentes. Como não houve morte dos microrganismos, podemos concluir que nas diluições testadas os efluentes com e sem tratamento fúngico, não apresentaram toxicidade aguda pelo método FIA analítico.

7) ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO E PERSPECTIVAS

Um dos objetivos principais desta tese de mestrado, no início dos trabalhos, foi o de avaliar a ação do fungo *Lentinus edodes* sobre o efluente E₁ do processo Kraft. No decorrer do trabalho, foram surgindo novas situações e novas oportunidades de se ampliar o estudo através da avaliação dos efeitos do fungo no efluente final E₃ da empresa. A grande quantidade de informações alcançadas através das análises químicas, levou-me a optar pela escolha de um teste de toxicidade mais simples com microrganismos.

Os resultados obtidos demonstraram a grande eficiência do fungo no tratamento dos efluentes da indústria papaleira, podendo ser utilizado em qualquer uma das fases do tratamento, principalmente como tratamento terciário, com o propósito de diminuir a coloração e os teores de fenol total emitidos atualmente. Sendo, portanto, um trabalho de alta aplicabilidade prática.

Considero que para o desenvolvimento dos trabalhos para o doutorado, com os conhecimentos obtidos sobre os efluentes, estarei apto a dar continuidade e complementar o estudo, através da aplicação de testes de toxicidade como: Viabilidade Celular - (CV), Formação de colônias - (CFA), Vermelho Neutro - (NR), Determinação de Proteína, Redução de MTT e Taxa de Síntese de DNA.

8) - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexopoulos, C.J.; Mins, C. and Blackwell, M.** (1996). *Introductory Mycology* Fourth Edition. John Wiley & Sons, inc. New York - Chinchester.
- ANFPC (Associação Nacional do Fabricantes de Papel e Celulose)** (1993). Relatório Estatístico.
- APHA (American Public Health Association)** (1989). *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* 17a. Ed.
- Archibald, F.; Paice, M.G. and Jurasik, L.** (1990). Decolorization of Kraft Bleachery Effluent Chromophores by *Coriolus (Trametes) versicolor*. *Enzyme Microb. Technol.*, 12:846.
- Baeza, J.; Urizar S.; Erisman, N. M.; Freer, J.; Schmidt, E. and Durán, N.** (1991). Organosolv Pulping - V: Formic Acid Delignification of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus grandis*. *Biores. Technol.*, 37:1.
- Bajpai, P.; Mehna, A. and Bajpai, P.K.** (1993). Decolourization of Kraft Bleach Effluent With Withe rot Fungus *Trametes versicolor*. *Process Biochem.*, 46:274.
- Bajpai, P.; and Bajpai, P.K.** (1994). Biological Colour Removal of Pulp and Paper Mill Wastewater. *J. Biotechnol.*, 33:211.
- Blair, J.E. and Davis, L.T.** (1980). Process for Decolorizing Pulp and Paper Mill Wastewater. US Patent, apr. 22, 4, 199-444.
- Blair, J.E. and Davis, L.T.** (1984). Microorganism for Decolorizing Pulp and Paper Mill Wastewater. US Patent, apr. 24, 4, 444-888.

-
- Branco, S.M. and Hess, M.L.** (1975). Tratamento de Resíduos Em Tópicos de Microbiologia Industrial. vol. 2. Edgard Blucher, ed. Universidade de São Paulo. 3:47
- Branco, S.M.** (1978). Hidrobiologia Aplicada à Engenharia Sanitária. 3ed. São Paulo. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 620p.
- Cammarota, M.C.** (1991). Avaliação de um Bio-Reator Fúngico para Remoção de Cor do Efluente Branqueamento de Polpa Kraft. Tese de Mestrado, Escola de Engenharia Química, UFRJ, RJ.
- Cammarota, M.C. and Sant'Anna, G.L.** 1992). Decolorization of Kraft Bleach Plant E₁ Stage Effluent in a Fungal Bioreactor. Environ. Technol., 13:65.
- Coughlan, M.P. and Russel, E.G.** (1985). The Properties of Fungal and Bacterial Cellulases with Comment on Their Production of Application. Biotechnol. Gen. Eng. Rev., 3:39.
- Curtis, H.** (1977). Biology. Worth Published, Inc. 444 Park Avenue South New York, New York, USA. 1:964.
- Das, B.S.; Reid, S.G.; Betts, J.L. and Patrick, K.** (1969). Bleached Kraft Chlorination Effluent Toxic to *Young Salmon*. J. Fisheries Res. Board Can., 26:3055.
- Davis, S. and Burns, R.G.** (1978). Decolorization of Phenolic Effluents by Soluble and Immobilized Phenol Oxidases. Appl. Microbiol. Biotechnol., 32:721.
- Douglass, I. B. and Price, L.A.** (1966). A Study of Methyl Mercaptan and Dimethyl Sulfite Formation in the Kraft Pulping Process. Tappi, J. 48(12):699.
- Durán, N.; Dezzotti, M. and Rodriguez, J.** (1991). Biomass Photochemistry XV: Photobleaching and Biobleaching of Kraft Effluent. J. Photochem. Photobiol. A: Chem., 62:269.

-
- Eriksson, K.E.L.** (1992). Development of New Techniques to Reduce Environmental Impact of Pulp Bleaching. Proc. 2nd Braz. Symp. Chem. Lignins Wood Comp., (Durán, N. and Esposito, E. Eds),, Campinas, Brasil, 3:274.
- Esposito, E.** (1995). Tratamento Biológico de Efluentes: Parâmetros Ótimos na Utilização de um Bioreator de Leito Recheado Modificado. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia Química, Unicamp.
- Esposito, E.; Canhos, V. and Durán, N.** (1991). Screening of Lignin-Degrading Fungi for Removal of Color from Kraft Mill Wastewater with no Addition Extra Carbon-Source. *Biotechnol. Lett.*, 13:571.
- Fengel, T. and Wegener, G.** (1984). Wood - Chemistry, Ultrastructure, Reactions. Walter de Gruyter, Berlin-New York. 66:181.
- Ferrar, M.A.** (1988). Produção de Ligninases por *Phanerochaete Chrysosporium* em Diferentes Fontes de Carbono. Tese de Mestrado, Escola de Química, UFRJ.
- Gold, M.H.; Kuwahara, M.; Chiuí, A.A. and Glenn, J.K.** (1984). Purification and Characterization of Extracellular H_2O_2 - Requiring Diarylpropane Oxydase from the White rot Basidiomycete. *Phanerochaete chrysosporium*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 234: 353.
- Guimarães, J.R.** (1990). Determinação do Dióxido de Carbono por FIA. Aplicação em Testes de Toxicidade. Tese de Mestrado, Instituto de Química, Unicamp.
- Gupta, B.P. and Anderson, J.V.** (1991). Solar Detoxification of Hazardous Waste - An Overview of The U.S. Department of Energy Program. *Solar Energy Materials*. 24:40
- Gritzali, M. and Brow, R.D.** (1979). The Cellulase System of Trichoderma. Relationships Between Purified Extracellular from Induced of Cellulose-grown Cells. *Advan. Ser.*, 181:237.

