

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

Teresa Cristina Brazil de Paiva

CARACTERIZAÇÃO E TRATAMENTO DE EFLUENTE DE

BRANQUEAMENTO TCF DE INDÚSTRIA DE PAPEL E

CELULOSE

Orientador: Prof. Dr. Nelson Eduardo Durán Caballero

1999

UNIDADE	I. G.
N.º CHAMADA:	T/UNICAMP
	P166c
V.	Ex.
TOMBO BC/	39811
PROC.	229199
C	☐
D	☒
PREÇO	2511,00
DATA	27-12-99
W.º CPD	

CM-00130638-1

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP**

P166c Paiva, Teresa Cristina Brazil de
Caracterização e tratamento de efluente de branqueamento TCF
de indústria de papel e celulose / Teresa Cristina Brazil de Paiva. - -
Campinas. SP: [s.n.], 1999.

Orientador: Nelson Eduardo Durán Caballero.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Instituto
de Química.

1. Remediação. 2. EOP. 3. Toxicidade. I. Durán Caballero,
Nelson Eduardo. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto
de Química. III. Título.

À Flávio, Mariana e Carolina

Todo o meu amor

Aos meus pais, pelo carinho e incentivo durante toda a minha vida

Meu muito obrigada

À memória de uma eterna amiga, vovó Mariinha

Saudades

AGRADECIMENTOS

À Deus, presença constante em minha vida.

Ao Prof. Dr. Nelson Durán pela orientação da tese, incentivo e amizade.

Aos Profs. Drs. André Ferraz e Flávio Teixeira da Silva pela amizade, dedicação, paciência, incentivo e valiosas discussões no decorrer deste trabalho.

Aos Profs. Drs. André Cotrim, Adilson Gonçalves e Patrício Zamora; a Dra. Valéria Reginatto; ao Prof. Ângelo Capri e ao Ailton Kunz, Anderson Guerra e Sandra Moraes, pela ajuda nas análises de laboratório e colaboração durante a realização deste trabalho.

Ao Chico Adão, a Jussara e a Lucinha pelo auxílio técnico.

Aos companheiros do laboratório de Química Biológica (IQ-UNICAMP), e dos laboratórios de Bioreatores e Química de Lignina (DEBIQ-FAENQUIL) pelo carinho e bons momentos de descontração.

Ao Instituto de Química da UNICAMP pelas facilidades no uso de sua infraestrutura.

Ao Laboratório de Recursos Renováveis da Universidade de Concepción - Chile, pela realização das análises de DBO, DQO e "microtox".

À CAPES-PICD pela bolsa concedida.

Aos amigos.

CURRICULUM VITAE

Teresa Cristina Brazil de Paiva

FORMAÇÃO:

Nível de Pós-graduação

1995/1999

- Doutoranda em ciências

Área de concentração: "Química Orgânica

Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP.

1991/1994

- Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica

Área de concentração: "Tecnologia das Fermentações"

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo-USP.

Nível Superior

1977/1983

- Formada em Engenharia de Alimentos na Universidade Federal da Paraíba-UFPB.

ATIVIDADES PROFISSIONAIS ATUAIS

Atividades de Pesquisa

1989/

Pesquisadora do Departamento de Biotecnologia-DEBIQ da Faculdade de Engenharia Química de Lorena-FAENQUIL.

Linhas de Pesquisa: - Desenvolvimento de Processos Fermentativos;
- Caracterização e Tratamento de Efluentes Industriais.

Atividades Didáticas

Cursos Ministrados

1999/

- Disciplina: **Ciências do Ambiente** do Curso de Engenharia Química Industrial.
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA DE LORENA-FAENQUIL.

1997/1999

- Disciplina: **Tratamento Biológico de Resíduos** do Curso de Engenharia Química Industrial.

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA DE LORENA-FAENQUIL.

1996/1997

- Disciplina: **Biologia e Programa de saúde** do Colégio Técnico de Lorena-COTEL.
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA DE LORENA-FAENQUIL.

1996

- Disciplina: **Química Industrial Tecnológica (Processos da indústria papelreira)** do Curso de Engenharia Química Industrial.

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA DE LORENA-FAENQUIL.

1993/1995

- Disciplina: **Tecnologia de Fermentações** do Curso de Engenharia Química Industrial.
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA DE LORENA-FAENQUIL.

Orientação de Alunos

1998/

-Mônica C. Borlini. Projeto: Tratamento Biológico de Efluentes: Utilização de um Bioreator.
4º ano do curso de Engenharia Química-FAENQUIL.

ago. 1996/ dez. 1996

-Gabriel P. Silva. Projeto: Adaptação de Métodos Colorimétricos para Medir Peróxido de Hidrogênio em Efluentes de Branqueamento TCF de Polpas Kraft.

4º ano do curso de Engenharia Química Industrial-FAENQUIL.

ago. 1995/dez. 1996

-Rosângela S. Silva. Projeto: Estudo da Biodegradação de Peróxido de Hidrogênio em Efluentes Kraft TCF.

4º ano do curso de Engenharia Química Industrial-FAENQUIL.

PUBLICAÇÕES

Revista Internacional

OLIVEIRA, S.C.; PAIVA, T.C.B.; VISCONTI, A.E.S.; GIUDICI, R. (1999). Continuous Alcoholic Fermentation Process Model Considering Loss of Cell Viability. Bioprocess Engineering, 20: 157-160

OLIVEIRA, S.C.; PAIVA, T.C.B.; VISCONTI, A.E.S.; GIUDICI, R. (1998). Discrimination Between Ethanol Inhibition Models in a Continuous Alcoholic Fermentation Process Using Flocculating Yeast. Applied Biochemistry and Biotechnology, 74: 161-172.

PAIVA, T.C.B.; SATO, S.; VISCONTI, A.E.S.; CASTRO, L..A.B. (1996). Continuous Alcoholic Fermentation Process in a Tower Reactor With Recycling of Flocculating Yeast. Applied Biochemistry and Biotechnology, 57/58: 535-541.

CASTRO, F.B. ; PAIVA, T.C.B. ; ARCANO Jr., I. (1995). Substitution of Sugar Cane with Steam treated Eucalyptus grandis: Effects on Intake and Growth Rate of Dairy Heifers. Animal Feed Science and Technology, 52: 93-100.

Trabalhos Apresentados em congressos e Simpósios

PAIVA, T.C.B.; FERRAZ, A.; SILVA, F.T. AND DURÁN, N. Toxicity and Chemical Characterization of a TCF Hardwood Effluent. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BIOTECHNOLOGY IN THE PULP AND PAPER INDUSTRY, 7 Vancouver-Canada, 16-19 june, 1998. Program and Abstract.

PAIVA, T.C.B.; FERRAZ, A.; DURÁN, N. Biotreatment of a Pulp Mill EOP Bleachery Effluent with The Fungus *Penicillium janthinellum* and *Lentinus edodes*. In: BRAZILIAN SYMPOSIUM ON THE CHEMISTRY OF LIGNINS AND OTHER WOOD COMPONENTS, 5 Curitiba-PR, 31 ago.-04 set., 1997. Program and Abstract.

OLIVEIRA, S.C.; GIUDICI, R.; PEREIRA, F.M.; PAIVA, T.C.B.; VISCONTI, A.E.S. Discrimination Between Inhibition Product Models in a Continuous Alcoholic Fermentation Process Using Flocculating Yeast. In: SYMPOSIUM ON BIOTECHNOLOGY FOR FUELS AND CHEMICALS, 19 Colorado Springs-Colorado, 04-08 may, 1997. Program and Abstracts.

OLIVEIRA, S.C.; PEREIRA, F.M.; PAIVA, T.C.B.; VISCONTI, A.E.S.; CASTRO, L.A.B. Discriminação entre Modelos de Inibição pelo Produto num Processo Contínuo de Fermentação Alcoólica Utilizando Leveduras Floculantes. In: SEMINÁRIO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSAS, 5, Maringá-PR, 09-13 de dezembro, 1996.

SILVA, R.S.; PAIVA, T.C.B.; MACHUCA, A.; DURÁN, N. Estudo da Biodegradação de Peróxido de Hidrogênio em Efluentes Kraft TCF. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA EM ENGENHARIA, 15, São Carlos-SP, 10-12 de dezembro, 1996.

SILVA, G.P.; PAIVA, T.C.B.; MACHUCA, A.; DURÁN, N. Adaptação de Métodos Colorimétricos para Medir Peróxido de Hidrogênio em Efluentes de Branqueamento TCF de Polpas Kraft. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA EM ENGENHARIA, 15, São Carlos-SP, 10-12 de dezembro, 1996.

VISCONTI, A.E.S.; OLIVEIRA, S.C.; PAIVA, T.C.B.; COSTA, J.E.S.; ASSIS, A.N. Estudos sobre a Utilização de Meios Mistos Sacarinos na Fermentação Alcoólica Contínua. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 18, Santos-SP, 02-05 de setembro, 1995. Programa e Resumos. São Paulo, Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1995. p.217.

PAIVA, T.C.B.; SATO, S.; VISCONTI, A.E.S.; CASTRO, L.A.B. Continuous Alcoholic Fermentation Process in a Tower Reactor With Recycling of Flocculating Yeast. In: SYMPOSIUM ON BIOTECHNOLOGY FOR FUELS AND CHEMICALS, 17 Vail-Colorado, 07-11 may, 1995. Program and Abstracts.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

1998

- SIMPÓSIO SOBRE TRATAMENTO DE EFLUENTES, Rio de Janeiro-RJ.

1997

- 5th BRAZILIAN SYMPOSIUM ON THE CHEMISTRY OF LIGNINS AND OTHER WOOD COMPONENTS, Curitiba-PR.

- 3º MINISIMPÓSIO DE NOVAS TECNOLOGIAS EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA DE MATERIAIS RENOVÁVEIS. UNICAMP, Campinas-SP.

1996

- I REUNIÃO NACIONAL DE MICROBIOLOGIA APLICADA AO MEIO AMBIENTE.
UNICAMP, Campinas-SP.

CURSO EXTRACURRICULAR

1997

- Curso de Tratamento Biológico de Resíduos, Departamento de Engenharia Química-UFSC, Florianópolis-SC.

ÍNDICE

Lista de figuras	vii
Lista de tabelas	ix
Abreviações	xi
Resumo	xiii
Abstract	xiv
1 – Introdução	1
1.1 - Aspectos gerais	1
1.2 – Toxicidade de efluentes de branqueamento derivados da indústria de papel e celulose	4
1.3 – Tratamento de efluentes derivados da indústria de papel e celulose	6
1.3.1 – Métodos biológicos	6
1.3.2 – Métodos químicos	9
1.3.2.1 – Ozonização	10
1.3.2.2 – Fotocatálise	11
1.3.3 – Tratamento combinado: Métodos químicos e biológicos	14
1.4 – Considerações finais	15
2 – Objetivos	16
3 – Materiais e Métodos	17
3.1 – Efluente	17
3.2 – Caracterização do efluente	17
3.2.1 – Determinação de cor	17
3.2.2 – Determinação de carbono orgânico total	18
3.2.3 – Determinação da demanda química e bioquímica de oxigênio	18
3.2.4 – Determinação de peróxido de hidrogênio	19
3.2.5 – Determinação de fenóis totais	20

3.2.6 – Determinação de sólidos totais	20
3.2.7 – Determinação do teor de cinzas da massa de sólidos totais do efluente	21
3.2.8 – Determinação de carboidratos e compostos insolúveis em meio ácido, determinados como lignina klason	21
3.2.9 – Determinação de compostos solúveis em meio ácido, determinados como lignina klason solúvel	22
3.2.10 – Determinação de carboidratos e ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência	23
3.2.11 – Determinação da distribuição de massa molar	23
3.2.12 – Métodos espectroscópicos	24
3.2.12.1 - Espectros de U.V. / visível	24
3.2.12.2 - Espectros de infravermelho	24
3.2.12.3 - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM)	25
3.2.12.4 - Espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (IPC/AES)	26
3.2.13 – Determinação de proteína total	27
3.2.14 – Determinação da atividade enzimática	27
3.2.15 – Ensaio de toxicidade	28
3.2.15.1 - Determinação da toxicidade crônica com <i>Ceriodaphnia dubia</i>	28
3.2.15.2 - Determinação da toxicidade crônica com <i>Scenedesmus subspicatus</i>	29
3.2.15.3 - Determinação da toxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i>	31
3.2.15.4 - Determinação da toxicidade aguda com <i>Escherichia coli</i>	31
3.2.15.5 - Determinação da toxicidade aguda com <i>Photobacterium phosphoreum</i>	32
3.3 – Tratamento do efluente	33
3.3.1 - Tratamento biológico	33
3.3.1.1 – Microrganismos	33
3.3.1.2 - Preparo do inóculo	33
3.3.1.3 – Biotratamento	34
3.3.2 – Tratamento fotocatalítico	35
3.3.3 - Tratamento com ozônio	36
3.3.3.1 - Geração e medida de ozônio	36

3.3.3.2 – Ozonização	36
4 – Resultados e Discussão	38
4.1 – Caracterização do efluente	38
4.1.1 – Toxicidade	39
4.1.2 – Características químicas do efluente	44
4.1.3 – Conclusões parciais sobre a caracterização toxicológica e química do efluente	52
4.2 – Tratamento do efluente	52
4.2.1 – Tratamento químico	52
4.2.1.1 – Fotocatálise	52
4.2.1.2 – Ozônio	54
4.2.2 – Tratamentos biológicos	54
4.2.3 – Tratamento combinado	59
4.2.4 - Caracterização do efluente após tratamento biológico	60
4.2.5 - Conclusões parciais	62
5 - Conclusões Gerais	63
6 - Perspectivas Futuras	64
7 - Referências Bibliográficas	65
Apêndice	

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Fórmula estrutural do PCDD e do PCDF (Rebolledo, 1989)	3
FIGURA 2 - Típicos compostos clorofenólicos encontrados em efluentes de branqueamento (Rintala e Puhakka, 1994)	5
FIGURA 3 - Mecanismo de ação de Lignina Peroxidase	8
FIGURA 4 - Mecanismo de ação de Manganês Peroxidase	8
FIGURA 5 - Representação esquemática da partícula de um semicondutor, onde D: substrato orgânico; D ⁻ : espécie reduzida; hv: radiação externa (UV)	12
FIGURA 6 - Diagrama esquemático do sistema de ozonização (Kuns, 1999)	37
FIGURA 7 - Produção de CO ₂ (respiração) nas culturas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 contaminadas com amostras de efluente EOP em concentrações de 3, 6 e 10%	40
FIGURA 8 - Inibição da respiração nas culturas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, após 120 minutos de incubação em meio contaminado com efluente EOP em diferentes concentrações	41
FIGURA 9 - Inibição do crescimento da alga <i>S. subspicatus</i> (cepa número 8681 SAG) incubada em meio contaminado com efluente EOP em diferentes concentrações	42
FIGURA 10 - Cromatograma de íons reconstituídos (TIC) da fração do efluente EOP original extraída com acetato de etila, evaporada a pressão reduzida e derivatizada com BSTFA	48

- FIGURA 11** -CPG do efluente EOP original de polpa Kraft de *Eucalyptus urograndis* 51
- FIGURA 12** -Espectro FTIR da fração sólida (adsorvida em C18) do efluente EOP de polpa Kraft de *Eucalyptus urograndis* 51
- FIGURA 13** -CPG dos efluentes EOP original e tratado de polpa kraft de *Eucalyptus urograndis*. (–) não tratado; (–) tratado com *L. edodes* (5 dias) 58
- FIGURA 14** -CPG dos efluentes EOP original e tratado de polpa kraft de *Eucalyptus urograndis*. (–) não tratado; (—) tratado com *P. janthinellum* (7 dias) 58
- FIGURA 15** -Cromatograma de íons reconstituídos (TIC) da fração do efluente EOP tratado biologicamente, extraída com acetato de etila, evaporada a pressão reduzida e derivatizada com BSTFA 61

LISTA DE TABELAS

TABELA I - Proteínas utilizadas na calibração da coluna cromatográfica e suas respectivas massa molares	24
TABELA II Esquema para a realização do ensaio de toxicidade com a alga <i>S. subspicatus</i>	30
TABELA III -Porcentagem de organismos (<i>Daphnia similis</i>) imóveis em função da exposição por 48 horas, a diferentes concentrações do efluente	39
TABELA IV -Reprodução da <i>Ceriodaphnia dubia</i>, após 7dias de exposição a diferentes concentrações do efluente	42
TABELA V - Características químicas de efluentes TCF não tratado	45
TABELA VI -Composição química do efluente, após hidrólise ácida dos sólidos totais	46
TABELA VII -Concentração de material inorgânico no efluente EOP original	46
TABELA VIII -Identificação dos compostos presentes no efluente EOP original	49
TABELA IX - Tratamento fotocatalítico de efluente EOP original com catalisador TiO₂, durante um período de 10 horas	53
TABELA X - Tratamento de efluente EOP original com ozônio, durante um período de 20 minutos	54

TABELA XI -Características químicas do efluente antes e após tratamento biológico por <i>Lentinus edodes</i> (5 dias) e <i>Penicillium janthinellum</i> (7 dias)	55
TABELA XII -Atividade enzimática em efluente tratado com <i>Lentinus edodes</i> e <i>Penicillium janthinellum</i> após 5 e 7 dias, respectivamente	56
TABELA XIII -Tratamento combinado, fotocatalítico (catalisador TiO_2) com o efluente EOP biotratado (fungo <i>L. edodes</i>), durante um período de 10 horas	60
TABELA XIV - Identificação dos compostos do efluente EOP, formados após tratamento biológico	62