-
- Hagblom, M. and Salkinoja-Salonem, M.** (1991). Biodegradability of Chlorinated Organic Compounds in Pulp Bleaching Effluents. *Wat. Sci. Techol.*, 24:161.
- Harris, J.H.; Scarlett, G. and MacIntyre, R.J.** (1992). Effects of a Pulp Mill on the Ecology of the La Trobe River, Vitória, Austrália. *Hydrobiol.*, 246:49.
- IPT - Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo.** (1985). Conservação de energia na indústria de celulose e papel. V2 Publicação IPT, 1628.
- Kuwahara, M.; Glenn, J.K; Morgan, M.A. and Gold, M.H.** (1984). Separation and Characterization of Two Extracellular H₂O₂ - Dependent Oxidases From Ligninolytic Cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *FEBS Lett.*, 169:247.
- Lamardo, M.L.O.A.** (1982). Considerações Sobre a Coloração de Efluentes de Fábrica de Celulose e Papel: Fabrica de Celulose Sulfato Branqueada de Eucalipto. São Paulo, 155p. Tese de Mestrado, Instituto de Química, USP São Paulo.
- Lankinen, V.P.; Inkeroinen, M.M.; Pellinen, J. and Hatakka, A.I.** (1991). The Onset of Lignin-modifying Enzymes, Decrease of AOX and Color Removal by White-rot Fungi Grown on Bleach Plant Effluents. *Wat. Sci. Technol.*, 24:189.
- Larrea, L.; Forster, C.F. and Melé, D.** (1989). Changes in Lignin During Diffused Air Activated Sludge Treatment of Kraft Effluent. *Wat. Res.*, 23:1073.
- Lima, A.F.** (1980). Efeito da Estocagem de Cavacos de *Pinus Elliottii* Sobre a Polpação Kraft e Aproveitamento de Subprodutos Em: Congresso Anual da ABCP, 13. Anais. São Paulo, ABCP. 249.
- Lima, U.A.; Aquarone, E e Borzani, W.** (1995). Tecnologia das Fermentações. Ed. Edgard Blucher Ltda, SP-Brasil. 286p.
- Livernoche, D.; Jurasek, L.; Desrochers, M. e Dorica, J.** (1983). Removal of Color from Kraft Mill Wastewater with Cultures of White-Rot Fungi and with Immobilized Mycelium of *Coriolus versicolor*. *Biotechnol. Bioeng.*, 25:2055.

-
- Mandels, M.** (1982). Cellulases. *Ann. Report. on Ferm. Process.*, 5: 35.
- Metcalf, L. and Eddy, H.P.,** (1977). *Wastewater Engineering: Collection, Treatment, Disposal.* McGraw-Hill. 1: 990.
- Michel, Jr. F.R.; Dass, B.; Grulke, E.A. and Reddy, C.A.** (1991). Role of Manganese Peroxidases and Lignin Peroxidases of *Phanerochaete chrysosporium* in the Decolorization of Kraft Bleach Plant Effluent. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57:2368.
- Moraes, S.G.** (1995). Fotodegradação de Compostos organoclorados aromáticos; Caracterização e Toxicidade de Intermediários. Tese de Mestrado. Instituto de Química, Unicamp.
- Mullings, R.** (1985). Measurement of Saccharification by Cellulases, *Enzyme Microb. Technol.*, 7:586.
- Nemerow, N.L..** (1985). *Liquid waste of industry; theories, practices, and treatment.* Massachusetts, Addison - Wesley, USA. 1:1250.
- Nicol, J.P.; Benefield, L.D.; Wetzel, E.D.; Heidman, J.A.** (1988). Activated Sludge Systems with Biomass Particle Support Structures. *Biotechnol. Bioeng.*, 31:682.
- Norrstorn, H.A. and Stromberg, L.M.** (1990). Environmental. Obligation of Industry In: Roberts F. (Ed.), *World Pulp and Paper Technology*, Sterling Publication LTD, London, UK, pp.279.
- Ollis, D.F. and Schiavello, M.** (1988). *Photocatalysis and Environment: Trends and Applications*, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, pp.663.
- Palmer, C, F.** (1974). *Controle Total da Qualidade.*, Edgard Blücher, São Paulo, pp.122.
- Pellinen, J. and Soimasuo, R.** (1993). Toxicity of Sediments Polluted by the Pulp and Paper Industry to a Midge (*Chironomus Riparius Meigen*). *Sci. of Total Environ., Supplement.*, 1:1247.

-
- Reginatto, V.** (1994). Estudo das Enzimas Produzidas por *Trichoderma longibrachiatum* Responsáveis pela Degradação de Materiais Celulósicos. Tese de Mestrado. Engenharia de Alimento, Unicamp.
- Santos, M.A.; Pacheco, M. and Serra, T.** (1993). Study of Recovery After Short Term Exposure to Kraft Mill Effluents of *Anguilla anguilla* L. Sci of Total environ., Supplement., 1:1173.
- Sawyer, C.N. and McCarty, P.L.** (1982). Chemistry for Environmental Engineering. Ed. McGraw Hill, inc. pp.1160.
- Senra, M.O.A.** (1977). Análises Físico-Químicas para o Controle do Tratamento de Esgotos, São Paulo. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (Cetesb). 226p.
- Smith, J.M.; Masse, A.N. and Feige, W.A.** (1972). Application of New Concepts of Physical-chemical Wastewater Treatment. Environmental Protection Agency. National Environmental Research Center. Cincinnati, OHIO, 45268.
- Sprague, J.B.** (1969). Measurement of Pollutant Toxicity to Fish I. Bioassay Methods for Acute Toxicity. Water Res., 3:793.
- Sprague, J.B.** (1970). Measurement of Pollutant Toxicity to Fish II. Utilizing and Applying bioassay Results. Water Res., 4:3.
- Sprague, J.B.** (1971). Measurement of Pollutant Toxicity to Fish III. Sublethal Effects and "Safe" Concentrations. Water Res., 5:245.
- Sprague, J.B.** (1991). Environmentally Desirable Approaches for Regulating Effluents From Pulp Mills. Wat. Sci. Technol., 24:361.
- Stocker, H.S. and Seager, S.L.** (1987). Environment Chemistry: Air and Water Pollution London, Scott & Foresman., pp.450

- Tappi.** (1996). Introduction to Pulping Technology. Atlanta, Georgia. Tappi Home Study Course, 2.
- UNEP.** (1988). Environmental Management in the Pulp and Paper Industry. Moscow, UNEP. v.1, part I and IV. Industry & Environmental Manual Series, I.
- Waldichuk, M.** (1989). The State of Pollution in the Marine Environment. Mar Pollut Bull., 20:598.
- Ward, D.P.** (1985). Hydrolytic Enzymes, In: Moo-Young, M. (Ed). Comprehensive Biotechnology., 3:819.

9) CONGRESSOS E CONFERÊNCIAS

9.1) **Fungal Treatment of Pulp and Paper Industry: Kraft-E₁ and Final Effluent-E_F after Aerobic Treatment.** (Massai, L.R.; Esposito, E.; Haun, M. and Durán, N.).

The Fourth Brazilian Symposium on the Chemistry of Lignins and Other Wood Components: Alternative Pulping and Bleaching Processes Environmental Impact and Utilization of Wood By-Products". Recife-PE november, 28-30/december, 1, 1995.

9.2) **Biodegradability of Kraft- E₁ and Final Effluent-E_F Induced By Aerobic Treatment With *Lentinus edodes* UEC-2021".** (Massai, L.R.; Esposito, E.; Haun, M. and Durán, N.).

XXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular" - SBBq. Caxambú-MG. de 04 a 07 de maio de 1996. Hotel Glória.

9.3) **Degradação de Fenol e Guaiacol dos Efluentes Kraft- E₁ e Final- E_F pelo Fungo *Lentinus edodes*.** (Massai, L.R.; Esposito, E.; Haun, M. and Durán, N.).

I Reunião Nacional de Microbiologia Aplicada ao Meio Ambiente. De 29 a 31 de agosto de 1996, Instituto de Química-Unicamp, Campinas-SP. Mini Conferência.

9.4) **Fungal Treatment of Paper Industry Kraft-E₁ and Final Effluent-E_F After Aerobic Treatment.** (Massai, L.R.; Esposito, E.; Haun, M. and Durán, N.).

VIII PABMB 1996. The Pan-American Association for Biochemistry and Molecular Biology". November 16/21 1996. Pucón, Chile.

9.5) **Biotoxicity of Chlorolignins from Kraft Effluents Treated by *Lentinula edodes*.** (Massai, L.R.; Esposito, E.; Haun, M. and Durán, N.).

V Seminário de Hidrólise Enzimática de Biomassas" - V SHEB - Maringá-PR de 09 à 13/dezembro/1996.

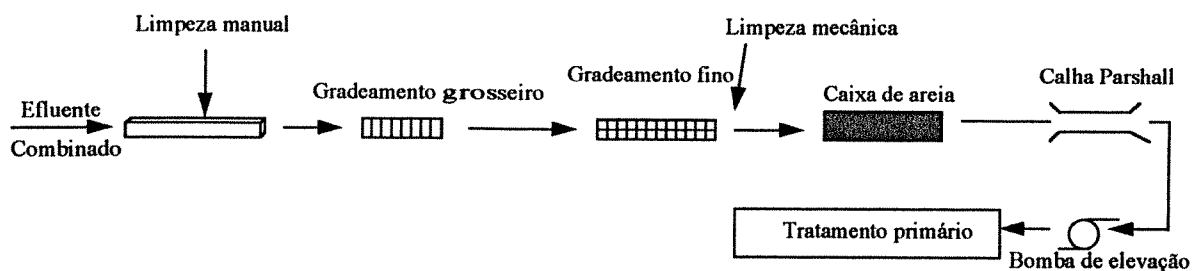
ANEXOS

ANEXO 1 - Métodos de tratamento dos efluentes da indústria papelreira

Tratamento primário

Durante esse tipo de tratamento (Senra, 1977) o objetivo é separar os sólidos existentes no efluente, da fração líquida. Isto é conseguido fazendo-se com que o efluente, após receber um tratamento preliminar (figura-1) chamado de gradeamento, que tem a função de reter partículas de maiores tamanhos que poderiam causar problemas nas tubulações, bombas e em outros equipamentos, seja conduzido a tanques de concretos, previamente dimensionados para reter líquido durante um determinado período necessário à sedimentação da fração sólida mais densa e flutuação ou flotação da camada menos densa. Esta última camada vai constituir as escumas, ao passo que a camada sólida que se deposita no fundo dos decantadores vai constituir o lodo bruto, material também conhecido como lodo cru ou lodo primário e a parte líquida que sai é o efluente com tratamento primário (figura-2).