ABREVIações

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AOX	halogênios orgânicos adsorvíveis
APHA	American Public Health Association
BSTFA	N, O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida
CEH	estágio cloração, extração alcalina, hipoclorito
CENO	concentração de efeito não observado
CE50	concentração que inibe em 50 % o parâmetro subletal observado
CG/EM	cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
COT	carbono orgânico total
CPG	cromatografia de permeação em gel
DBO	demanda bioquímica de oxigênio
D(EO)DD	estágio dióxido de cloro, extração alcalina-oxigênio, dióxido de cloro, dióxido de cloro
DQO	demanda química de oxigênio
DTPA	ácido dietilenetriaminopentacético
ECF	livre de cloro elementar
EDTA	ácido etilenodiaminotetracético
EPN	estágio extração alcalina, peróxido de hidrogênio, nitrilamina
EOP	estágio extração alcalina, oxigênio, peróxido de hidrogênio
FIA	análise por injeção em fluxo
FTIR	infravermelho por transformada de Fourier
HDEH	estágio hipoclorito, dióxido de cloro, extração alcalina, hipoclorito
ISO	International Standard Organization
OQP	estágio oxigênio, quelante, peróxido de hidrogênio
OZEP	estágio oxigênio, ozônio, extração alcalina, peróxido de hidrogênio

(PA)P	estágio ácido peracético, peróxido de hidrogênio
TCF	totalmente livre de cloro
TIC	cromatograma de íons reconstituídos
TMS	trimetilsilil
UC	unidade de cor
XQ	estágio enzima, quelante
Z(PO)	ozônio, peróxido de hidrogênio-oxigênio

CARACTERIZAÇÃO E TRATAMENTO DE EFLUENTE DE BRANQUEAMENTO TCF DE INDÚSTRIA DE PAPEL E CELULOSE

Autora: Teresa Cristina Brazil de Paiva

Orientador: Prof. Dr. Nelson Eduardo Durán Caballero

Laboratório de Química Biológica, Instituto de Química

Universidade estadual de Campinas

RESUMO

Estudou-se a caracterização e o tratamento de um efluente TCF (totalmente livre de cloro) gerado a partir de um estágio de branqueamento EOP (extração alcalina-oxigênio-peróxido de hidrogênio), de uma indústria papeteira que usa o processo kraft-oxigênio de polpação. Inicialmente, o efluente foi analisado quanto à sua toxicidade usando quatro ensaios com organismos distintos: os microcrustáceos *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*, a bactéria *Escherichia coli* e a alga *Scenedesmus subspicatus*. Verificou-se, através de todos os testes aplicados, que o efluente apresentava elevada toxicidade. Em função desses resultados, o efluente foi caracterizado quanto à sua composição química, distribuição de massa molar e por métodos espectroscópicos. O efluente original apresentou 60,6 unidades de cor, 624 mg.L⁻¹ de DQO, 208 mg.L⁻¹ de DBO, 300 mg.L⁻¹ de COT e 30 mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio. O teor de sólidos totais no efluente foi de 1,25 g.L⁻¹, sendo que desse total 63 % correspondia a cinzas. Após hidrólise ácida dos sólidos, foram detectados 0,86 % de glicose, 0,6 % de arabinose, 2,5 % de celobiose, 4,5 % de xilose, 0,5 % de ácido acético e 2,9 % e 0,3 % de compostos detectados como derivados de lignina solúveis e insolúveis em ácido, respectivamente. A análise por cromatografia de permeação em gel mostrou que os compostos presentes no efluente possuíam uma fração de massa molar alta (menos que 10 %), estimada em 64 kDa e uma fração de massa molar baixa, correspondendo a uma faixa de 2600 a 400 Da. A fração do efluente adsorvida em C18 (39,4 %) foi caracterizada por FTIR indicando bandas em 3418 cm⁻¹, 2924 cm⁻¹, 1607 cm⁻¹ e 1094-1044 cm⁻¹, atribuídas a absorção dos grupos O-H, C-H, C=C e C-O, respectivamente. Dados de CG/EM revelaram a presença de alguns compostos derivados da oxidação de açúcares presentes no efluente.

Tendo em vista os resultados obtidos por essa caracterização, o efluente foi tratado utilizando processos biológicos, com fungos (*Penicillium janthinellum* e *Lentinus edodes*), processos químicos usando fotocatalise e ozônio, e combinando-se posteriormente os dois processos. Os melhores resultados foram obtidos dos tratamentos biológicos, nos quais observou-se que ocorreu degradação das frações de alta e baixa massa molar do efluente. A caracterização dessas frações por CG/EM mostraram a presença de alguns compostos recalcitrantes à atividade microbiana.

CHARACTERIZATION AND TREATMENT OF TCF BLEACHING EFFLUENT FOR CELLULOSE AND PAPER INDUSTRY

Author: Teresa Cristina Brazil de Paiva
Supervisor: Prof. Dr. Nelson Eduardo Durán Caballero
Laboratório de Química Biológica, Instituto de Química
Universidade Estadual de Campinas

Abstract

This study deals with the characterization and treatment of a TCF effluent produced during a EOP (hydrogen peroxide-oxygen-alkaline extraction) bleaching stage by a paper industry that employs the kraft-oxygen pulping process. To verify the effluent toxicity, analyses were carried out using four different organisms: the microcrustaceans *Daphnia similis* and *Ceriodaphnia dubia*, the bacterium *Escherichia coli* and the algae *Scenedesmus subspicatus*. All the test showed that the effluent was highly toxic. Spectroscopic methods were then used to characterize the effluent with respect to chemical composition and molar weight. The original effluent had 60.6 color units, 624 mg.L⁻¹ of COD, 208 mg.L⁻¹ of BOD, 300 mg.L⁻¹ of TOC and 30 mg.L⁻¹ of hydrogen peroxide. The content of total solids in the effluent was 1.25 g.L⁻¹, 63 % of which consisted of inorganic compounds, and 2.9 % and 0.3 % of organic compounds soluble and indoluble in acid, respectively. After acid hydrolysis of the solids, 0.86 % glucose, 0.6 % arabinose, 2.5 % cellobiose, 4.5 % xylose and 0.5 % acetic acid were detected. Gel permeation chromatographic analysis revealed that the compounds found in the effluent had a fraction of high molar weight (less than 10 %) estimated at 64 KDa, and a fraction of low molar weight, corresponding a range between 2,600 and 400 Da. The effluent fraction that was absorbed in C18 (39.4 %) was characterized by FTIR indicating bands at 3418 cm⁻¹, 2924 cm⁻¹, 1607 cm⁻¹ and 1094-1044 cm⁻¹, attributed to the absorption of the groups O-H, C-H, C=C and C-O, respectively. GC/MS data revealed the presence of some compounds derived from oxidation of the sugars present in the effluent.

In view of the results achieved through this characterization, the effluent was treated by biological processes with fungi (*Penicillium janthinellum* and *Lentinus edodes*), by chemical processes using photocatalysis and ozone, and later by the two types of processes in combination. The biological treatment gave the best results, degradation occurring in both low and high molar weight fractions of the effluent. The characterization of these fractions by GC/MS indicated the presence of some recalcitrant compounds of microbial activity.

1. INTRODUÇÃO

1.1. ASPECTOS GERAIS

As águas residuais, principalmente as industriais que contêm compostos orgânicos e metais pesados, quando lançadas no meio ambiente, sem tratamento adequado, provocam profundos danos tanto à vida aquática como ao homem.

O impacto da descarga dessas substâncias no corpo receptor, como rios e lagos, tem sido muito forte. Uma consequência imediata e bastante visível é a ocorrência de peixes mortos cada vez mais freqüente nas águas de superfície. Além disso, efeitos subsequentes como bioacumulação ou penetração na cadeia alimentar dos sistemas aquáticos também são detectáveis, causando disfunção do sistema endócrino reprodutor dos seres que vivem nesse meio, o que influencia a propagação das espécies (Bertoletti, 1989).

Suspeita-se que muitos destes compostos tóxicos sejam potentes agentes carcinogênicos (Bertoletti, 1990). Além disso, como as águas residuais normalmente contêm na sua composição mais de um composto orgânico, deve-se levar em consideração o efeito sinérgico desses compostos (Vanegas *et al.*, 1997; Bervoets *et al.*, 1996).

Outro aspecto relevante relativo a toxicidade do meio aquático é a concentração de matéria orgânica encontrada nos efluentes que também pode interagir com metais ou compostos orgânicos e influenciar na toxicidade desses agentes (Kopinke *et al.*, 1995).

Embora exista uma preocupação global por evitar a poluição ambiental, estas contaminações continuam acontecendo, principalmente porque grande parte dos processos produtivos são intrinsecamente poluentes.

A indústria de papel e celulose é uma das que mais contribui ao processo de contaminação ambiental através de seus resíduos gerados, principalmente, durante os processos de polpação de madeira e branqueamento de polpa. Nos processos de branqueamento de polpa kraft, normalmente realizados com cloro, são produzidos efluentes que se caracterizam por cor intensa e alta carga de matéria orgânica, que contém um grande número de compostos organoclorados, muitos dos quais são considerados altamente tóxicos. Entre estes destacam-se as dioxinas (compostos policlorados dibenzodioxinas-PCDD) e os furanos (compostos policlorados dibenzofuranos-PCDF) (figura 1). Estes compostos apesar de detectados a níveis de traços nos efluentes de branqueamento, tem demonstrado que são bioacumulativos e genotóxicos (Zini, 1993; Mounteer *et al.*, 1992). Cada uma dessas estruturas mostradas na figura 1 representa um conjunto de substâncias que podem ter de um a oito átomos de cloro ligados aos anéis aromáticos, possibilitando a origem de uma série de isômeros com diferentes graus de toxicidade.

Devido ao impacto ambiental causado pelos organoclorados, uma série de modificações no processo de branqueamento de polpa têm sido propostas na literatura (Ferraz *et al.*, 1998; Nelson, 1998; Reid, 1998), visando reduzir ou eliminar a sua presença nos efluentes, de forma a torná-los menos tóxicos.

Neste contexto, os processos de branqueamento livre de cloro total (TCF), recentemente introduzidos em escala operacional em algumas indústrias kraft, vem reduzindo a carga de poluentes clorados nos efluentes. O uso de novas seqüências de branqueamento, incluindo oxigênio, peróxido de hidrogênio, ozônio e enzimas, tem sido largamente aplicadas desde 1990 em resposta a demanda de mercado para polpas branqueadas sem o uso de cloro. Como resultado dessa tendência atual, a produção de polpa TCF passou para 5,1 milhões de toneladas (6,8% da produção de polpa total) em 1996. Desse total, 65% foram produzidos na Scandinávia (Ristolainen e Alén, 1997). Apesar da substituição dos agentes de branqueamento a base de cloro, estudos recentes mostraram que os efluentes TCF também apresentam um grande impacto ambiental (Stauber *et al.*, 1996;

Ahtiainen *et al.*, 1996; Verta *et al.*, 1996; Folke *et al.*, 1996; Cates *et al.*, 1995; Peck e Dalley, 1994; O'Connor *et al.*, 1993b). O branqueamento com ozônio e peróxido de hidrogênio pode produzir outros compostos tóxicos, como aldeídos alifáticos, cetonas, ácidos graxos e carboxílicos, além de peróxido residual e radicais livres.

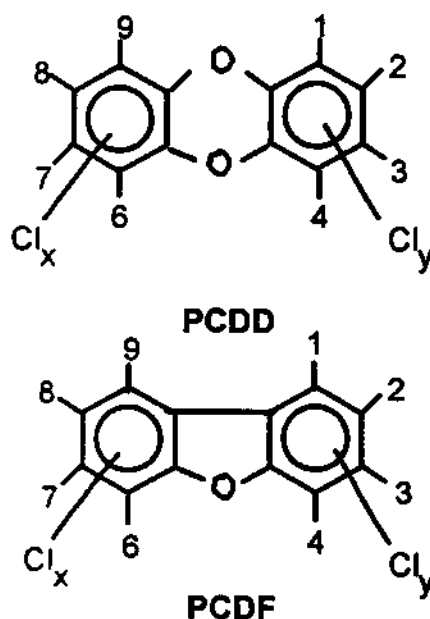


Figura 1. Fórmula estrutural do PCDD e do PCDF (Rebolledo, 1989)

Pelos motivos acima mencionados, o tratamento e a caracterização de efluentes de branqueamento TCF de polpas Kraft de madeiras moles e duras também têm sido estudados. Dentre os novos métodos de tratamento desenvolvidos para o tratamento de efluentes TCF, destaca-se o tratamento biológico, empregando fungos de decomposição branca, tais como *Trametes versicolor* e *Phanerochaete chrysosporium* (Bergbauer e Eggert, 1992, 1994), além de outras espécies como por exemplo, um coelomycete *Stagonospora gigaspora* (Bergbauer *et al.*, 1992). Outro método de tratamento biológico que também tem sido estudado na remediação de efluentes TCF é o lodo ativado utilizando bioreatores (Larisch e Duff, 1997ab; Saunamäki, 1995).

Na caracterização de efluentes TCF, determinações de parâmetros ambientais (Toxicidade, DQO e DBO, COT) e técnicas analíticas mais específicas para determinação dos compostos orgânicos presentes nos efluentes (IV, UV, CG/EM, HPLC etc.) têm sido extensivamente aplicadas (Dethlefs e Stan, 1996ab; Ristolainen *et al.*, 1996; Dethlefs *et al.*, 1995; Dahlman *et al.*, 1995; Mörck *et al.*, 1995).

1.2 - TOXICIDADE DE EFLUENTES DE BRANQUEAMENTO DERIVADOS DA INDÚSTRIA DE PAPEL E CELULOSE

Os compostos organoclorados encontrados em efluentes de branqueamento de polpa kraft têm causado sérios problemas ambientais (O'Connor *et al.*, 1993a; Folke *et al.*, 1996; Morales *et al.*, 1992). Esses compostos de baixa e alta massa molar são provenientes das reações entre a lignina presente nas fibras da polpa e o cloro empregado para o branqueamento da mesma. Os principais compostos de baixa massa molar encontrados nos efluentes de branqueamento são os clorofenóis, e são os que mais contribuem para a toxicidade dos efluentes juntamente com as resinosas ácidas e os ácidos graxos. São três os tipos de fenóis clorados predominantes em efluentes de branqueamento: clorofenóis, clorocatecóis e cloroguaiacóis (Figura 2). Dentre estes compostos, o tetracloroguaicol é o mais tóxico, o que é atribuído ao alto número de átomo de cloro presente em sua molécula (Brunsvik e Kordes, 1991).

Os compostos de alta massa molar, denominados cloroligninas, são responsáveis pela coloração escura dos efluentes, impedindo assim a absorção de luz nos corpos receptores e conseqüente redução da atividade fotossintética. Estes compostos também podem ser lentamente degradados pela ação combinada de fatores físicos, químicos e biológicos gerando compostos de baixa massa molar de conhecida toxicidade tais como os clorofenóis (Reeve e Earl, 1991; Heimbürger *et al.*, 1991).

Geralmente em um processo de branqueamento convencional as polpas são branqueadas em primeira etapa mediante cloração com Cl_2 e ClO_2 . A cloração é geralmente seguida por uma extração alcalina (primeira extração alcalina) em um processo de múltiplas etapas (Fengel e Wegener, 1984). Os efluentes derivados dessa primeira extração alcalina (efluente E1) são efluentes que contém altas concentrações de cloroligninas e clorofenóis. Os clorofenóis predominantes nesse estágio são os cloroguaiacóis, os quais são causadores de grande parte da toxicidade aguda desses efluentes. Estes compostos apresentam também alta resistência à degradação microbiana (Durán e Esposito, 1993).

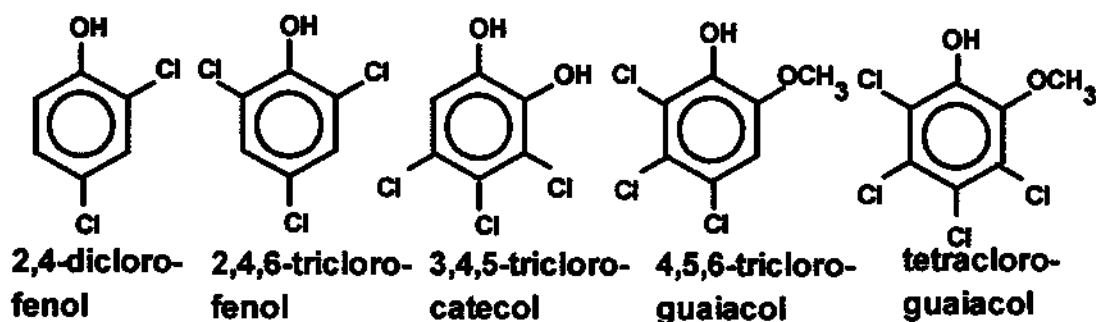


Figura 2. Compostos clorofenólicos típico encontrados em efluentes de branqueamento convencional (Rintala e Puhakka, 1994).

Embora as novas seqüências de branqueamento de polpas livre de cloro elementar e livre de cloro total (ECF e TCF) tenham reduzido ou eliminado a presença de organoclorados nos efluentes, os problemas de toxicidade ainda persistem (Stauber *et al.*, 1996; Ahtiainen *et al.*, 1996; Verta *et al.*, 1996; Folke *et al.*, 1996; Cates *et al.*, 1995; Peck e Daley, 1994; O'Connor *et al.*, 1993b). Bioensaios mostraram que, a toxicidade de efluentes ECF e TCF está relacionada com o conteúdo de material orgânico (DQO), fenóis e ácidos graxos presentes nesses efluentes (Verta *et al.*, 1996). Entretanto, foi mostrado por Stauber *et al.* (1996) que a toxicidade de efluentes TCF está fortemente

relacionada com as concentrações de peróxido de hidrogênio residual, usados nas seqüências de branqueamento, e não com o conteúdo de material orgânico.

Eklund *et al.* (1994) compararam a toxicidade aguda e crônica de efluentes de um processo de branqueamento TCF de madeira dura, com as toxicidades de efluentes ECF e efluentes não branqueados de madeira mole. Os efluentes TCF apresentaram uma menor toxicidade em relação aos outros efluentes testados, para três diferentes bioensaios aplicados (Microtox, Crustáceo *Nitocra spinips* e reprodução em uma alga vermelha marinha). Essas diferenças de toxicidade encontradas nos efluentes ECF e TCF podem não ser atribuídas apenas as diferentes seqüências usadas nos processos de branqueamento, mas a diferentes espécies de madeiras usadas nesses processos (Stauber *et al.*, 1996; Verta *et al.*, 1996).

1.3 - TRATAMENTO DE EFLUENTES DERIVADOS DA INDÚSTRIA DE PAPEL E CELULOSE

1.3.1 - MÉTODOS BIOLÓGICOS

Os efluentes de branqueamento convencional (branqueamento com cloro) são usualmente tratados por oxidação biológica em lagoas aeradas e ou com lodo ativado (população mista de bactérias agregadas sob a forma de flocos biologicamente ativos, além de fungos, leveduras e protozoários). As frações contendo organoclorados de baixa massa molar, principais responsáveis pela alta DBO e toxicidade aguda nos efluentes, são normalmente removidas através dessas técnicas. Entretanto, a maior deficiência dos métodos biológicos é a não degradação dos materiais organoclorados de alta massa molar (Kondo, 1998; Roy-Arcand e Archibald, 1993). As cloroligninas de alta massa molar são resistentes à biodegradação, e por isso podem ser bioacumuladas ou degradadas muito vagarosamente no meio ambiente, resultando posteriormente na formação de intermediários tóxicos de baixa massa molar.

O uso de fungos capazes de degradar ligninas parece ser um método extremamente promissor para o tratamento destes efluentes. Em particular, os fungos de decomposição branca que possuem um sistema enzimático extracelular capaz de tolerar altas concentrações de poluentes tóxicos (Barr e Aust, 1994). Enzimas como lignina peroxidase (LiP) e manganês peroxidase (MnP) são produzidas por estes fungos (não suplementados com nutrientes), e há evidências de que as mesmas são responsáveis pela fragmentação inicial da lignina. O mecanismo de ação da LiP está representado na figura 3. Esta enzima, após sofrer oxidação por peróxido de hidrogênio, oxida núcleos aromáticos na lignina por extração de um elétron, gerando radicais cátions. Estes reagem com nucleófilos e com oxigênio molecular causando a clivagem das ligações C-C e C-O e conseqüentemente a despolimerização do polímero e a abertura dos anéis aromáticos. O álcool veratrílico, um metabólito excretado no final da fase primária de crescimento e na fase estacionária (metabólito secundário), é um excelente substrato para LiP e aparentemente atua como um doador de elétrons, oxidando radicais cátions, os quais podem oxidar outros compostos químicos que não são diretamente oxidados por LiP (Durán e Esposito, 1997).

A enzima MnP tipicamente oxida Mn^{2+} a Mn^{3+} . O Mn^{3+} é usado para oxidar compostos químicos que, aparentemente, pode oxidar hidroquinonas a radicais semiquinonas, as quais podem atuar como agentes redutores (Barr e Aust, 1994). O mecanismo de ação da enzima MnP está representado na figura 4.

Nas culturas de *Lentinus edodes*, fungo atualmente selecionado para o tratamento de efluentes, a principal peroxidase extracelular detectada foi MnP (Forrester *et al.*, 1990). A biodegradação de organoclorados, a descoloração de efluentes e a utilização de biorreatores operados com esses fungos é uma alternativa que vêm sendo utilizada com grande sucesso na remediação de efluentes kraft (Esposito, 1992; Esposito, 1995; Esposito *et al.* 1991; 1992, 1993ab e 1996; Massai *et al.*, 1997).

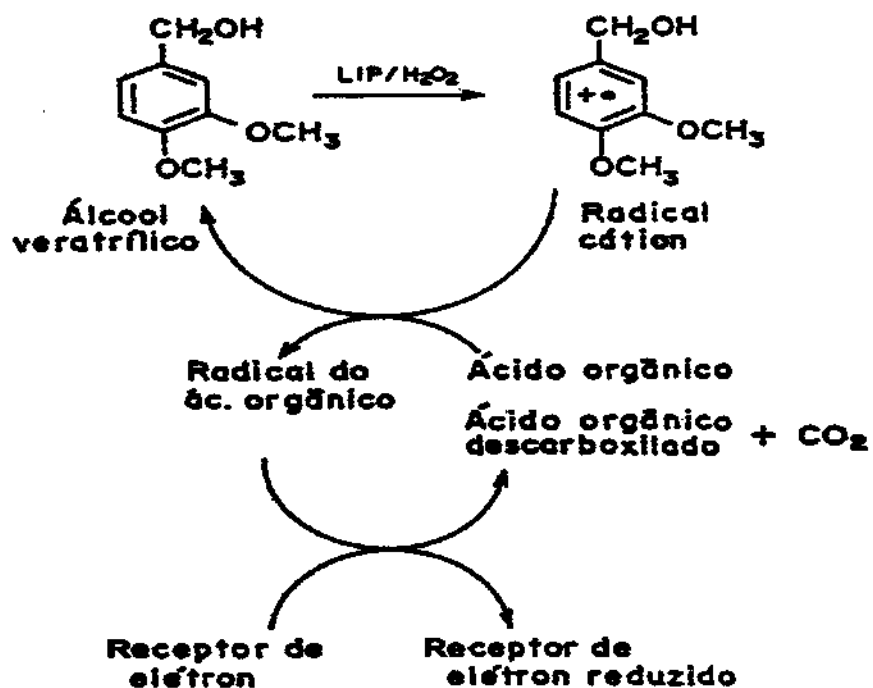


Figura 3 - Mecanismo de ação de Lignina Peroxidase (Barr e Aust, 1994)

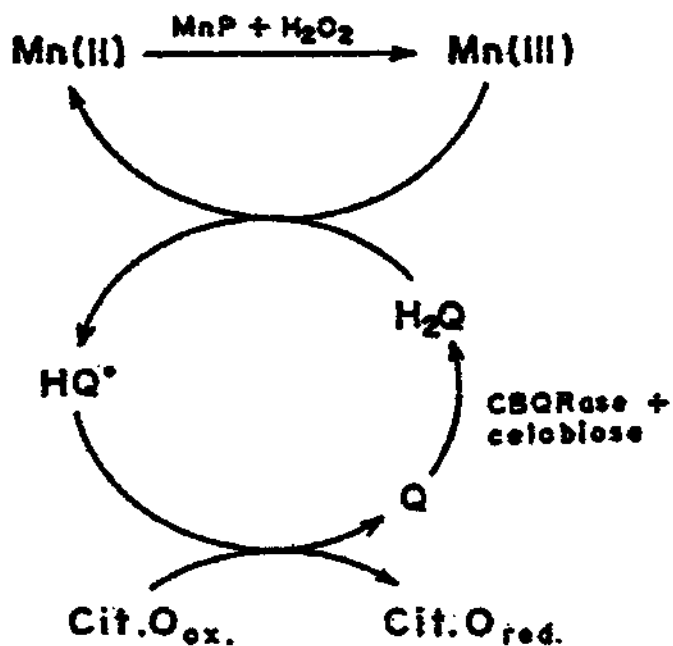


Figura 4 - Mecanismo de ação de Manganês Peroxidase (Barr e Aust, 1994)

O uso de fungos e de biorreatores operados com fungos e com lodo ativado vêm sendo também proposto para o tratamento de efluentes de branqueamento isentos de cloro. O tratamento biológico nos efluentes de branqueamento EOP, empregando um fungo coelomycetus *Stagnospora gigaspora* foi estudado por Bergbauer *et al.* (1992). Os resultados indicaram que os derivados de lignina nos efluentes EOP parecem ser mais resistentes ao ataque destes fungos que nos efluentes convencionais. Foi observado um acréscimo de 81% na cor dos efluentes, a partir do terceiro dia de tratamento, decrescendo subsequentemente ao valor inicial (318 UC) com 5 dias de incubação. Esses resultados foram atribuídos a produção adicional de cromóforos decorrente da atividade do fungo. Foi mostrado também que, após 5 dias de tratamento, a toxicidade desse efluente foi reduzida a 88%.

Bergbauer e Eggert (1992), em um trabalho posterior, estudaram o biotratamento dos efluentes de sequências de branqueamento EOP, CEH e HDEH empregando os fungos de degradação branca *Trametes versicolor* e *Phanerochaete chrysosporium*. Em relação à cor e a absorbância em UV (280 nm), os efluentes de sequências CEH e HDEH, após biotratamento, apresentaram reduções da ordem de 78 e 58% (cor) e 40 e 66% (UV), respectivamente, enquanto que, o efluente EOP apresentou-se recalcitrante para ambos os fungos. Esses efluentes também exibiram toxicidade elevada. Entretanto, o fungo *Trametes versicolor* reduziu a toxidade dos efluentes EOP e CEH em torno de 35%.

1.3.2 - MÉTODOS QUÍMICOS

Os tratamentos de efluentes baseados em processos químicos são capazes de promover a degradação ou até mesmo a completa mineralização da matéria poluente. Entre os novos métodos desenvolvidos com o objetivo de remediar efluentes industriais, destacam-se os processos oxidativos avançados (POAs). Os POAs são baseados na geração do radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$), de características

fortemente oxidantes, e pode promover a degradação de vários compostos poluentes em poucos minutos (Huang *et al.*, 1993).

Dentro do contexto da remediação de efluentes derivados da indústria de papel e celulose por POAs, a ozonização (Rodriguez *et al.*, 1998; Rice, 1997; Roy-Arcand e Archibald, 1996; Masten e Davies, 1994) e a fotocatálise (Peralta-Zamora *et al.*, 1996; Mansilla *et al.*, 1994; Caron e Reeve, 1992) têm sido exaustivamente investigados.

1.3.2.1 - OZONIZAÇÃO

O ozônio, por ser um agente oxidante muito ativo ($E^0 = 2,07 \text{ V}$), é muito utilizado em processos de degradação de compostos orgânicos, entre eles os organoclorados. A oxidação de poluentes orgânicos com ozônio pode ocorrer diretamente, via reações de cicloadição ou eletrofílica, ou indiretamente, via radical livre ($\cdot\text{OH}$) que é gerado pela decomposição do ozônio (Masten e Davis, 1994).

Na reação direta, o ataque eletrofílico pela molécula de ozônio pode ocorrer em átomos carregando uma densidade de carga negativa ou à ligações duplas ou triplas tipo carbono-carbono, carbono-nitrogênio e nitrogênio-nitrogênio. Na reação indireta, o radical hidroxila pode reagir através de três mecanismos: abstração de hidrogênio, transferência de elétrons ou adição radicalar. Este mecanismo indireto é muito mais eficiente por que o potencial de oxidação do radical hidroxila ($E^0 = 3,06 \text{ V}$) é mais elevado que o do ozônio molecular, podendo assim, promover oxidação mais energética. Além do mais, as reações com ozônio molecular tende a ser mais seletivas, enquanto que o radical hidroxila reage com quase todo tipo de compostos orgânicos (Masten e Davis, 1994). Desta forma, o emprego do ozônio por via indireta é muito mais eficiente e as pesquisas mais recentes têm procurado este caminho, quando se trata de efluentes.

A eficiência do ozônio na redução da carga poluidora de efluentes de branqueamento de polpa kraft têm sido investigada (Rounsaville e Rice, 1997). A influência de variáveis como carga de ozônio, pH, temperatura, tempo e adição de outros agentes oxidantes na redução de AOX, DQO, cor e toxicidade têm sido estudadas por Hostachy *et al.* (1996a; 1996b) e Rodriguez *et al.* (1998). Estes autores concluíram que a eficiência do tratamento de efluentes de branqueamento com ozônio foi dependente do pH, obtendo melhores resultados a pH alcalino.

1.3.2.2 - FOTOCATÁLISE

Nos últimos anos, os processos oxidativos fotocatalíticos envolvendo o uso de semicondutores têm sido extensivamente estudados com o objetivo de eliminar compostos tóxicos e biorresistentes presentes em efluentes (Hoffmann *et al.*, 1995; Pichat, 1994; Hermann, *et al.*, 1993; Fox e Dulay, 1993; Legrini, *et al.*, 1993, Huang, *et al.*, 1993). Nesses processos, os poluentes são degradados por uma alta energia de oxidação gerada em uma superfície iluminada de um catalisador (figura 5). Dessa forma, ocorrerá uma transição eletrônica gerando pares de elétrons/lacuna (e^-/h^+) devido à promoção de um elétron da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC). Com o elétron promovido para a BC e a lacuna (h^+) gerada na BV, criam-se sítios oxidantes e redutores capazes de catalisar as reações químicas (equações 1 e 2), que podem ser utilizadas no tratamento de efluentes industriais por meio da oxidação da matéria orgânica tóxica à CO_2 e H_2O .

Três caminhos têm sido propostos para as reações fotoquímicas para a mineralização de compostos orgânicos: a matéria orgânica é diretamente oxidada pela banda de valência (h^+) formando um radical cátion que reage rapidamente com o oxigênio (equação 3); a água é oxidada gerando radical hidroxila pelo h^+ que oxida o material orgânico (equação 4); o oxigênio é reduzido pelo e^- e o ânion superóxido formado inicia a oxidação do material orgânico (equação 5) (Ohnishi *et al.*, 1994).

Alguns semicondutores podem ser utilizados como fotocatalisadores heterogêneos. Estudos foram desenvolvidos comparando a atividade fotocatalítica de vários semicondutores sendo verificado que o TiO_2 , ZnO e CdS são os que apresentam melhor eficiência (Mansilla *et al.*, 1994; Matthews, 1991; Hoffmann *et al.*, 1995; Davis e Huang, 1991).

Reações de oxidação:



Reações de redução

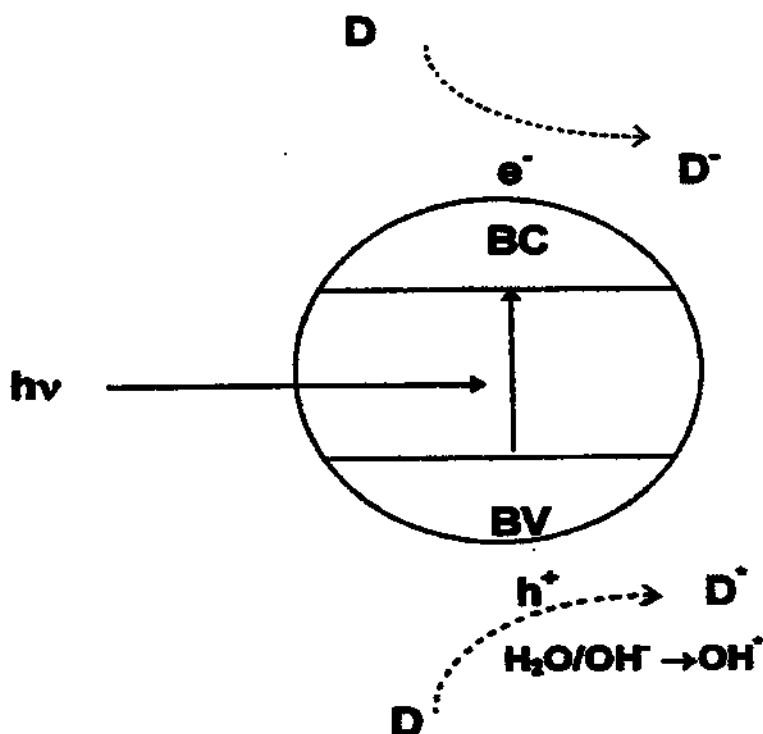


FIGURA 5 - Representação esquemática da partícula de um semicondutor, onde D: substrato orgânico; D^- : espécie reduzida; $h\nu$: radiação externa (UV).



Uma grande variedade de compostos tóxicos podem ser degradados por fotocátalise, principalmente utilizando-se TiO_2 como catalisador (Chen *et al.*, 1995; Minero *et al.*, 1995; Nogueira, 1995; Davis *et al.*, 1994). Este semicondutor se destaca como o mais fotoativo, além de apresentar outras propriedades como possibilidade de ativação em luz solar, apresenta insolubilidade em água, é estável fotocataliticamente, apresenta estabilidade química numa ampla faixa de pH, pode ser imobilizado sobre sólidos, é de baixo custo e não é tóxico. Estas características tornam este semicondutor o mais atraente e o mais utilizado em fotocátalise. Entretanto, o seu mecanismo de reação ainda é desconhecido, principalmente em relação a espécie iniciadora do processo de oxidação. Embora grande parte dos estudos de degradação fotocatalítica utilizando TiO_2 propuseram que o passo inicial do mecanismo oxidativo ocorre através do ataque do radical $\cdot\text{OH}$ sobre o substrato, não é possível adotá-lo como mecanismo único. Mecanismos de oxidação direta via lacunas fotogeradas e via estados excitados do oxigênio são também possíveis, embora com menor frequência pois dependerá de muitas variáveis ficando difícil a determinação dos mesmos (Zioli e Jardim, 1998).

No tratamento de efluentes derivados da indústria de papel e celulose, a fotocátalise heterogênea, utilizando o TiO_2 como catalisador, têm apresentado desempenho eficiente na degradação de compostos recalcitrantes. Entre os materiais degradados destacam-se as dioxinas (Friesen, *et al.*, 1991), lignina (Zeltner *et al.*, 1993) e pentaclorofenol (Mills *et al.*, 1993).