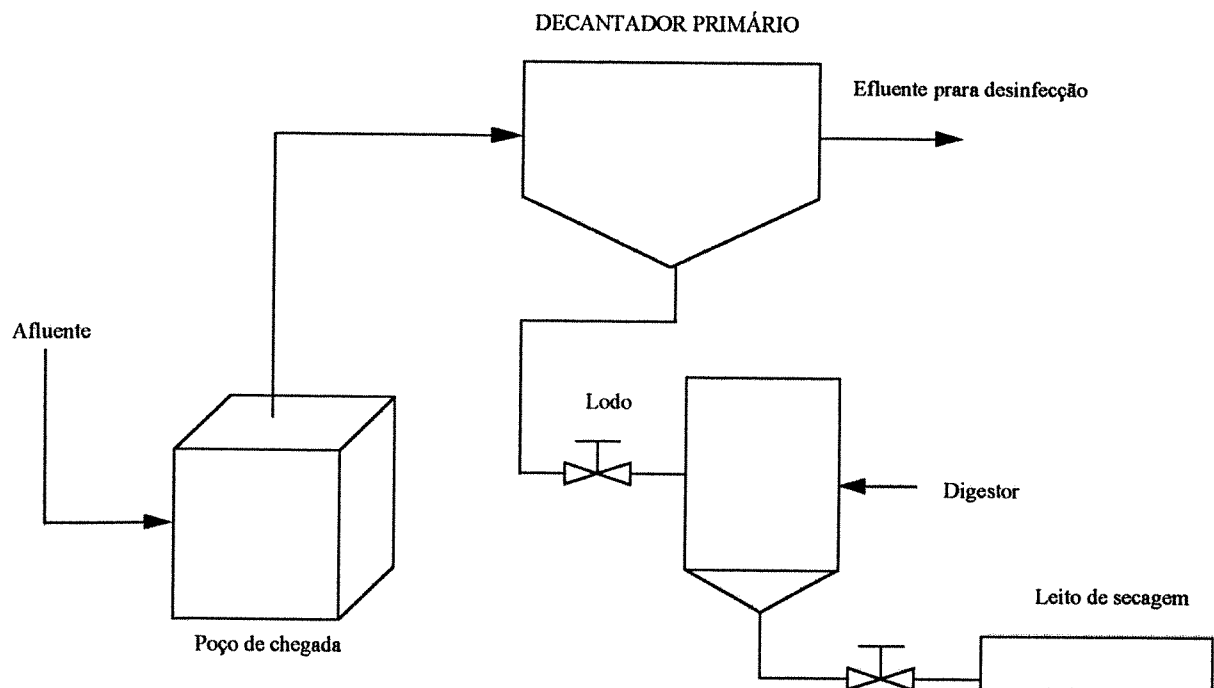
Figura-1 - Tratamento preliminar



Alguns desses tanques ou reservatórios do tratamento primário são projetados para reter a parte sólida por alguns dias, de tal modo que se processe a digestão, desses sólidos, dentro da própria unidade de sedimentação através de um processo anaeróbico ou comumente chamada de digestão anaeróbica. Assim as principais unidades do tratamento são: decantador primário, fossas sépticas, tanques Imhoff e lagoas anaeróbicas. Nos três últimos,

se processam ao mesmo tempo a sedimentação e a digestão dos lodos, ao passo que nos decantadores primários o lodo sedimentado é removido para receber tratamento em outro local, geralmente em digestores anaeróbicos.

Figura 2 - Tratamento primário



Além dos processos citados o tratamento primário pode incluir: precipitação química, secagem, disposição sobre terreno, incineração e filtração em filtros grosseiros.

Tratamento secundário

Os sistemas de tratamento secundário incluem, além dos processos preliminares e primários, processos biológicos adequados e uma decantação final secundária. Resumindo, podemos afirmar que todas as formas de tratamento realizadas nos efluentes, nos lodos e nas espumas provenientes do tratamento primário são consideradas como tratamentos secundários. O tratamento secundário pode ser realizado por métodos tradicionais onde a matéria orgânica é oxidada pelo oxigênio fornecido artificialmente por um processo mecânico qualquer ou em

lagoas de estabilização onde o oxigênio é proveniente da respiração e fotossíntese dos organismos aquáticos.

As lagoas de estabilização podem ser: anaeróbicas; aeróbicas; aeróbicas facultativas e aeradas. As lagoas anaeróbicas são aquelas que decompõe a matéria orgânica sem a presença do oxigênio livre. Haverá a transformação de moléculas orgânicas complexas em moléculas orgânicas mais simples, com pouca liberação de energia e oxidação parcial (figura-3). Nas lagoas aeróbicas nunca se tem condições anaeróbicas uma vez que sempre que os organismos produtores de oxigênio se depositarem no fundo são removidos. No caso do oxigênio ser fornecido, por um processo mecânico o lodo formado também será removido periodicamente. As lagoas facultativas depuram o efluente por processos aeróbicos próximo à superfície e processo anaeróbico no fundo da lagoa (figura-4). Já as lagoas aeradas são grandes tanques de aeração, onde ocorrem os fenômenos típicos do processo de lodos ativados. O oxigênio é introduzido na massa líquida através de processos mecânicos (figura-5). A aeração poderá ser realizada por aeradores mecânicos flutuantes (caso mais comum) ou por ar difuso e oxigênio livre (casos mais raros).