Apesar da eficiência do uso do TiO_2 no tratamento fotocatalítico de efluentes de indústria papeleiras, estudos têm mostrado que este catalisador não funciona de maneira eficiente na descontaminação do licor negro kraft (Mansilla *et al.*, 1994; Villaseñor e Mansilla, 1994). Para este tipo de efluente, o uso do catalisador ZnO mostrou-se mais eficiente que o TiO_2 , com rápida descoloração do efluente durante os primeiros minutos de reação. Entretanto, Peralta-Zamora *et al.* (1996) mostraram recentemente que o uso de catalisadores livres (não

imobilizados) de TiO_2 e ZnO , provocaram redução total de fenóis e uma alta eficiência de descoloração (aproximadamente 80%), neste tipo de efluente.

1.3.3 - TRATAMENTO COMBINADO: MÉTODOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS

Atualmente dispõe-se de uma variedade de processos usados para o tratamento de efluentes, porém esses métodos quando aplicados individualmente, são bastantes limitados. O uso de processos integrados, na remediação de efluentes, têm levado a resultados mais satisfatórios considerando-se aplicabilidade, eficiência e custo (Scott e Ollis, 1995).

A combinação de processos químicos e biológicos usados para o tratamento de efluentes estão sendo intensivamente estudados (Kunz *et al.*, 1997; Stockinger *et al.*, 1995; Pulgarin *et al.*, 1996). Este tipo de combinação é especialmente atrativa para os efluentes, pois o processo químico pode ser usado na degradação de compostos tóxicos, inibitórios e recalcitrantes ao processo biológico, aumentando a biodegradabilidade do efluente. Contrariamente, o sistema biológico, quando utilizado como pré-tratamento, pode remover a fração biodegradada evitando assim o uso dispendioso de oxidantes químicos (Scott e Ollis, 1995).

Dentre os processos combinados usados no tratamento de efluentes da industriais papeleira os que têm sido recentemente estudados são aqueles envolvendo a ozonização (Sawada *et al.*, 1996; Roy-Arcand *et al.*, 1996; Nakamura *et al.*, 1996) ou fotocatálise (Durán *et al.*, 1994 e 1991; Durán, 1992; Esposito *et al.*, 1992), com o tratamento biológico. Tanto os métodos fotocatalíticos quanto a ozonização têm sido utilizados como sistema de pré-tratamento para a descontaminação biológica desses efluentes.

Peralta-Zamora *et al.* (1997) apresentaram uma revisão sobre a remediação de efluentes derivados da indústria de papel e celulose, utilizando métodos biológicos e fotocatalíticos. Esse estudo abordou os principais aspectos

ambientais relacionados com a indústria papelreira e as principais alternativas empregadas para a redução do impacto ambiental produzido por estes resíduos. Concluíram que das muitas alternativas que têm sido estudadas com este objetivo, se destacam a fotocatalise heterogênea, utilizando semicondutores metálicos, e os tratamentos biológicos, representados principalmente pela utilização de fungos e enzimas.

1.4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados na literatura revelam que além da existência de poucos trabalhos no tratamento e na caracterização de efluentes TCF, praticamente não existe estudos envolvendo tecnologias de tratamentos inovativos para este tipo de efluente. Os processos biológicos envolvendo fungos e sua combinação com processos químicos, como também a identificação de compostos, após tratamento, torna muito promissora as perspectivas deste trabalho.

O presente trabalho aborda a toxicidade de um efluente gerado a partir de um estágio de branqueamento EOP de polpa de *Eucalyptus urograndis* de indústria papelreira e o seu tratamento, usando métodos não convencionais para remoção de seus poluentes. A caracterização química do efluente e a identificação de compostos encontrados nas frações de baixa massa molar, antes e após o tratamento biológico do mesmo, também são abordados.

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo principal caracterizar e tratar um efluente gerado a partir de um estágio de branqueamento EOP de uma indústria papelreira que usa o processo kraft-oxigênio de polpação.

Para atingir o objetivo principal foram realizadas as seguintes etapas:

- Caracterização do efluente EOP original quanto a sua toxicidade e composição química;
- Tratamento do efluente EOP utilizando processos biológicos, especificamente com os fungos *Lentinus edodes* e *Penicillium janthinellum*, processos químicos usando fotocatalise e ozônio, e combinando-se posteriormente os dois processos, biológicos e químicos;
- Caracterização do efluente EOP após os tratamentos biológico e químico, isolados e combinados, usando métodos químicos (COT, distribuição da massa molar, fenóis totais);
- Identificação dos compostos de baixa massa molar, presentes antes e após o tratamento biológico, por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM).

3 – MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - EFLUENTE

Neste trabalho foi usado efluente de uma indústria papelreira que utiliza o processo de polpação kraft-oxigênio. Este efluente foi gerado a partir do estágio de branqueamento EOP de polpa de *Eucalyptus urograndis*. O efluente (pH 11,5) foi armazenado em recipientes plásticos e estocado a -18°C .

3.2 - CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE

3.2.1 - DETERMINAÇÃO DE COR

A cor foi medida de acordo com o método padrão CPPA conforme descrito por CPPA (1975). Em todas as determinações, os efluentes foram previamente centrifugados por 15 min a 3.500 rpm e o pH ajustado para 7,6 com tampão fosfato $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. A absorbância da solução no espectro visível foi determinada em 465 nm contra água destilada, em um equipamento UV/visível U-2000 Hitachi.

Os valores de absorbância foram transformados em unidades de cor (UC) de acordo com a equação 6:

$$\text{UC} = 500 A_2 / A_1$$

equação 6

Onde:

- A_1 é a absorbância de uma solução padrão de platina-cobalto de 500 UC ($A_{465} = 0,132$).
- A_2 é a absorbância do efluente, medida a 465 nm.

3.2.2 - DETERMINAÇÃO DE CARBONO ORGÂNICO TOTAL (COT)

As medidas de COT foram realizadas em um analisador de carbono orgânico total Shimadzu TOC-5000 utilizando-se metodologia padrão (ISO, 1987).

Essas determinações foram feitas por intermédio da oxidação catalítica do carbono orgânico, em altas temperaturas, a CO_2 . A amostra foi preparada a partir de uma alíquota do efluente de 1 mL, previamente filtrada em membrana (0,45 μm) e diluída a 25 mL com água destilada. A água da amostra foi vaporizada e o carbono foi transformado em CO_2 , o qual foi arrastado por ar sendo a sua concentração detectada através de um infravermelho não-dispersivo. As concentrações de carbono total e do carbono inorgânico foram determinadas em mg.L^{-1} usando-se curva de calibração. O carbono orgânico total foi determinado pela diferença dos valores obtidos.

3.2.3 - DETERMINAÇÃO DA DEMANDA QUÍMICA (DQO) E BIOQUÍMICA (DBO) DE OXIGÊNIO

As análises de DQO e DBO foram realizadas no Laboratório de Recursos Renováveis da Universidade de Concepción, Chile, usando o método padrão APHA (1992).

A DBO relaciona o conteúdo de matéria orgânica facilmente biodegradável na amostra e foi determinada pela diferença da concentração de oxigênio dissolvido, antes e após a incubação das amostras a 20 $^{\circ}\text{C}$, no escuro, por 5 dias. A diferença na concentração de oxigênio dissolvido se deve ao consumo do substrato contido na amostra pelos microrganismos presentes na mesma. A diferença do consumo de oxigênio neste período, descontando-se o controle, é a medida da demanda bioquímica de oxigênio em 5 dias (DBO_5) expressa como massa de oxigênio consumido por litro de amostra.

A DQO baseia-se na oxidação completa da matéria orgânica por dicromato de potássio à temperaturas elevadas e em meio ácido contendo catalisador. Em um Erlenmeyer foi colocado 50 mL de efluente e acrescentado 10 mL de solução de dicromato de potássio ($0,05 \text{ mol.L}^{-1}$), 1 g de sulfato de mercúrio II e 80 mL de ácido sulfúrico concentrado contendo 10 g.L^{-1} de sulfato de prata. A mistura foi aquecida à 180°C por 10 min. Após o resfriamento da mistura foi adicionada a solução indicadora de ferroína e feita a titulação do dicromato excedente com solução de sulfato ferroso amoniacal até que a coloração azul-esverdeada da amostra mudasse para marrom-avermelhada. O resultado do material orgânico oxidável foi expresso em mg.L^{-1} de oxigênio.

3.2.4 - DETERMINAÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

O peróxido de hidrogênio foi determinado pelo método iodométrico (Jeffery *et al.*, 1992).

Uma amostra de 25 mL de efluente foi transferida para um Erlenmeyer de 250 mL. Adicionou-se, com agitação constante, uma solução de 1 g de iodeto de potássio em 100 mL de ácido sulfúrico 1 mol.L^{-1} . Após repouso da solução durante 15 min, titulou-se com solução padrão de tiosulfato de sódio $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ usando 2 mL de solução de amido como indicador.

A concentração de peróxido de hidrogênio foi calculado pela equação 7.

$$[\text{H}_2\text{O}_2] = A. M. f. B / C$$

equação 7

onde:

- A = volume gasto da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ $0,01\text{M}$ na titulação (mL).
- B = miliequivalente do H_2O_2 (g).
- C = volume da amostra (mL).
- f = fator da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.
- M = molaridade da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (mol.L^{-1}).

3.2.5 - DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS

A quantidade de fenóis totais foi determinada colorimetricamente conforme o procedimento padrão de Folin-Ciocalteu (APHA, 1989).

O princípio do método é a reação entre o reagente Folin-Ciocalteu e fenóis, com subsequente oxidação dos fenóis e formação de um complexo azul. A mistura reacional contendo 1000 μL de efluente, 250 μL de uma solução de carbonato-tartarato de sódio (12 g.L^{-1}) e 25 μL do reagente Folin 2 mol.L^{-1} foi mantida a 20°C durante 30 min. A quantidade de fenóis foi determinada espectrofotometricamente após leitura da absorbância da solução em 700 nm. Para o branco utilizou-se água ao invés de efluente. Os resultados foram expressos em mg.L^{-1} de fenol usando-se uma curva de calibração, na faixa de 0 a 14 mg.L^{-1} de fenol, obtida pelo mesmo procedimento acima, e usando fenol como padrão.

3.2.6 - DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS TOTAIS NO EFLUENTE

O teor de sólidos no efluente foi determinado pelo método padrão APHA (1992).

Uma amostra de 100 mL do efluente foi adicionada em um balão de fundo redondo, concentrada a vácuo em rotavapor, e seca em estufa até massa constante, à $103\text{-}105^\circ\text{C}$ por 1 hora. A massa total de sólidos contida em 100 mL do efluente foi medida pela equação 8.

$$[\text{Sólidos totais}] = (A - B) \times 1000 / V \quad \text{equação 8}$$

onde :

- A = massa do balão com a amostra seca (g).
- B = massa do balão vazio (g).
- V = volume da amostra (L)

3.2.7 - DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CINZAS DA MASSA DE SÓLIDOS TOTAIS DO EFLUENTE.

O teor de cinzas da massa de sólidos totais do efluente foi determinada conforme metodologia descrita por Silva (1995).

Após massa constante como determinado no item 3.2.6, a amostra foi condicionada em um cadinho de porcelana previamente calcinado e tarado. Em seguida, o material foi calcinado inicialmente a 300°C por 1 h e depois por mais 2 h a 800°C. Após a calcinação, o cadinho foi resfriado em dessecador e a massa de cinzas determinada.

O teor de cinzas foi calculado pela equação 9.

$$\%_{\text{czs}} = (M_2 - M_1) / M_3 \times 100 \quad \text{equação 9}$$

onde:

- %_{czs} = porcentagem em massa de cinzas.
- M₁ = massa do cadinho calcinado vazio (g).
- M₂ = massa do cadinho com cinzas (g).
- M₃ = massa de sólido seca (g).

3.2.8 - DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS E COMPOSTOS INSOLÚVEIS EM MEIO ÁCIDO, DETERMINADO COMO LIGNINA KLASON

A quantidade de compostos insolúveis em meio ácido foi determinada de acordo com o método Klason (ASTM, 1966) modificado.

Uma amostra de 1,0 g de efluente liofilizado e seco foi transferida para um bécher de 50 mL e tratada com 5 mL de H₂SO₄ 72%, sob vigorosa agitação, em um banho termostatzado a 45 ± 0,5°C por 7 min. A reação foi interrompida com a

adição de 25 mL de água destilada. A amostra foi transferida quantitativamente para um Erlenmeyer de 250 mL, elevando-se o volume de água a 137,5 mL.

Para a completa hidrólise dos oligômeros restantes, o Erlenmeyer foi fechado com papel alumínio e autoclavado por 15 min a 1,05 bar. Após a descompressão da autoclave, o frasco foi retirado e resfriado à temperatura ambiente, sendo a mistura reacional filtrada e o hidrolisado transferido e diluído com água destilada em um balão volumétrico de 250 mL e armazenado para análise posterior.

Os sólidos retidos no papel de filtro, previamente tarado, foram lavados com aproximadamente 1 L de água destilada e secos em estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ até massa constante.

A massa de cinzas dos sólidos foi usada para corrigir o teor de compostos insolúveis.

3.2.9 - DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS SOLÚVEIS EM MEIO ÁCIDO, DETERMINADOS COMO LIGNINA KLASON SOLÚVEL

A quantidade de compostos solúveis em meio ácido foi determinada conforme metodologia descrita por Rocha *et al.* (1993).

Uma alíquota de 5 mL do hidrolisado, obtida no item 3.2.8, foi diluída com água destilada em um balão volumétrico de 100 mL, depois de ter sido alcalinizada com NaOH 6,5 mol.L⁻¹ até pH 12,5.

A absorbância da solução em 280 nm foi determinada em um espectrofotômetro SHIMADZU UV 150-02, usando-se água destilada como referência. A concentração de compostos solúveis foi calculada com base na absorvidade média da lignina em pH 12 que é igual a 25 L.g⁻¹.cm⁻¹.

3.2.10 - DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS E ÁCIDOS ORGÂNICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

Uma alíquota de 5 mL do hidrolisado ácido obtido no item 3.2.8 foi extraído em cartuchos de extração sólida Sep-Pak C₁₈ (Waters), para a remoção de compostos aromáticos e, então, injetado diretamente em uma coluna Aminex HPX-87H (300 X 7,8 mm, Bio-Rad Laboratories Ltd) em um cromatógrafo SHIMADZU LC-10AD. Como fase móvel foi empregado H₂SO₄ 0,005 mol.L⁻¹ com fluxo de 0,6 mL.min⁻¹, a 45°C. Os compostos foram monitorados com um detector de índice de refração SHIMADZU RID-6A.

As áreas dos picos correspondentes às hexoses e às pentoses foram utilizadas para calcular as massas de glucana e xilana, respectivamente. Essas massas foram divididas pelo peso seco do material inicial e multiplicadas pelo fator de hidrólise. Os fatores hidrólise para conversão de glicose e celobiose em glucana foram 0,90 e 0,95, respectivamente. De maneira similar, xilose e arabinose foram convertidas em xilana e o ácido acético em grupos acetil usando-se os fatores 0,88 e 0,72, respectivamente.

As concentrações de celobiose, glicose, xilose, arabinose e ácido acético foram determinadas a partir de curvas de calibração obtidas com padrões analíticos.

3.2.11 - DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DE MASSA MOLAR

A distribuição da massa molar de compostos do efluente foi investigada por cromatografia de permeação em gel (CPG), usando uma coluna Asahipak GS-320H HPLC. O volume da amostra injetado foi de 20 µL e foi eluída como água destilada a uma vazão de 1,0 mL.min⁻¹. Os padrões para calibração da coluna foram 4 proteínas de massas molares conhecidas (tabela I). O volume de exclusão e o volume total do sistema da coluna foram determinados por eluição de

blue dextran (2.000 kDa) e acetona (58 Da), respectivamente. As proteínas foram aplicadas na coluna nas mesmas condições da amostra. Os compostos foram detectados em um detector de índice de refração SHIMADZU RID-6A.

Tabela I - Proteínas utilizadas na calibração da coluna cromatográfica e suas respectivas massas molares.

Proteínas	massa molar (Da)	volume de eluição (mL)
Albumina	66.000	3,5
Anidrase Carbônica	29.000	5,2
Citocromo C	12.400	5,9
Aprotinina	6.500	6,3

3.2.12. - MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS.

3.2.12.1 - ESPECTROS DE UV / VISÍVEL.

O pH do efluente original foi previamente ajustado para 7,0 e em seguida o espectro no uv/visível foi registrado contra água, num espectrofotômetro U-2000 Hitachi.

3.2.12.2. - ESPECTROS NO INFRAVERMELHO.

O efluente foi previamente ajustado para pH 7,0 e em seguida filtrado em Sep-Pak C₁₈. O material retido em C₁₈ foi extraído com etanol e seco em estufa com P₂O₅ sob vácuo. Foram preparadas pastilhas de KBr contendo 1% de amostra, compactadas a 10-12 kgf.cm⁻² sob vácuo. A seguir foram medidos os espectros na região de 4.000 a 500 cm⁻¹ em um espectrofotômetro FTIR Perkin Elmer 1600.

3.2.12.3 - CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSA (CG/EM)

O procedimento experimental foi efetuado de acordo com modificação da metodologia descrita por Guerra (1998).

Os compostos de massa molar baixa foram extraídos de uma alíquota de 100 mL de efluente com 3x100 mL de acetato de etila, em 3 extrações sucessivas. O acetato de etila foi evaporado em rotavapor e o extrato foi seco em estufa a vácuo na presença de P_2O_5 . Cerca de 2 mg do extrato foram dissolvidos em 100 μ L de piridina. A seguir foi adicionado 1 mL de N,O-bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA). O frasco foi fechado e mantido a 60 °C por 1 hora (Cotrim, 1990). Após o resfriamento da mistura reacional à temperatura ambiente, 1 μ L da mistura reacional foi injetado no cromatógrafo. Para diminuir a quantidade de amostra injetada foi utilizado um fracionamento mecânico (split) na razão de 1:100 usando o próprio gás de arraste (hélio) como diluente.

Os compostos foram analisados em um cromatógrafo de gases acoplado a um detector de massas Finnigan, modelo MAT GCQ™, calibrado com perfluorotributilamina (PFTBA) na faixa de varredura de m/Z de 30 a 620. Os espectros foram medidos após ionização das moléculas por impacto de elétrons (70 eV). Foi utilizada uma DB-5 de 30 $\times$ 0,25 m. Hélio foi usado como gás de arraste a um fluxo de 33,0 cm/s o que corresponde a 1 mL/min. A fonte de ionização foi aquecida a 170°C, a interfase a 220°C e a temperatura de transferência de linha a 275°C.

Para melhor separação dos compostos presentes na amostra foi utilizada uma rampa de temperatura na análise cromatográfica. O forno foi mantido inicialmente a 60°C por 1 minuto e posteriormente aquecido a uma taxa de 30°C/min até 140°C. Esta temperatura foi mantida por 3 min e o forno novamente aquecido a taxa de 2°C/min até a temperatura final de 240°C. A temperatura final foi mantida por mais 13,33 min.

3.2.13.4 - ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP/AES)

A análise de material inorgânico foi realizada no Laboratório de análises químicas do Departamento de Materiais Refratários da FAENQUIL de acordo com o procedimento descrito por Conte, (1995).

Uma amostra de 0,2 g do efluente liofilizado foi calcinado a 800°C por 1,5 h. Em seguida, o resíduo calcinado foi diluído com água destilada, filtrado e avolumado para 100 mL.

A amostra do efluente foi analisada em um espectrômetro de análise sequencial de resolução média, modelo 3410, com MINI TOCHA. A montagem do monocromador é Czerny-Turner, a vácuo, com distância focal de 1 metro, termostatizado para $32 \pm 0,1$ °C, sendo as fendas de entrada e de saída fixas, de 20 µm. A grade de difração foi holográfica, com 2400 linhas/mm, com resolução medida de 0,010 nm em 1ª ordem (usando a linha de Ba II 230,242). O intervalo útil de comprimentos de onda foi de 165 a 800 nm. O detector foi do tipo tubo fotomultiplicador Hamamatsu. O gerador de rádio-frequência foi de estado sólido, controlado por cristal, com potência máxima de 750 W e 27,12 MHz de frequência. A potência utilizada foi de 650 W. O sistema de aquisição de dados foi do tipo IBM PC XT, com monitor VGA, e o "software" é o plasma Vision 10, versão 1.1.

Foram usados os seguintes parâmetros de operação para o fluxo gasoso: 9 L/min de gás do plasma, 0,88 L.min⁻¹ de gás auxiliar, 0,44 L.min⁻¹ de gás nebulizador, 2,1 L.min⁻¹ da taxa de aspiração da amostra. Estes valores foram obtidos através de uma curva de calibração de pressão de gás (psi) x fluxo de gás (L.min⁻¹), levantada pelo fabricante para um nebulizador concêntrico.

3.2.13 - DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS

O teor de proteínas totais no efluente tratado biologicamente foi determinado de acordo com o método de Bradford (1976).

Cerca de 100 μL do efluente tratado biologicamente foi adicionado a 5 mL do reagente Azul de Coomassie brilhante G-250. Em seguida, essa solução foi agitada e imediatamente feita a leitura da absorbância da solução no espectro visível a 595 nm. A concentração de proteína na amostra foi calculada através de uma curva de calibração com albumina bovina entre 10 a 200 mg.L^{-1} .

3.2.14 - DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

As atividades enzimáticas foram medidas diretamente em amostras de efluentes tratados com os fungos *Lentinus edodes* e *Penicillium janthinellum*.

A atividade das fenoloxidasas foi medida usando como substrato siringaldazina segundo metodologia modificada de Szklarz *et al.* (1989). Este método baseia-se na oxidação do substrato enzimático siringaldazina até sua forma quinona, que apresenta absorção em 525 nm (ϵ 65.000 $\text{mol.L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). A atividade lacase foi determinada adicionando-se a 1 mL de amostra (efluente tratado), 0,6 mL de tampão citrato-fosfato (0,2 mol.L^{-1} fosfato - 0,1 mol.L^{-1} citrato) a pH 5,0, 0,2 mL de siringaldazina 1,0 mmol.L^{-1} seguida da elevação do volume final a 2,0 mL com 0,2 mL de água destilada. Para a determinação da atividade peroxidase foi seguido o mesmo procedimento anterior, entretanto adicionou-se 0,2 mL de H_2O_2 (2,0 mmol.L^{-1}) no meio reacional em substituição da água.

A atividade oxidase foi medida usando como substrato o-dianisidina na ausência de peróxido de hidrogênio, após modificação do procedimento descrito por Niku-Paavola *et al.* (1988). Este método se baseia na oxidação de o-dianisidina medindo-se a absorção do produto de oxidação a 460 nm (ϵ = 29.400 $\text{mol.L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). A mistura de reação continha um volume final de 2,0 mL,

sendo 0,6 mL de tampão citrato-fosfato ($0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ fosfato - $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ citrato) a pH 3, 0,2 mL de o-dianisidina $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ em 1,2 mL de amostra (efluente tratado).

3.2.15 - ENSAIOS DE TOXICIDADE

A toxicidade do efluente original (efluente recebido da indústria papelreira sem qualquer tratamento prévio) foi avaliada através de quatro métodos. Amostras do efluente (2,5 L), acondicionada em frasco plástico e congelada foi enviada ao Laboratório de Tecnologia Ambiental (TECAM), São Paulo, onde foram aplicados os ensaios de toxicidade crônica e aguda com *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis*, respectivamente. Os ensaios de toxicidade com a alga *Scenedesmus subspicatus* (toxicidade crônica) e a bactéria *Escherichia coli* (toxicidade aguda) foram realizados no Laboratório de Química Biológica do Instituto de Química da UNICAMP.

A toxicidade do efluente liofilizado foi avaliada através do ensaio com a bactéria luminescente *Photobacterium phosphoreum* (Microtox). Este teste foi realizado no Laboratório de Recursos Renováveis da Universidade de Concepción, Chile.

3.2.15.1 - DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE CRÔNICA COM *CERIODAPHNIA DUBIA*

Indivíduos jovens do gênero *Ceriodaphnia* foram expostos no efluente recebido da indústria papelreira sem tratamento prévio e diluído com água destilada para concentrações de 0,1; 1,0; 10 e 100% por um período de 7 dias de exposição. A sobrevivência e reprodução dos organismos testes foram expressas pelo CENO (concentração do efeito não observado). O procedimento seguido foi o da CETESB (1991).

3.2.15.2 - DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE CRÔNICA COM *SCENEDESMUS SUBSPICATUS*

O método estabelece a toxicidade crônica do efluente para *Scenedesmus subspicatus* através da inibição do crescimento das algas, medida via monitoramento da taxa de crescimento diário do organismo teste. O procedimento experimental foi efetuado de acordo com a metodologia descrita por Reginatto, (1998).

A alga verde de água doce, *Scenedesmus subspicatus* (cepa número 8681 SAG) foi adquirida na coleção de culturas de algas do "Pflanzenphysiologisches Institut" localizado em Göttingen na Alemanha.

A cultura da alga, recebida em meio sólido, foi transferida com alça de platina, sob condições estéreis, para um Erlenmeyer de 125 mL contendo 30 mL de meio de cultura líquido (anexo 1). O crescimento da pré-cultura foi feito no meio sob agitação constante (100 rpm) e temperatura de 23 °C por 14 dias sob intensidade luminosa (6000 a 8000 Lux). Após este período, retirou-se 1 mL da pré-cultura em condições estéreis para inocular uma nova cultura, servindo esta de inóculo para o ensaio de toxicidade, após 3 dias de crescimento sob as mesmas condições de pré-cultura. A concentração inicial da alga para o ensaio foi obtida pela leitura da absorbância ou fluorescência da suspensão de alga (absorbância de 0,160 a 680 nm).

Os ensaios foram realizados em Erlenmeyer de 125 mL aos quais foram adicionados a amostra em diferentes diluições (1:1,5; 1:2; 1:3; 1:4; 1:6; 1:8; 1:12), meio de cultura e uma quantidade definida de alga (inóculo). Amostras controle também foram incubadas com a mesma constituição da amostra, no entanto sem adição da alga. Também foi feito um controle para a comparação do crescimento da alga, sendo este constituído de água destilada, meio de cultura e inóculo da alga. Os ensaios foram realizados em triplicata para cada diluição da amostra, sendo que o volume final do teste foi de 30 mL.

Tabela II – Esquema para a realização do ensaio de toxicidade com a alga *S. subspicatus*.

Diluição da amostra	Amostra (mL)	Água destilada para diluição (mL)	Meio de cultura (mL)	Inóculo 10 ⁶ células/mL (mL)	Volume final do teste (mL)
1:1,33	26,0	0	3,0	1,0	30,0
1:2	15,0	11,0	3,0	1,0	30,0
1:3	10,0	16,0	3,0	1,0	30,0
1:4	7,5	18,5	3,0	1,0	30,0
1:6	5,0	21,0	3,0	1,0	30,0
1:8	3,75	22,25	3,0	1,0	30,0
1:12	2,5	23,5	3,0	1,0	30,0
controle		26,0	3,0	1,0	30,0

A concentração inicial de alga em cada Erlenmeyer foi determinada logo após a realização do inóculo. Os Erlenmeyer foram então incubados à temperatura de 23 °C sob agitação constante (100 rpm).

Luz branca universal foi colocada a aproximadamente 40 cm acima dos banhos termostatizados para o crescimento das algas. Após 72 horas foi realizada uma nova medida da concentração da alga no controle e nas amostras.

A taxa de crescimento diário das algas (μ) foi determinada conforme descrito a seguir:

$$\mu = [(\ln E_{72}) - (\ln E_0)] / t_n \times 24 \quad \text{equação 10}$$

onde:

μ = taxa de crescimento diário da alga.

E_0 = medida da concentração da alga no tempo zero.

E_{72} = medida da concentração da alga após 72 horas.

t_n = 72 horas.

No caso de amostras tóxicas, a taxa de crescimento diário (μ) da amostra foi menor que o μ do controle. A toxicidade das amostras foi representada em termos de porcentagem de inibição do crescimento das algas em relação ao controle, e calculada conforme descrito a seguir:

$$I\mu = \mu_c - \mu_i / \mu_c \times 100$$

equação 11

onde:

$I\mu$ = % inibição da taxa de crescimento.

μ_i = média da taxa de crescimento da alga em cada diluição da amostra.

μ_c = média da taxa de crescimento da alga no controle.

3.2.15.3 - DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA COM *DAPHNIA SIMILIS*

O método estabelece a toxicidade aguda do efluente para *Daphnia similis*, através da estimativa da concentração do efluente que causa efeito agudo por imobilidade a 50% dos organismos, em 48 horas de exposição (concentração efetiva mediana ou CE₅₀;48h). As determinações foram feitas de acordo com o procedimento descrito na norma ABNT (1993).

3.2.15.4 - DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA COM *ESCHERICHIA COLI*

O método estabelece a toxicidade aguda do efluente para *Escherichia coli* através da inibição da respiração microbiana, medida via monitoramento do CO₂ por FIA-Conduítmétrico Interfaceado. O procedimento experimental foi efetuado de acordo com a metodologia descrita por Jardim *et al.* (1990).

A bactéria *Escherichia coli* (ATCC 25922) foi cedida pelo Departamento de Patologia Clínica/Serviço de Microbiologia do Hospital das Clínicas da UNICAMP.

O meio de cultura para a bactéria foi preparado pela adição de 7,0 g de K_2HPO_4 , 3,0 g de KH_2PO_4 , 0,5 g de citrato de sódio, 1,0 g de $(NH_4)_2SO_4$, 0,2 g de $MgSO_4 \cdot H_2O$ e 20 g de glicose para cada litro de água destilada. O pH final foi ajustado em 7,0 usando uma solução de NaOH (4 mol.L^{-1}). O meio de cultura foi colocado num forno de microondas e levado até a fervura.

Após resfriamento, o meio de cultura foi inoculado com a bactéria e deixado à temperatura ambiente até o início da turvação do meio. Em seguida, o frasco com o meio inoculado foi colocado em um banho termostatzado a 37°C . A concentração do CO_2 produzida pela respiração microbiana presente no meio líquido foi monitorada até atingir $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$. Aliquotas de 45 mL foram transferidas desta suspensão estoque de bactéria para Erlenmeyer de 125 mL, também mantidos no banho a 37°C . A cultura foi então contaminada com 5 mL do efluente. O frasco que não recebeu nenhuma adição atuou como controle. Um meio de cultura sem bactéria atuou como branco. O pH das aliquotas foi ajustado para 7,0. As determinações CO_2 foram feitas a cada 20 min finalizando o experimento em 2 horas. A concentração de CO_2 nos diversos frascos foi obtida pela interpolação dos dados na curva de calibração (Guimarães, 1990).

3.2.15.5 - DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA COM *PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM*

Foi utilizado o método "Microtox", usando-se a bactéria marinha *Photobacterium phosphoreum*. A toxicidade aguda do efluente foi determinada através da inibição da luz emitida pela bactéria. O procedimento experimental foi efetuado de acordo com a metodologia descrita por Arbuckle e Alleman (1992).

Os experimentos foram realizados a uma temperatura de 15°C . Para o teste básico, foram preparadas quatro diluições da amostra do efluente usando a solução de sal Microtox, para prevenir o rompimento das bactérias devido a mudanças na pressão osmótica. As bactérias-teste, fornecidas na forma liofilizada,

foram ressuspensas em solução contendo água. Em seguida, foi feita a primeira medida da luminescência da solução das bactérias, após 5 e 15 min.

Um controle foi feito com água em lugar do efluente. O controle e as diferentes diluições do efluente foram então incubados por 30 min, e após este período, foi feita a medida da luminescência final das bactérias.

Para o teste 100%, adicionou-se 0,2% p.v⁻¹ de cloreto de sódio à mostra a ser analisada e o pH foi ajustado para 7,2. Foi seguido o mesmo procedimento anterior. A toxicidade foi calculada como CE50, CE20, CE10 e CE01 (concentração na qual a luminescência das bactérias diminuiu 50, 20, 10 e 1%, respectivamente), por interpolação dos gráficos concentração-resposta.

3.3 - TRATAMENTO DO EFLUENTE

3.3.1 - TRATAMENTO BIOLÓGICO

3.3.1.1 – MICRORGANISMOS

Foram utilizados *Penicillium janthinellum* CRC 87M-115; isolado de madeira em decomposição por Milagres (1988), e *Lentinus edodes* UEC-2019 da coleção de cultura do Laboratório de Química Biológica (Instituto de Química) da Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP. *Penicillium janthinellum* foi mantido em meio contendo glicose 2%, extrato de levedura 0,25%, solução mineral 2% e agar-agar 2%. *Lentinus edodes* foi mantido em meio agar-extrato de malte 1,25%. Todas as culturas estoques foram preservadas em geladeira a 5°C.

3.3.1.2 - PREPARO DO INÓCULO

Penicillium janthinellum foi cultivado conforme previamente descrito por Milagres e Lacis (1991).

Uma porção de esporos foi transferida, com auxílio de alça de platina, do estoque para novos tubos. Após incubação por um período de 7 dias à temperatura de 30°C, foi preparada uma suspensão de esporos. Os esporos foram colhidos assepticamente, com água estéril, raspando-se a superfície do meio com alça de platina. Esta suspensão foi filtrada em gaze estéril e uma alíquota de 1 mL foi usada para contagem do número de esporos ao microscópio, utilizando-se uma câmara de Newbauer. O meio contendo 20g.L⁻¹ de glicose, 2,5 g.L⁻¹ de extrato de levedura e 2% vv⁻¹ de solução de Vogel foi inoculado com a suspensão de esporos de forma a se obter uma concentração na faixa de 10⁵ -10⁶ esporos.mL⁻¹. O pH do meio foi previamente ajustado para 5,0 com uma solução de H₂SO₄. As culturas foram incubadas por 7 dias a 30°C com agitação de 150 rpm.

Lentinus edodes foi cultivado conforme previamente descrito por Esposito *et al.* (1991).

A cepa foi cultivada em placas, contendo meio agar-extrato de malte 2,0% e efluente 20%, durante 5 dias a 28°C, na ausência de luz. O pH do meio foi ajustado para 5,0 com uma solução de H₂SO₄. Após este período o fungo foi repicado do meio sólido (pré-inóculo) para o meio líquido (25 mL), em Erlenmeyer de 250 mL, contendo extrato de malte 1,25% e efluente 20%. O repique do pré-inóculo (meio sólido) para o meio líquido foi realizado com um pequeno tubo de vidro de 0,5 mm de diâmetro. O micélio foi recortado na zona de crescimento do fungo. Foram utilizados 8 círculos para cada 25 mL de meio.

O inóculo foi cultivado por 5 dias a 28°C, na ausência de luz, a pH inicial 5,0, sob agitação de 150 rpm para a formação de "pellets".