Figura-3 - Lagoa de estabilização anaeróbica

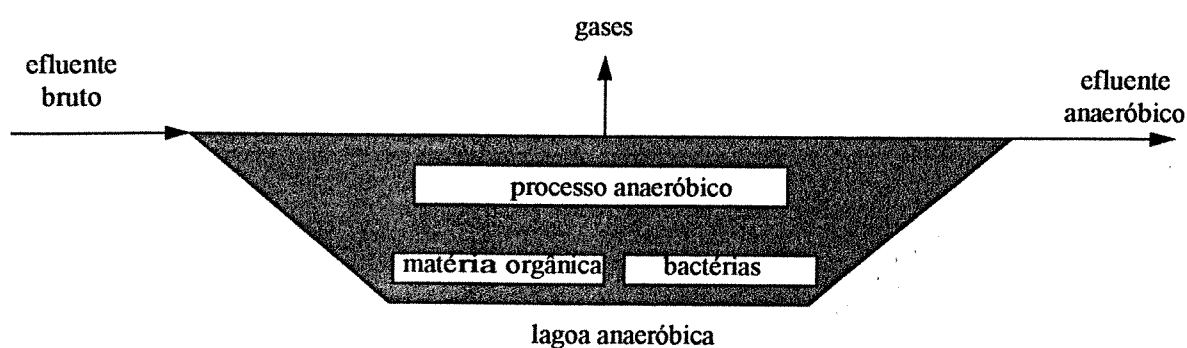


Figura-4- Lagoa de estabilização facultativa

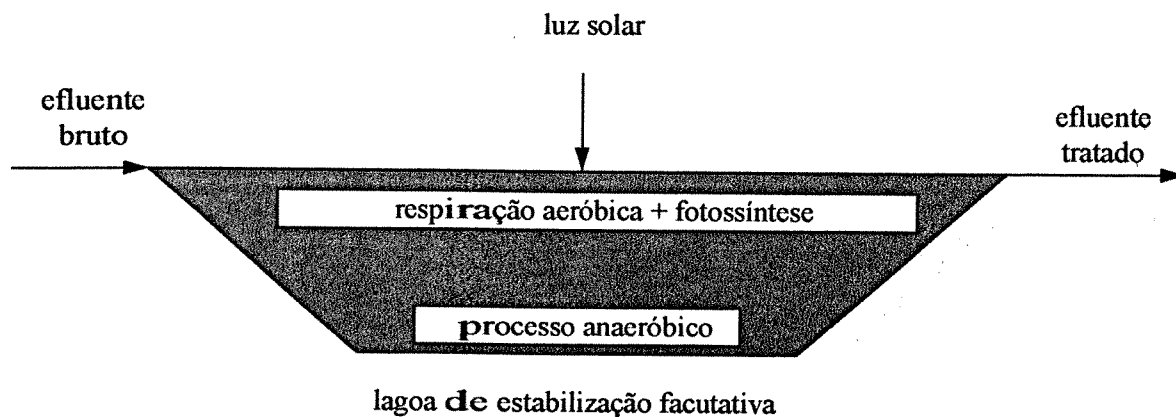
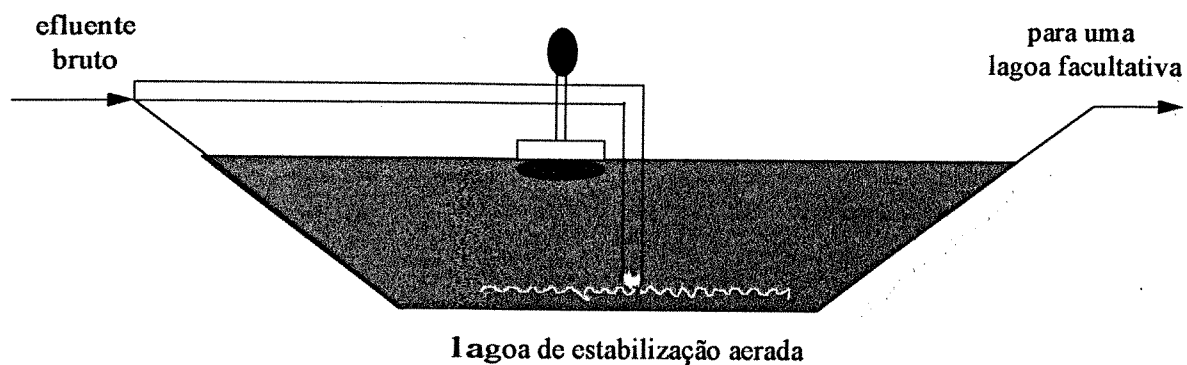


Figura-5 - Lagoa de sedimentação aerada



As figuras (4 e 5) acima, mais o tratamento primário indicado na página 58 representam o tratamento convencional, realizado atualmente na indústria em questão.

ANEXO-2

2.4) Enzimas

São várias as enzimas envolvidas na degradação de fenóis, ligninas, polissacarídeos e outras substâncias presentes no efluente Kraft. Entre essas enzimas se sobressaem as seguintes: celulase; fenoloxidase; ligninase e manganês peroxidase. Celulase é um sistema ou um complexo enzimático no qual várias enzimas atuam em conjunto para hidrolisar a celulose (Gritzali and Brown, 1979; Mandels, 1982; Mullings, 1985). Este sistema possui três enzimas principais: 1) endo- β -1,4-glicanase que promove a hidrólise da celulose. 2) exo-celobiohidrolase que apresenta dois tipos: a exo-glicohidralase que remove unidades de glicose e a exo-celobiohidrolase que remove a celobiose. 3) β -glicosidase que convertem a celobiose e outras celodextrinas de baixo peso molecular de até sete glicoses, em glicose (Mandels, 1982; Ward, 1985; Mullings, 1985).

A classe fenoloxidase que tem a capacidade de polimerizar fenóis e degradar ligninas (Ferrar, 1988; Esposito, 1995) tem como representantes principais a lacase e a peroxidase. A lignina peroxidase foi descoberta simultaneamente (Gold et al., 1984) como sendo uma enzima relacionada com a oxidação de compostos monoméricos e diméricos derivados da lignina.. A manganês peroxidase é um classe de isoenzimas com alto peso molecular (Reginatto, 1991), dependente do manganês e da H_2O_2 para sua atividade, a enzima oxida o manganês de +2 para +3. Tanto lignina-peroxidase como manganês-peroxidase, são importantes na descoloração do efluente Kraft. O papel destas duas enzimas no tratamento de efluentes foi discutido por Michel et al., (1991).

ANEXO-3 - Reagentes - Meios de Cultura -Soluções

1) Agar Extrato de Malte

Extrato de Malte12,5g.

Agar20,0g.

Água Destilada 1000mL

2) Solução Padrão de Cloreto de Sódio (NaCl)

Pesar 5g de NaCl p.a. seco por 1 hora a 105°C e dissolver em 5 litros de água destilada. A solução foi estocada a 4°C.