3.3.1.3 - BIOTRATAMENTO

Após o período de incubação do *Penicillium janthinellum*, todos os "pellets" (ou massa micelial), foram filtrados para a separação do meio líquido. Em seguida, o efluente não esterilizado foi inoculado com a massa micelial filtrada, sem fonte

adicional de carbono ou nitrogênio, em Erlenmeyer de 125 mL contendo 25 mL de efluente. O tratamento foi feito em um “shaker” sob agitação de 150 rpm e mantido a 28-30°C por um período de 7 dias. O pH inicial foi ajustado para 5,0.

Após tratado com *Penicillium janthinellum*, o efluente foi caracterizado de acordo com os procedimentos descritos nos itens 3.2.1; 3.2.2; 3.2.5; 3.2.11; 3.2.13 e 3.2.14.

O tratamento do efluente com o *Lentinus edodes* foi feito como previamente descrito para o *Penicillium janthinellum*, exceto que 2,0-2,5 g (massa úmida) da massa micelial foi usada para inocular cada 25 mL de efluente. Ainda neste caso, o tratamento ocorreu na ausência de luz durante um período de 5 dias.

Após tratado com *Lentinus edodes*, o efluente foi caracterizado de acordo com os procedimentos descritos nos itens 3.2.1; 3.2.2; 3.2.5; 3.2.11; 3.2.12.3; 3.2.13 e 3.2.14.

3.3.2 - TRATAMENTO FOTOCATALÍTICO

O tratamento do efluente por fotocatalise heterogênea foi feito conforme previamente descrito por Peralta-Zamora *et al.* (1996).

A reação foi feita em um reator de vidro, com capacidade de 80 mL, revestido com uma camisa refrigerada pela passagem de água a temperatura ambiente. Antes de iniciar a irradiação adicionou-se 25 mg do catalisador TiO₂ em 60 mL de efluente, com o pH ajustado na faixa de 5,0 a 5,5. O efluente foi irradiado usando uma lâmpada Phillips (sem proteção de vidro) com 250 W de potência. A distância entre a lâmpada e a superfície do efluente foi de 12 cm. A solução foi agitada magneticamente sob borbulhamento constante de oxigênio numa vazão de 20 mL.min⁻¹. Alíquotas de 5 mL foram retiradas do reator em tempos pré-determinados (de 0, 3, 6, 9 e 10 horas) e em seguida filtradas em membranas com diâmetro de poro de 0,47 µm (Millipore).

Após tratamento fotocatalítico, o efluente foi caracterizado de acordo com os procedimentos descritos nos itens 3.2.2 e 3.2.5.

3.3.3 - TRATAMENTO COM OZÔNIO

O tratamento do efluente com ozônio foi feito conforme previamente descrito por Kunz *et al.* (1997).

3.3.3.1 - GERAÇÃO E MEDIDA DE OZÔNIO

O ozônio foi gerado a partir de oxigênio puro, utilizando-se um ozonizador marca OZOCAR ZT-2 (Inter Ozone Ingenieria Ecologica, Santiago - Chile). O ozônio produzido foi determinado espectrofotometricamente fazendo-se passar a corrente gasosa que contém a mistura de oxigênio e ozônio por uma célula de fluxo a 258 nm ($\epsilon = 3000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) (Chiou *et al.*, 1995).

3.3.3.2 - OZONIZAÇÃO

O efluente submetido a ozonização teve seu pH previamente ajustado para 7,0. O volume de efluente usado foi de 400 mL, sendo ozonizado a temperatura ambiente. A reação foi feita em um reator tubular de 500 mL, com dispersor de vidro sintetizado liberando o gás da base para o topo do reator. A vazão de entrada do gás foi ajustada a $15 \pm 1 \text{ L de O}_2/\text{h}$ obtendo-se concentrações de O_3 no gás de $10 \pm 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente. O tempo para que o equipamento atingisse o estado estacionário foi de 15 min (Rodriguez *et al.*, 1996). A figura 6 mostra um esquema geral da ozonização.

Após tratamento com ozônio, o efluente foi caracterizado de acordo com o procedimento descrito no item 3.2.2.

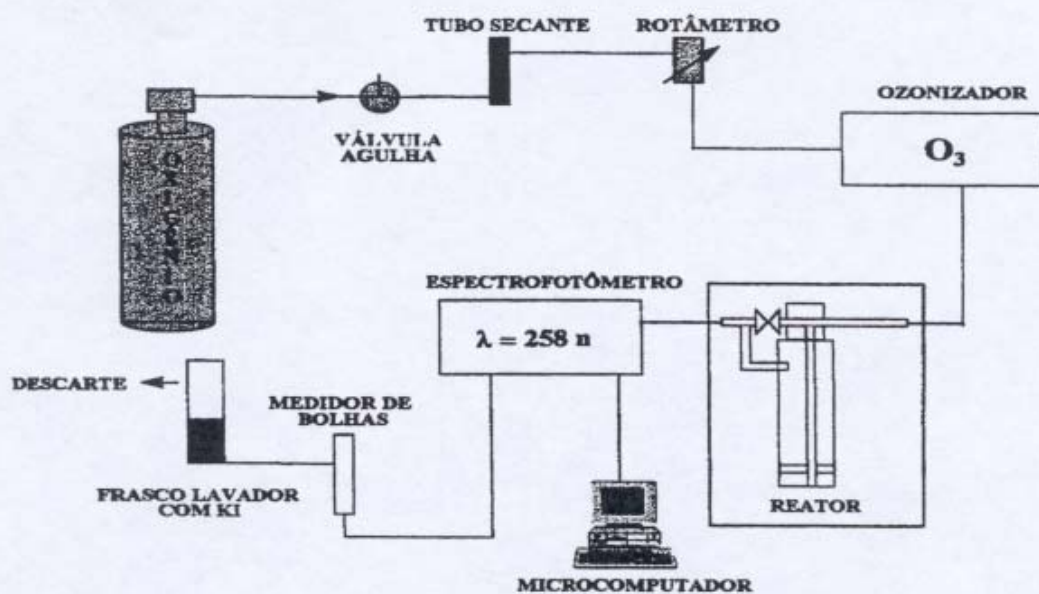


Figura 6 - Diagrama esquemático do sistema de ozonização (Kuns, 1999).

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE

Os efluentes gerados no branqueamento de polpas celulósicas, através de sistemas totalmente livre de cloro (TCF), compreendem uma nova classe de xenobióticos que merecem estudo detalhado a fim de avaliar qual o impacto decorrente de seu lançamento ao meio ambiente. De forma geral, esses efluentes apresentam pouca coloração e baixos valores de DQO e DBO. Isso porque o branqueamento TCF é aplicado em polpas preparadas pelo processo de cozimento Kraft-estendido, que tipicamente produz polpas com baixo teor de lignina residual e consequentemente há pouca lignina a ser removida. Outro fator é que esses processos de branqueamento geralmente utilizam oxidantes, como o peróxido de hidrogênio, que tipicamente destroem estruturas cromóforas, diminuindo assim sua coloração.

Os baixos valores de DQO, DBO e coloração tem levado a uma interpretação prematura de que esses efluentes são poucos tóxicos. Entretanto as características e o real impacto desses efluentes ainda não são completamente entendidos (Ristolainen e Alén, 1998).

Embora a caracterização parcial de efluentes oriundos de seqüências de branqueamento EOP, já tenha sido descrita para madeiras mole e dura (abeto e faia) (Dethlefs *et al.*, 1995, 1996ab), a caracterização de efluentes TCF, gerados no branqueamento EOP de polpas kraft provenientes de eucalipto, não foi encontrada na literatura.

Dentro desse contexto é que foi desenvolvida a primeira parte do trabalho, que envolveu a caracterização química e toxicológica do efluente EOP gerado no branqueamento de polpas kraft de eucalipto.

4.1.1 - TOXICIDADE

O efluente recebido da indústria sem qualquer tratamento prévio foi analisado quanto à sua toxicidade frente a quatro diferentes organismos: *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia*, *Escherichia coli* e *Scenedesmus subspicatus*.

O microcrustáceo *D. similis* e a bactéria *E. coli* foram usados para avaliar a toxicidade aguda do efluente. Para a toxicidade crônica, a reprodução do microcrustáceo *C. dubia* e o crescimento da alga *S. subspicatus* também foram medidas. A tabela III mostrou a redução de mobilidade de *D. similis* exposto no efluente por 48 horas. Em 0,1% da concentração do efluente nenhuma redução de mobilidade em *D. similis* foi observado. Concentrações do efluente de 1%, 10% e 100% promoveram reduções de mobilidade desse organismo de 5%, 5% e 100%, respectivamente. Essa redução de mobilidade foi linear com o logaritmo da concentração do efluente. Baseado neste gráfico, foi calculada a concentração efetiva mediana da amostra (CE50; 48 horas). Essa medida indica a concentração de efluente necessárias para causar a imobilidade de 50% dos indivíduos testados. No efluente em questão essa concentração foi de 25%, com uma faixa de variação de 18 e 35% para um intervalo de 95% de confiança.

Tabela III - Porcentagem de organismos (*Daphnia similis*) imóveis em função da exposição por 48 horas, a diferentes concentrações do efluente.

CONCENTRAÇÃO (%)	IMOBILIDADE (%)
Controle	0
0.1	0
1.0	5
10	5
100	100

A respiração da *E. coli*, medida a partir da determinação da concentração do CO₂ produzido, em uma função do tempo de crescimento em diferentes

concentrações de efluente é mostrada na figura 7. A inibição do metabolismo dessa bactéria foi observada para todas as concentrações avaliadas. A inibição da respiração bacteriana, após 120 min de exposição, para o efluente em três concentrações é mostrado na figura 8. O valor de CE50; 120 min (inibição da respiração da *E. coli* em 50%), determinado por interpolação nas curvas foi de 4,2%. Embora os ensaios com *D. similis* e *E. coli* avaliem a toxicidade aguda do efluente, os valores de EC50 encontrados em ambos os testes foram diferentes; já que os dois organismos reagiram de maneira completamente diferente a exposição dos compostos tóxicos presentes no efluente. Em ambos os casos a toxicidade aguda no efluente foi bastante alta.

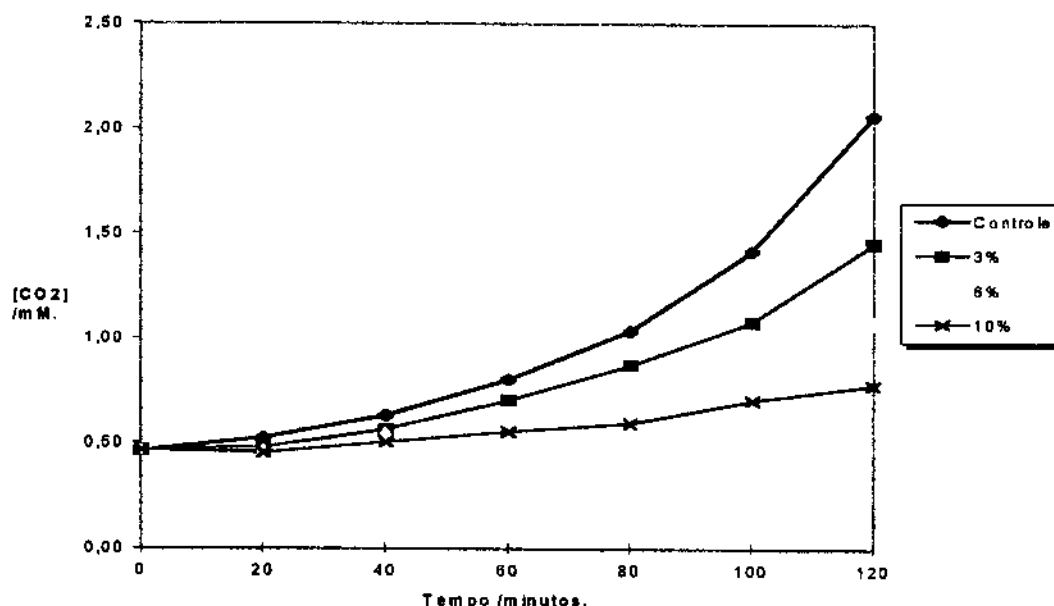


Figura 7 - Produção de CO₂ (respiração) pelas culturas de *Escherichia coli* ATCC 25922 contaminadas com amostras de efluente EOP em concentrações de 3, 6 e 10%.

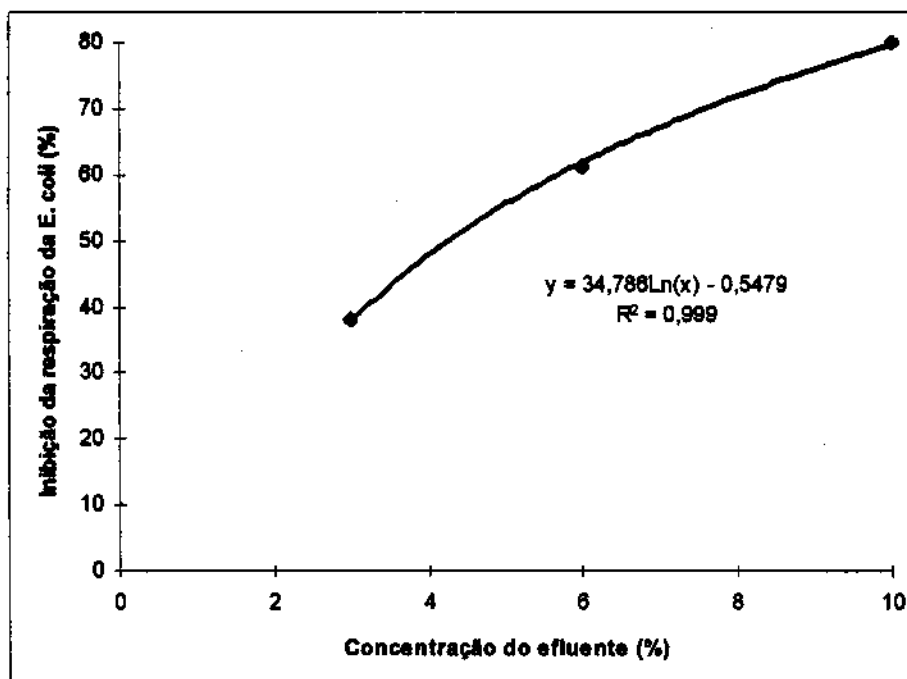


Figura 8 - Inibição da respiração das culturas de *Escherichia coli* ATCC 25922, após 120 min de incubação em meio contaminado com efluente EOP em diferentes concentrações.

A tabela IV mostra os resultados dos testes de toxicidade crônica a partir da análise dos dados de reprodução de *Ceriodaphnia dubia*, após 7 dias de exposição em diferentes concentrações do efluente. Observa-se que todas as concentrações do efluente avaliadas exerceram efeitos tóxicos sobre a *C. dubia*, produzindo inibição de sua reprodução. Desta forma, a concentração de efeito não observado (CENO), que corresponde à maior concentração do efluente que não causa efeitos deletérios na reprodução de *C. dubia*, não pode ser determinada, visto que a menor concentração do efluente (0,1%) avaliada já promoveu 50% de inibição da reprodução desse organismo.

A inibição do crescimento da alga *S. subspicatus* também foi usada como parâmetro para a avaliação da toxicidade crônica do efluente.

Tabela IV - Reprodução da *Ceriodaphnia dubia*, após 7 dias de exposição a diferentes concentrações do efluente.

CONCENTRAÇÃO (%)	REPRODUÇÃO (jovem/adulto)
Controle	14
0,1	07
1,0	07
10	07
100	0

A figura 9 mostra os resultados do ensaio de toxicidade com algas em amostras com concentrações de 12,5, 25, 50 e 100% de efluente. Para essas concentrações do efluente, observou-se inibição dos organismos expostos de 51, 68, 74 e 73%, respectivamente.

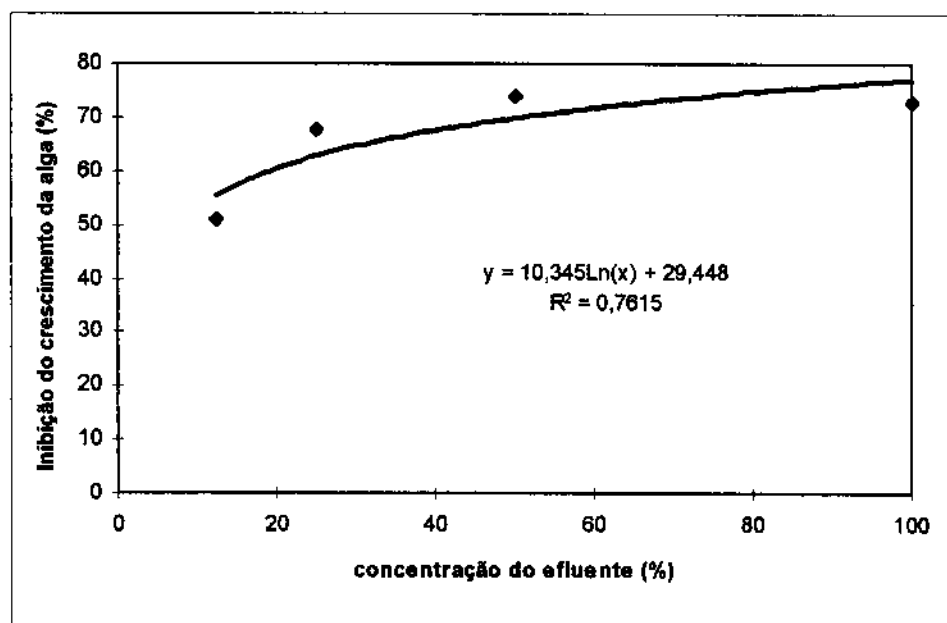


Figura 9 - Inibição do crescimento da alga *S. subspicatus* (cepa número 8681 SAG) incubada em meio contaminado com efluente EOP em diferentes concentrações.

Os valores de CE50 e CE20 (concentrações que causaram 50 e 20% de inibição do crescimento da alga, respectivamente) obtidos a partir da curva mostrada na figura 9 foram de 7,3% e 2,5% (v.v⁻¹), respectivamente. Com base nesses resultados, pode-se afirmar que todas as concentrações do efluente testadas exerceram efeitos de inibição de crescimento das algas, em comparação com o controle.

Ainda nesse estudo de toxicidade do efluente TCF, foram feitos dois ensaios de toxicidade aguda no efluente EOP liofilizado. O liofilizado foi dissolvido em água a concentração de sólidos do efluente original e em seguida, foram aplicados os testes com *E. coli* e o "Microtox". Os resultados mostraram que não houve inibição nem da respiração de *E. coli* nem da luminescência das bactérias usadas no ensaio "Microtox". Portanto, em ambos ensaios, nenhum efeito tóxico agudo foi observado no efluente, após liofilização. Esses resultados indicaram, que os compostos presentes no efluente original que causaram toxicidade aguda são voláteis ou se degradam durante a liofilização.

Resultados semelhantes de toxicidades aguda e crônica de efluentes TCF foram reportados na literatura. Stauber *et al.* (1996) compararam a toxicidade de efluentes de branqueamento ECF (D(EO)DD) e TCF ((XQ)(EOP)(EPN)P), Z(PO)) e ((PA)P) de polpa kraft de eucalipto. Eles mostraram que efluentes de branqueamento TCF são mais tóxicos que os ECF, possivelmente devido a presença de peróxido de hidrogênio residual. Em um trabalho realizado por O'Connor *et al.* (1993), efluentes TCF de seqüências de branqueamento OQP e OZEP exibiram toxicidade crônica elevada, medida pela reprodução da *Ceriodaphnia*, com CE₅₀ de 4 e 0,7%, respectivamente. Esses efluentes exibiram toxicidade até mesmo após remoção do peróxido residual. Ahtiainen *et al.* (1996) comparando a toxicidade de efluentes ECF e TCF concluíram que não existe diferença significativa entre a toxicidade desses efluentes. Até o momento não há evidências claras que mostrem quais compostos presentes, nos efluentes TCF e ECF, são efetivamente tóxicos. Há inclusive, trabalhos na literatura que atribuem a toxicidade observada à presença de constituintes naturais da madeira (Verta *et*

al., 1996). Compostos fenólicos e alguns ácidos são produtos de degradação originados principalmente da lignina e podem ser encontrados em efluentes de branqueamento (Axegård *et al.*, 1996).

No caso específico da toxicidade de efluentes EOP, duas possibilidades são mencionadas na literatura (Bergbauer e Eggert, 1992). A toxicidade desses efluentes poderia ser causada por uma pequena porção de derivados de lignina. Outra explicação possível seria que compostos não aromáticos, tais como resinas ácidas, hidrocarbonetos e outros produtos de degradação dos constituintes da madeira contribuíram para a toxicidade total.

4.1.2 - CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DO EFLUENTE

O efluente em estudo foi analisado através das técnicas convencionais de análise de águas residuais e por métodos específicos utilizados na caracterização de efluentes oriundos do processo de branqueamento de polpas celulósicas.

Os valores de cor, DBO, DQO, COT e concentração de peróxido de hidrogênio são apresentados na tabela V. Esses valores podem ser considerados baixos quando comparados com os valores normalmente observados em efluentes de processos de branqueamento que utilizam cloro (Sant'Anna, 1992).

Mesmo quando comparado com dados reportados para efluentes TCF oriundos de outras seqüências de branqueamento (tabela V) os valores de cor, DQO, COT e peróxido de hidrogênio observados foram baixos. Esses resultados mostraram que os valores elevados de DQO e COT nos efluentes reportados por Stauber *et al.* (1996), podem ser devido ao uso de enzimas (X) e agentes a base de oxigênio no branqueamento (Cates *et al.*, 1995). No branqueamento com enzimas, pode ocorrer liberação adicional de carboidratos e lignina ligada covalentemente ao carboidratos.

A concentração de peróxido de hidrogênio residual encontrado no efluente EOP em estudo (30 mg.L^{-1}) pode ser umas das causas de toxicidade aguda (item 4.1.1). Por outro lado, nem sempre a presença de peróxido de hidrogênio pode ser vista como um agente prejudicial. Estudo recente mostrou que peróxido de hidrogênio em concentrações variando de 20 mg.L^{-1} a 1000 mg.L^{-1} causou reduções de até 25% na DBO de efluentes TCF quando tratados com lodo ativado (Larisch e Duff, 1997).

Tabela V - Características químicas de efluentes TCF não tratados.

COMPONENTES	EOP	(XQ)(EOP)(EPN)P (Stauber et al., 1996)
Cor (UC)	60,6	105,0
DQO (mg.L^{-1})	624,0	1205,0
DBO (mg.L^{-1})	208,0	0
COT (mg.L^{-1})	300,0	360,0
Peróxido de hidrogênio (mg.L^{-1})	30,0	95,2

A composição química do efluente, expressa como a quantidade de compostos inorgânicos (reportados como cinzas totais), compostos orgânicos solúveis e insolúveis em ácidos (determinados como lignina Klason), açúcares e ácido acético é mostrada na tabela VI. O teor de sólidos totais no efluente foi de $1,25 \text{ g.L}^{-1}$ dos quais 63% corresponderam a cinzas.

A tabela VII mostra a distribuição de metais e não metais no efluente EOP. Sódio foi encontrado em concentrações mais altas (24,5%) que outros metais. Foi detectado também a presença de 6,3% de enxofre. A presença do sódio e do enxofre pode ser justificada pela adição de NaOH e Na_2S nas etapas de branqueamento e polpação. Em um trabalho realizado por Verta *et al.* (1996), tanto os efluentes de branqueamento convencional quanto os efluentes TCF e ECF, com diferentes seqüências de branqueamento, exibiram concentrações de sódio elevadas em relação aos demais metais detectados.

Tabela VI - Composição química do efluente, após hidrólise ácida dos sólidos totais

COMPONENTES	g/100g de sólidos totais (*)
compostos inorgânicos	63,0 ± 0,2
Compostos orgânicos solúveis em ácidos	2,87 ± 0,04
Compostos orgânicos insolúveis em ácidos	0,31 ± 0,01
glicose	0,86 ± 0,03
arabinose	0,6 ± 0,2
celobiose	2,48 ± 0,07
xilose	4,49 ± 0,01
ácido acético	0,498 ± 0,001
Total	75,1 ± 0,6

(*) Teor de sólidos totais = 1,25 g.L⁻¹

Tabela VII - Concentração de material inorgânico no efluente EOP original

Elemento Químico	g/100 g de sólidos totais (*)
Na	24,5
S	6,3
K	0,60
Si	0,43
Ca	0,64
Al	0,047
Mn	0,013
B	0,004
Sr	0,011
Mg	0,201
Fe	0,020
Zn	0,002
Ba	0,002
Total	32,8

(*) Teor de sólidos totais = 1,25 g.L⁻¹

A parte orgânica dos sólidos do efluente continha, respectivamente, 2,9 e 0,3% de compostos solúveis e insolúveis em ácido, determinados pelo método de klason. Após hidrólise ácida dos sólidos, foram detectados 0,86% de glicose, 0,6% de arabinose, 2,5% de celobiose, 4,5% de xilose e 0,5% de ácido acético. Os valores obtidos antes da hidrólise foram menores que 0,2% para todos os açúcares analisados, indicando que os açúcares se encontram no efluente na forma de oligômeros. Deve-se notar que cerca de 24,9% dos sólidos representam compostos ou classe de compostos que não puderam ser determinados através das técnicas analíticas empregadas. Parte desses compostos pode corresponder a produtos de degradação de açúcares que por apresentarem estrutura alifática saturada não absorvem no UV em 280 nm nem polimerizam em meio ácido e, dessa forma, não são detectados como lignina klason solúvel ou insolúvel. Essa hipótese foi corroborada, ao menos em parte, através da determinação de vários ácidos carboxílicos através da técnica de CG/EM.

A fração de baixa massa molar do efluente EOP extraível com acetato de etila em pH 2 foi caracterizada por CG/EM. Na figura 10 é apresentado o cromatograma de íons reconstituídos (TIC) para o extrato de acetato de etila derivatizado com BSTFA. A identificação dos compostos foi feita por comparação dos espectros de massas obtidos com aqueles de bibliotecas de espectros instaladas no equipamento de GC/EM e / ou através de proposições de fragmentações lógicas, conforme mostrado no apêndice 2. A numeração dos picos referentes aos compostos encontrados na amostra, os seus tempos de retenção, os íons moleculares e a identificação dos compostos estão apresentados na tabela VIII.

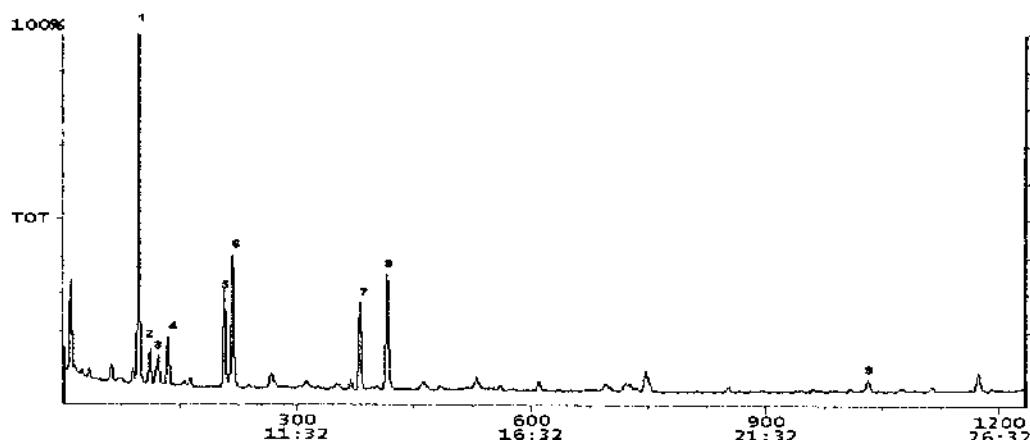


Figura 10 - Cromatograma de íons reconstituídos (TIC) da fração do efluente EOP original extraída com acetato de etila, evaporada a pressão reduzida e derivatizada com BSTFA.

O composto 1, responsável pelo maior pico presente no cromatograma, foi identificado como derivado sililado do ácido butanodióico. Os compostos responsáveis pelos picos 2, 3, 5 e 9 foram identificados como derivados sililados dos ácidos metil- butanodióico; 2,3-bis-(oxi) propanóico; oxi- propanodióico e 3-metoxi-4-(oxi) benzóico, respectivamente. Os compostos 4 e 7 apresentaram tempos de retenção diferentes, no entanto o caminho de fragmentação apresentado pelos espectros de massas dos dois compostos foram os mesmos (composto 7 obteve sililação completa), e foram atribuídos ao derivado sililado do ácido oxi- butanodióico. Os picos 6 e 8 também apresentaram compostos identificados como derivados sililados de ácidos carboxílicos, sendo que a completa identificação dos mesmos não foi possível. Os demais picos que apareceram no cromatograma, após o pico 9, foram identificados como derivados sililados de açúcares. Os picos eluídos no início do cromatograma (até 7:40 min) foram atribuídos a produtos de decomposição do agente sililante (BSTFA). Todos os espectros de massas citados anteriormente estão apresentados no apêndice 2.

Tabela VIII -Identificação dos compostos presentes no efluente EOP original

Pico n ^o	Tempo de retenção (min)	íon molecular	Derivado TMS	Fórmula molecular
1	8:08	262	ácido butanodióico	
2	8:24	276	ácido metilbutanodióico	
3	8:36	322	ácido 2,3-bis-(oxi)propanóico	
4	8:47	278	ácido oxi-butanodióico	
5	9:59	336	ácido oxi-propanodióico	
6	10:09		não identificado	
7	12:53	350	ácido oxi-butanodióico	
8	13:27	234	não identificado	
9	23:43	312	3-metoxi-4-(oxi) benzóico	

Todos esses ácidos carboxílicos de baixa massa molar devem ter sido gerados como produtos de decomposição de açúcares em meio básico, exceto o número 9 gerado a partir da degradação da lignina (Fengel e Wegener, 1989). No entanto, não se conhece exatamente a toxicidade desses compostos à vida aquática. Provavelmente, grande parte desses compostos são biodegradados pela microbiota existente no meio ambiente. Entretanto, alguns compostos podem ser biodegradados muito lentamente, sendo, portanto, bioacumulativos para os peixes.

Os compostos tóxicos identificados em efluentes da indústria de papel e celulose incluem os fenóis clorados, resinas ácidas, ácidos graxos insaturados e outros. As resinas ácidas são as principais contribuidoras de toxicidade para os peixes (Morales *et al.*, 1992).

Em extratos de efluentes EOP têm sido identificados resinas ácidas, ácidos graxos, ácidos láctico e glicolítico, fenóis e outras substâncias aromáticas (Dethlefs e Stan, 1996a/b; Dethlefs *et al.*, 1995).

A distribuição de massa molar dos compostos do efluente é mostrada na figura 11. Duas frações distintas foram observadas. A fração de massa molar alta representou menos que 10% da área total do cromatograma, tendo uma massa molar média (M_w) estimada em 64 kDa. A fração de massa molar baixa foi eluída entre 7 e 9 mL, correspondendo a uma faixa de 2600 a 400 Da. Nesta coluna o volume de exclusão (V_0) foi de 3,3 mL e todas as frações do efluente foram eluídas a volumes maiores que V_0 .

A fração do efluente adsorvida em um cartucho de octadecil-sílica (C18), que correspondeu a 39,4% do total de sólidos do efluente, foi caracterizada por FTIR. O espectro obtido é mostrado na figura 12. O espectro mostrou bandas em 3418 cm^{-1} , 2924 cm^{-1} , 1607 cm^{-1} e $1094\text{-}1044\text{ cm}^{-1}$, atribuídas a absorção dos grupos O-H, C-H, C=C e C-O, respectivamente. Não foi observado grupos carbonila, embora a banda em 1607 cm^{-1} esteja muito larga e possa mascarar bandas C=O de ácidos carboxílicos. Wallis e Wearne (1994), em estudo similar de

caracterização, também observaram bandas na região de 1600 cm^{-1} , em espectros de sólidos de alta massa molar obtidos de filtrados de branqueamento. Essas bandas foram atribuídas a absorção de grupos carbonila.

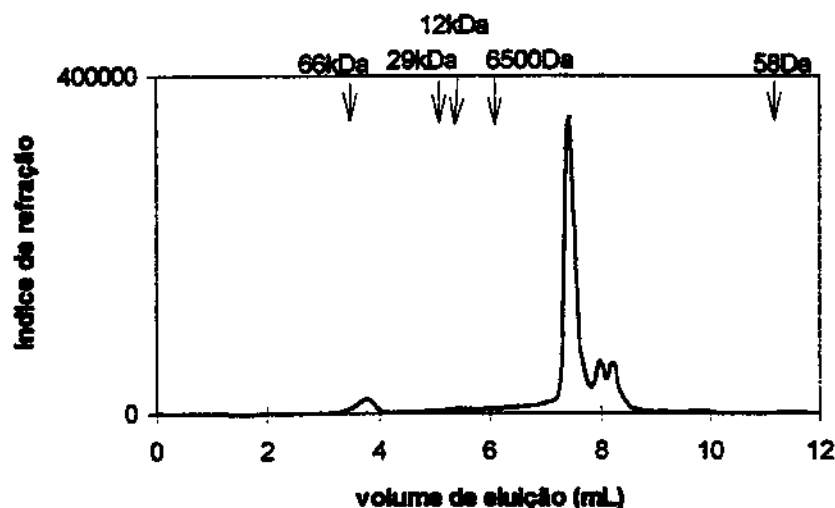


Figura 11 - CPG do efluente EOP oriundo do branqueamento de polpa Kraft de *Eucalyptus urograndis*.

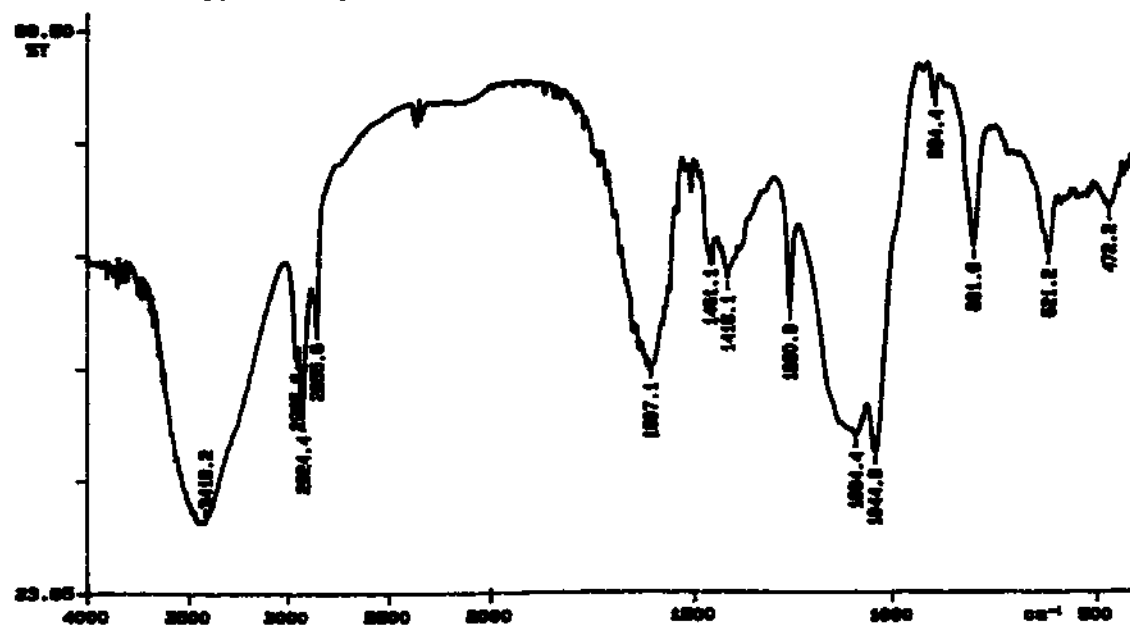


Figura 12 - Espectro FTIR da fração sólida (adsorvida em C18) do efluente EOP de polpa Kraft de *Eucalyptus urograndis*.