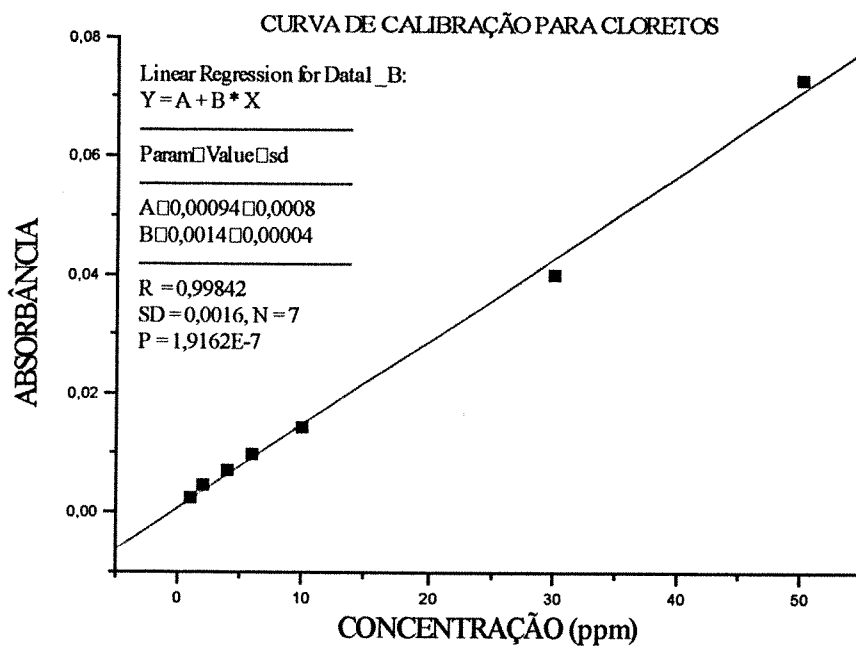
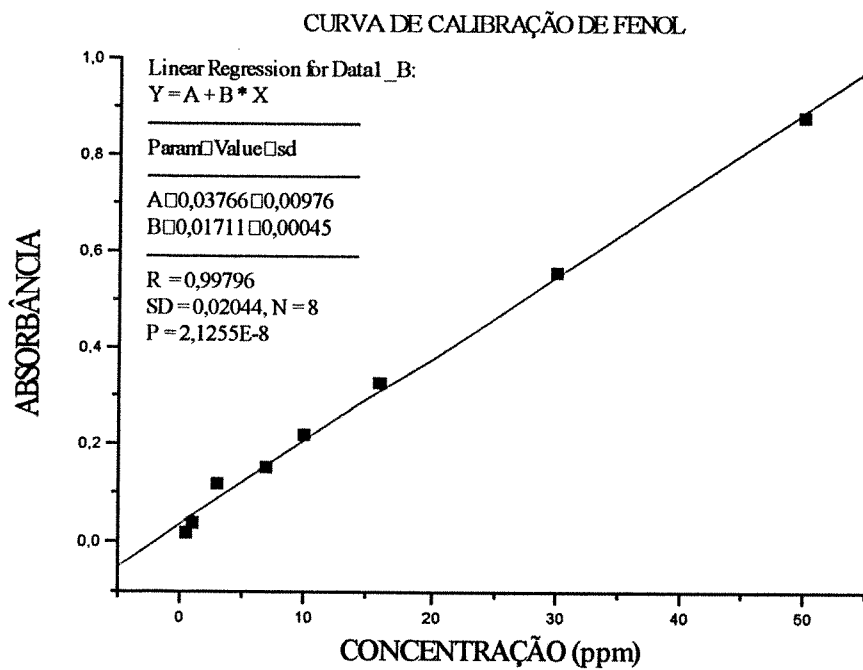
3) Tampão Fosfato 0,1M - pH 7,6

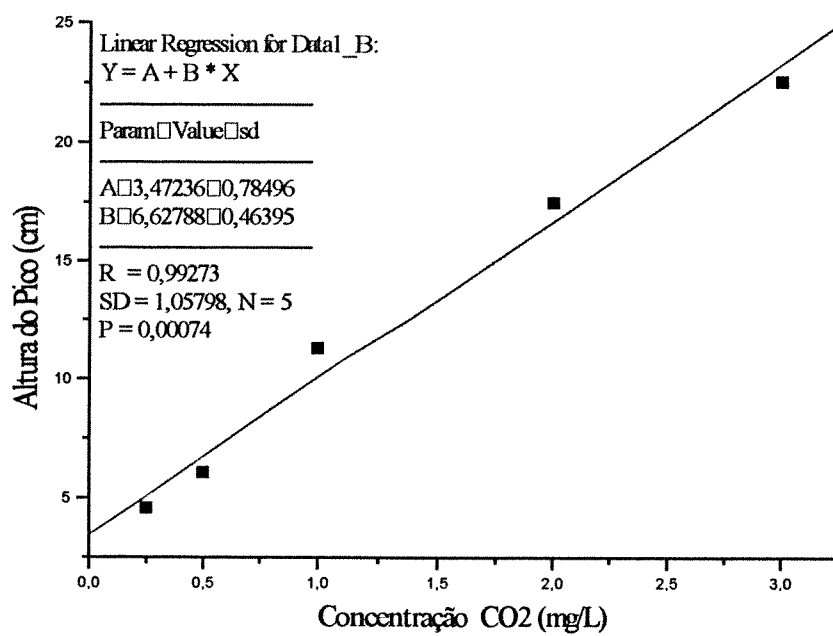
Solução “A” - 0,2M de fosfato monobásico de sódio (NaHPO₄). - 27,8g/L.

Solução “B” - 0,2M de fosfato dibásico de sódio (Na₂HPO₄ 7 H₂O).- 56,65 g/l

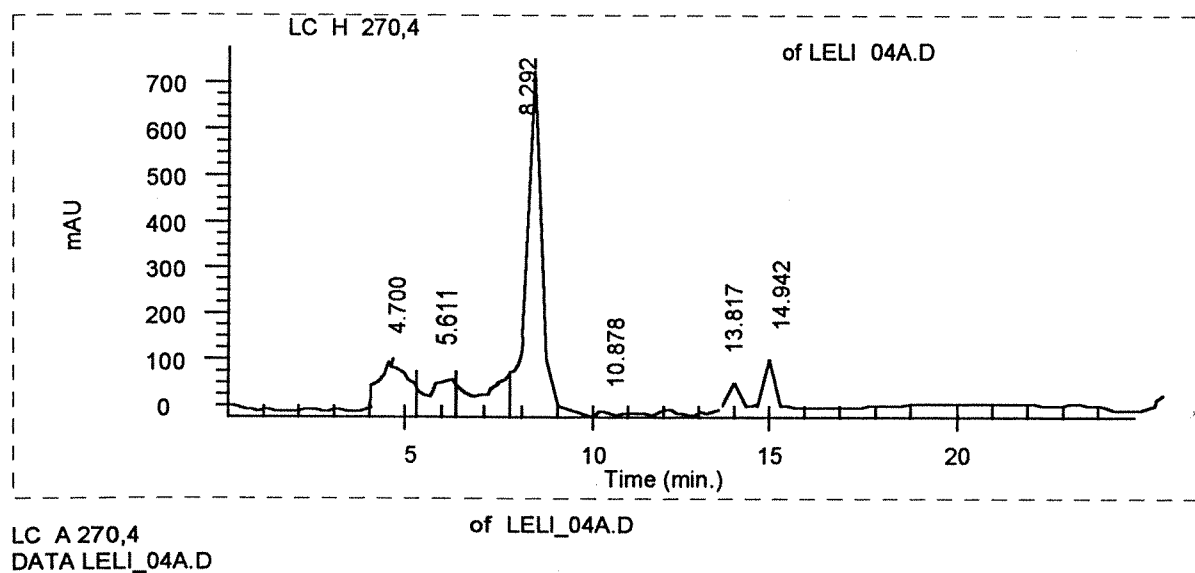
Para cada 100mL de solução, medir 13mL de solução “A” e completar o volume com 87mL da solução “B” e ajustar o pH para 7,6 com H₂SO₄ 1M ou NaOH 1M, se necessário.

ANEXO-4 - a) Curva padrão - fenol p.a. e b) Curva padrão - Cloreto de sódio p.a.



ANEXO-5 - Curva de calibração do CO₂ - FIA

ANEXO-6 - Determinação via CLAE de fenol e guaiacol do Efluente E₁



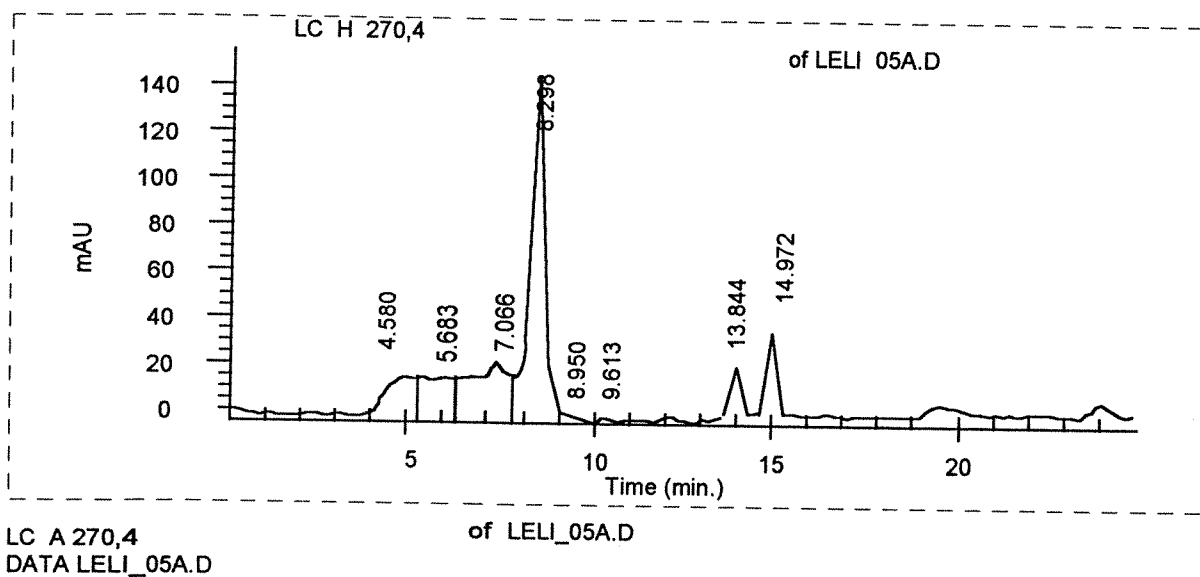
Peak#	Ret Time	Type	Width	Area	Start Time	End Time
1	4.700	VV	0.709	2112	3.845	5.232
2	5.611	VV	1.195	2816	5.232	7.130
3	8.292	VV	0.263	12825	7.130	9.469
4	10.878	VV	0.887	322.96	10.291	12.213
5	13.817	VV	0.321	414.77	12.817	14.364
6	14.942	VB	0.347	722.42	14.364	17.354

EFLUENTE E₁ - Efluente Kraft da 1a. extração alcalina.

Fenol - Tempo de detecção = 13.817 minutos

Guaiacol - Tempo de detecção = 14.492 minutos.

ANEXO-7 - Determinação via CLAE de fenol e guaiacol do Efluente E₂



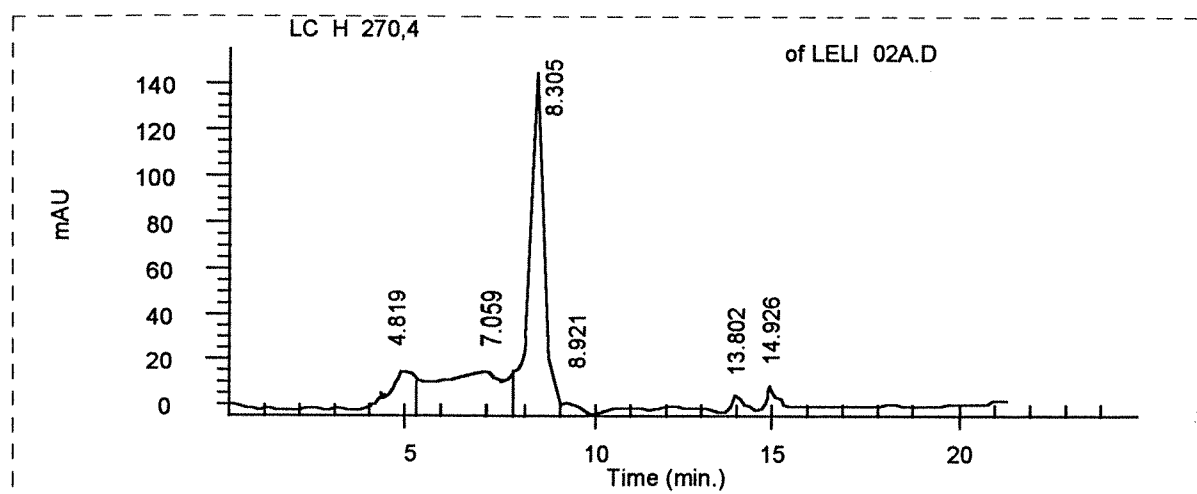
Peak#	Ret Time	Type	Width	Area	Start Time	End Time
1	4.580	BV	0.954	828.89	3.821	5.272
2	5.683	VV	0.808	677.46	5.272	6.255
3	7.066	VV	0.840	1115	6.255	7.592
4	8.298	VV	0.307	3768	7.592	8.796
5	8.950	PV	0.497	95.14	8.796	9.469
6	9.613	VV	0.587	98.94	9.469	10.534
7	13.844	VV	0.339	207.86	12.157	14.383
8	14.972	VV	0.339	323.52	14.383	16.141

EFLUENTE E₂ - Resultante do tratamento do Efluente Kraft E₁ com *Lentinus edodes*

Fenol - Tempo de detecção = 13.844 minutos

Guaiacol - Tempo de detecção = 14.972 minutos.

ANEXO-8 - Determinação via CLAE de fenol e guaiacol do Efluente E₃



LC A 270,4
DATA LELI_02A.D

of LELI_02A.D

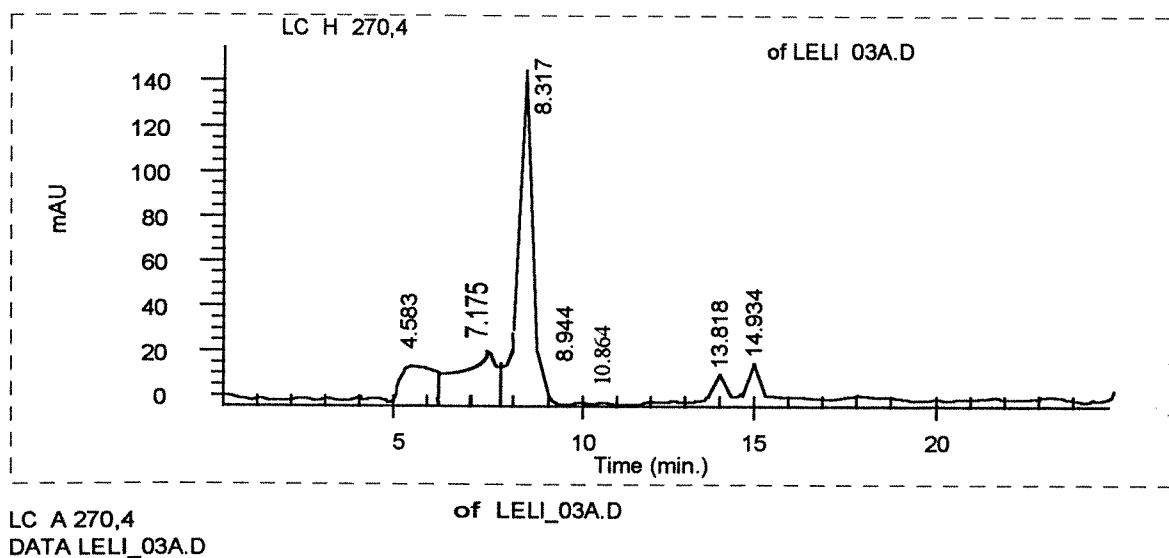
Peak#	Ret Time	Type	Width	Area	Start Time	End Time
1	4.819	PV	0.826	708.35	3.832	5.314
2	7.059	VV	1.365	1641	5.314	7.581
3	8.305	VV	0.292	4552	7.561	8.784
4	8.921	VB	0.736	137.03	8.784	11.382
5	13.802	PV	0.296	131.12	12.818	14.333
6	14.926	VB	0.327	287.87	14.333	16.251

EFLUENTE FINAL E₃ - Efluente tratado convencionalmente pela indústria

Fenol - Tempo de detecção = 13.802 minutos

Guaiacol - Tempo de detecção = 14.926 minutos.

ANEXO-98 - Determinação via CLAE de fenol e guaiacol do Efluente E₄



Peak#	Ret Time	Type	Width	Area	Start Time	End Time
1	4.583	PV	1.115	942.95	3.866	5.529
2	7.175	VV	0.940	1880	5.529	7.569
3	8.317	VV	0.329	4356	7.569	8.775
4	8.944	PV	0.742	216.92	8.775	10.398
5	13.864	VV	1.258	177.41	10.398	13.097
6	13.810	VV	0.352	110.28	13.097	14.351
7	14.934	VV	0.353	162.76	14.351	16.122

EFLUENTE E₄ - Efluente resultante do tratamento do efluente E₃ com *Lentinus edodes*

Fenol - Tempo de detecção = 13.810 minutos

Guaiacol - Tempo de detecção = 14.934 minutos.

ANEXO-10 - Glossário

Escuma - É uma dispersão na qual o ar ou outro gás forma a fase dispersa e um líquido a fase contínua.

Filtro Biológico - Leito de areia, cascalho, pedra britada ou outro meio, pelo qual a água residuária sofre filtração biológica.

Flotação - Processo de elevação das partículas suspensa para a superfície do líquido, na forma de espuma, por meio de aeração, insuflação de gás, aplicação de produtos químicos, eletrólise, calor ou decomposição bacteriana e a remoção subsequente da espuma.

Gradeamento - Remoção de sólidos relativamente grosseiros em suspensão ou flutuação, retidos por meio de grades ou telas.

Heterótrofos - Organismos que necessitam de compostos orgânicos, no meio em que vivem, para sua nutrição.

Lodo Ativado - Floco de lodo produzido em água residuária bruta ou sedimentária, formado pelo crescimento de bactéria do tipo zooglea e outros organismos. Na presença de oxigênio dissolvido o lodo é mantido em concentração suficiente, pela circulação de flocos previamente formados.

Lodo Bruto - Lodo depositado e removido dos tanques de sedimentação antes que a decomposição esteja avançada. É também chamado de Lodo não Digerido.

Precipitação Química - Precipitação induzida pela adição de reagentes químicos.

Sólidos em Suspensão - Sólidos **que** não sedimentam em água parada, água residuária ou outros líquidos, num período razoável de tempo. Este período costuma ser arbitrado em 2 horas.

Substâncias Coloidais - Partícula **finamente** divididas, com propriedades físico-químicas específicas, que não depositam, **mas** que podem ser removidas por ação bioquímica, ou filtração através de membrana.

Tempo de Detenção - Tempo **teórico** da água residuária no sistema de tratamento. (Volume do tanque dividido pela vazão).

Tempo de Retenção - Tempo **médio** entre duas operações de descarga de material retido em um processo de tratamento; **não inclui** tempo de digestão, de sedimentação ou de aeração. Trata-se de um tempo médio de **acumulação**.

Tratamento Preliminar - Operações **Unitárias**, tais como: remoção de sólidos grosseiros, de gordura, areia. Preparam o efluente **para** o tratamento subsequente.

Tratamento Primário - Operações **Unitárias**, com vistas principalmente a remoção e estabilização de sólidos em suspensão, tais como sedimentação, digestão do lodo, remoção da unidade do lodo.

Tratamento Secundário - Operações **Unitárias** de tratamento que visa, principalmente, a redução da carga orgânica dissolvida, geralmente por processos biológicos de tratamento.

Tratamento Terciário - Operações Unitárias que se desenvolvem após o tratamento secundário, visando o aprimoramento da qualidade do efluente.

Toxidez Inibidora - Qualquer ação inibidora de uma substância no metabolismo geral dos organismos vivos, que prejudiquem o seu desenvolvimento e reprodução normais.

Vasa - O mesmo que lodo.

Zoogleia - Substância gelatinosa desenvolvida por bactérias. Constitui uma grande parte dos flocos do lodo ativado e do filtro biológico.