4.1.3 - CONCLUSÕES PARCIAIS SOBRE A CARACTERIZAÇÃO TOXICOLÓGICA E QUÍMICA DO EFLUENTE

De maneira geral, os resultados mostrados nas tabelas I e II e figuras 6, 7 e 8 indicaram que, através dos quatro testes de toxicidade aplicados, o efluente EOP original apresentou-se tóxico. Essa toxicidade aguda poderia ser atribuída principalmente ao teor de peróxido de hidrogênio residual encontrado no efluente e a toxicidade crônica a compostos de baixa massa molar, identificados como produtos da oxidação de açúcares gerados durante o branqueamento.

4.2 - TRATAMENTO DO EFLUENTE

A segunda etapa do trabalho, envolveu o tratamento do efluente utilizando métodos químicos como fotocatalise e ozônio, o tratamento biológico com fungos, e o tratamento combinado, químico e biológico. O objetivo dessa parte do estudo foi verificar o tratamento mais efetivo para a decomposição da matéria orgânica presente no efluente EOP

4.2.1 - TRATAMENTO QUÍMICO

4.2.1.1 - FOTOCATÁLISE

Na tabela IX são mostrados os teores de COT e dos fenóis totais monitorados no efluente EOP, durante 10 horas de tratamento fotocatalítico. Os teores de COT, foram praticamente os mesmos, independentemente do tempo de tratamento. Uma ligeira redução de 6% de COT, observada nas primeiras 3 horas de irradiação, não representa um grau significativo de diminuição da carga orgânica do efluente. Observou-se também um acréscimo de fenóis totais de 58% nas primeiras 3 horas e uma redução de 18% até o final do tratamento (10 horas), em relação ao valor observado ao final de 3 horas. Peralta-Zamora *et al.*, (1997) estudaram a degradação dos compostos orgânicos presentes nos efluentes da

indústria papaleira, por meio da avaliação de descoloração, redução de fenóis totais e redução de COT. Eles obtiveram descoloração significativas de e diminuição de compostos fenólicas (80%), para tempos de tratamento não superiores a 60 min, usando TiO_2 e ZnO como catalisadores na forma livre. Entretanto, nos primeiros 30 min de irradiação, usando TiO_2 , foi observado aumento no teor de fenóis totais. Este aumento poderia ser explicado em termos de ataque aos grupos fenólicos, fato que poderia ser favorecido pelo processo fotolítico e que levaria à formação de espécies sensíveis à reação de Folin-Ciocalteus. Uma outra explicação, seria a formação de espécies fenólicas por ataque do radical hidroxila gerado no processo. No efluente EOP, o mais provável é que os compostos formados, após o tratamento fotocatalítico, possam estar relacionados com a segunda explicação formulada por Peralta-Zamora *et al.*, (1997).

A redução do teor de COT durante o processo fotocatalítico, também não refletiu mineralização da matéria orgânica. Em muitos casos a degradação de compostos orgânicos acontece, porém não ocorre a eliminação completa da carga orgânica do efluente. Isto é, o processo fotocatalítico promove alterações na estrutura das substâncias orgânicas. No entanto, tais reações devem levar à formação de intermediários e não à degradação completa (Peralta-Zamora *et al.*, 1997).

Tabela IX - Tratamento fotocatalítico de efluente EOP original com catalisador TiO_2 , durante um período de 10 horas.

Tempo (horas)	COT (mg.L^{-1})*	FENÓIS TOTAIS (mg.L^{-1})
0	347,0	1,54
3	327,2	2,44
6	356,0	1,68
9	375,5	1,91
10	336,8	2,00

* desvio padrão do COT igual a 2%

4.2.1.2 - OZÔNIO

O tratamento do efluente original com ozônio mostrou que, mesmo após 20 min de ozonização, o teor de COT não sofreu alteração (tabela X). Esse resultado mostrou que, através da técnica de ozonização, não houve degradação dos compostos orgânicos presentes nesse efluente.

Uma alternativa para melhorar a eficiência na degradação desses compostos é o uso do ozônio em combinação com outros processos.

A ozonização combinada com métodos biológicos como pré-tratamento ou como tratamento final de efluentes tem apresentado uma boa eficiência na remoção de compostos recalcitrantes, remoção da cor e também na biodegradabilidade de efluentes (Masten e Davis, 1994; Rice, 1997; Kunz *et al.*, 1997; Kunz *et al.*, 1999; Adams *et al.*, 1993).

Tabela X - Tratamento de efluente EOP original com ozônio, durante um período de 20 min.

Tempo (min)	COT (mg.L ⁻¹)
0	345,5
20	344,2

4.2.2 - TRATAMENTOS BIOLÓGICOS

Para realizar o tratamento biológico do efluente EOP foram empregados os fungos *Lentinus edodes* (basidiomiceto lignocelulolítico) e *Penicillium janthinellum* (fungo xilanolítico). Esses fungos foram escolhidos para os tratamentos, por se tratar de organismos previamente selecionados e usados em

processos de pré-tratamento de efluentes e biobranqueamento de polpas (Esposito *et al.*, 1991; Milagres e Lacis, 1991).

As características do efluente tratado com *Lentinus edodes* e *Penicillium janthinellum* estão sumarizadas na tabela XI. Após o período de cinco dias de incubação com *Lentinus edodes* observou-se um ligeiro aumento na cor do efluente, seguido por um aumento no conteúdo de COT e fenóis totais.

Tabela XI - Características químicas do efluente antes e após tratamento biológico por *Lentinus edodes* (5 dias) e *Penicillium janthinellum* (7 dias).

COMPONENTES	<i>Lentinus edodes</i>		<i>Penicillium janthinellum</i>	
	NT	T	NT	T
Cor (UC)	60,6	64,4	85,2	1511,4
COT (mg.L ⁻¹)	257,0	367,8	271,5	482,8
Fenóis totais(mg.L ⁻¹)	1,54	4,57	1,08	34,24
Proteína total(mg.L ⁻¹)	Nd	nd	nd	107,6

NT = não tratado; T = tratado; nd = não detectado

No tratamento usando *Penicillium janthinellum* foi observado um grande aumento na cor do efluente. A quantidade de cromóforos aumentou de 85,2 UC para 1511,4 UC, após 7 dias de incubação (tabela X). Também observou-se, após tratamento, aumento de COT, fenóis totais e proteína total. O aumento de proteína e COT pode estar relacionado a lise celular e uma conseqüente liberação de proteína intracelular para o efluente. Entretanto, o aumento da cor e dos fenóis pode indicar que estruturas oxidadas com absortividade baixa foram convertidas em estruturas fenólicas cromofóricas. No caso do tratamento com *Lentinus edodes*, o aumento da cor e dos fenóis no efluente, provavelmente está relacionado ao processo de desmetoxilação gerando fenóis e quinonas. Efeito similar no aumento da cor foi observado em efluentes EOP tratados com *Trametes versicolor* (Bergbauer e Eggert, 1994). Este fungo não ataca a lignina

do efluente EOP, mas promove um escurecimento acentuado no efluente (56%) devido a produção de grupos cromóforos.

O aumento de COT no efluente tratado com *Lentinus edodes*, pode ser atribuído a produção de metabólitos extracelulares formados durante o tratamento.

Os resultados apresentados na tabela XII mostram que o envolvimento de enzimas como oxidase, lacase e peroxidase no escurecimento do efluente com *Lentinus edodes* é improvável, visto que os níveis destas enzimas foram baixos. Porém no caso do tratamento com *Penicillium janthinellum*, provavelmente a presença de oxidase ($3,7 \text{ UI.L}^{-1}$) representa um papel importante neste aumento de cor.

Tabela XII - Atividade enzimática em efluente tratado com *Lentinus edodes* e *Penicillium janthinellum* após 5 e 7 dias, respectivamente.

TRATAMENTO	LACASE (UI.L^{-1})	OXIDASE (UI.L^{-1})	PEROXIDASE (UI.L^{-1})
<i>Lentinus edodes</i>	0,4	0,4	0,5
<i>Penicillium janthinellum</i>	0,4	3,7	0,4

A distribuição de massa molar dos efluentes tratados com *Lentinus edodes* e *Penicillium janthinellum* é mostrada nas figuras 13 e 14, respectivamente.

Após um período de 5 dias de incubação, foi observado que *Lentinus edodes* degradou ambas as frações, de alta e baixa massa molar dos compostos encontrados no efluente. A fração eluída a 3,75 mL no efluente original (massa molar média estimada em 64 kDa) desapareceu após o biotratamento, indicando que este fungo proporciona uma degradação efetiva desta fração. Também, as frações eluídas entre 7,95 e 9,0 mL foram consumidas, já que no efluente tratado existe somente um sinal baixo nesta região. O fungo *Lentinus edodes* tem também mostrado habilidades para degradar cloroligninas em efluentes E1, como

previamente descrito por Esposito (1995). Após 5 dias de tratamento biológico, foram obtidos valores de 83% de descoloração, 53% de remoção de fenóis, 60% de redução de carbono orgânico total.

O efluente tratado com *Penicillium janthinellum* mostrou que a fração de alta massa molar foi parcialmente despolimerizada, resultando em 2 frações de massas molares médias de 10 kDa e 1500 Da. Entretanto, é provável que lise celular tenha ocorrido no tratamento do efluente com *Penicillium janthinellum*, evidenciado pelo alto conteúdo de proteína no efluente tratado (tabela X). Portanto, é provável que alguns sinais observados no GPC do efluente estejam relacionados com compostos intracelulares.

Em ambos os tratamentos, nenhuma despolimerização ou degradação ocorreu para a fração eluída a 7,5 mL, cuja a massa molar média foi estimada entre 400-1500 Da. No tratamento com *Penicillium janthinellum* esta fração apresentou um aumento na intensidade do sinal.

Tratamentos biológicos de águas residuais contendo agentes quelantes, tais como EDTA (MM 292 Da) ou DTPA (MM 393 Da), tem mostrado que estes compostos são recalcitrantes a biodegradação (Alder *et al.*, 1990; Hinck *et al.*, 1997). É possível que os compostos recalcitrantes observados neste efluente tratado possam estar relacionados a estes tipos de compostos.

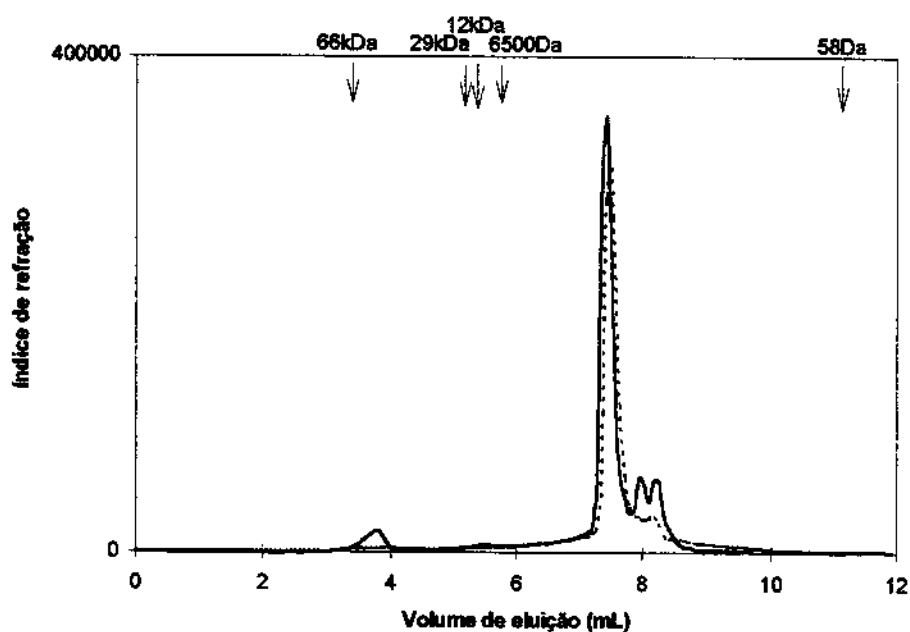


Figura 13 - CPG dos efluentes EOP original e tratado de polpa kraft de *Eucalyptus urograndis*. (–) não tratado; (–) tratado com *L. edodes* (5 dias).

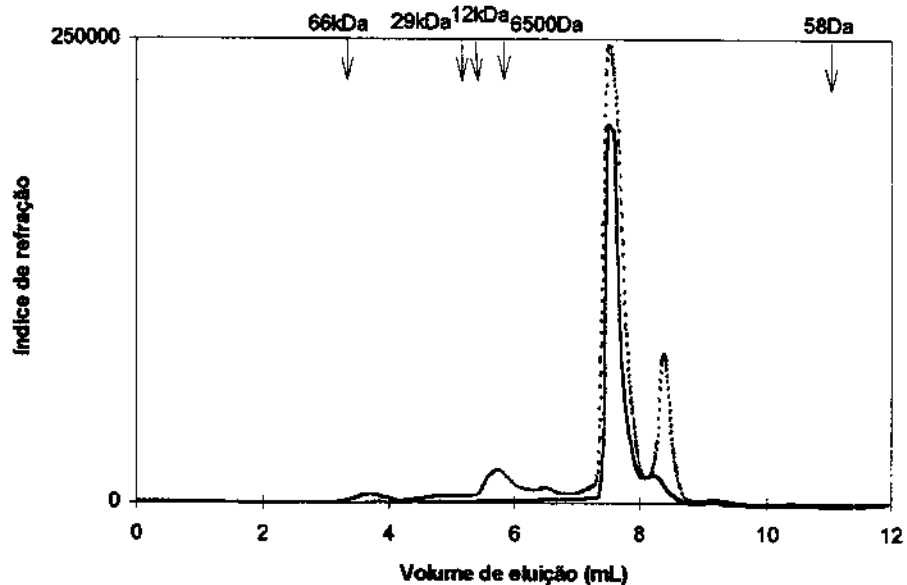


Figura 14 - CPG dos efluentes EOP original e tratado de polpa kraft de *Eucalyptus urograndis*. (–) não tratado; (---) tratado com *P. janthinellum* (7 dias).

Outro fator importante a ser considerado nos efluentes biotratados é a reversão de cor desses efluentes, tornando-os escuros após tratamento com fungos. Os baixos valores de cor encontrados nos efluentes EOP, sem nenhum tratamento, podem estar relacionados com a oxidação de cromóforos fenólicos pelo peróxido de hidrogênio usado durante a etapa de branqueamento de polpa. Esses baixos valores de cor são recuperados quando o efluente é submetido ao tratamento biológico. Dessa forma, uma das preocupações no lançamento destes efluentes nos corpos receptores é a formação de cor, quando em contato com a microflora aquática, e conseqüente redução da atividade fotossintética.

4.2.3 - TRATAMENTO COMBINADO

Nesta etapa do trabalho, após seleção do efluente EOP tratado biologicamente empregando a cepa de *Lentinus edodes* como tratamento mais eficiente, realizou-se um segundo tratamento neste efluente, combinando-se o tratamento biológico com o tratamento fotocatalítico.

Os resultados dos efluentes tratados (T) e não tratados (NT) biologicamente, combinados com o tratamento fotocatalítico, são mostrados na tabela XIII. Comparando-se os resultados de COT, observou-se que no efluente biotratado houve um decréscimo significativo da carga orgânica deste efluente, durante as 10 horas de tratamento. Estes resultados mostraram que, no efluente biotratado, aparentemente, são atingidos apenas os compostos gerados pelos fungos durante o tratamento biológico, e não os compostos originais do efluente.

Quanto aos valores de fenóis totais, esses permaneceram praticamente constantes, durante as 10 horas de tratamento fotocatalítico do efluente biotratado. As diferenças observadas entre os valores da tabela XIII estão dentro do erro experimental.

O fato dos teores de COT e fenóis totais não sofrerem alteração durante o tratamento combinado, pode ser atribuído ao fato do efluente já ter sofrido reações

de oxidação durante o tratamento, o que o torna recalcitrante a outros tratamentos.

Durán *et al.* (1991), estabeleceram que pré-irradiação de efluente, seguido por tratamento biológico com fungos, resultou em eficiente descoloração do mesmo. Além disso, quando um efluente pré-irradiado (10 min) em presença de ZnO foi tratado com *L. edodes* (Esposito *et al.*, 1991), uma acentuada descolorização foi obtida após 48 horas de tratamento (Durán *et al.*, 1994). Esses autores propuseram que o procedimento de descoloração por meio do processo combinado foto-biológico parece ser um eficiente método de descontaminação, com potencial para o tratamento de efluente industrial.

Tabela XIII – Tratamento combinado, fotocatalítico (catalisador TiO_2) com o efluente EOP biotratado (fungo *L. edodes*), durante um período de 10 horas.

TEMPO (horas)	COT (mg.L^{-1})		FENÓIS TOTAIS (mg.L^{-1})	
	NT	T	NT	T
0	347,0	445,2	1,54	4,57
3	327,2	408,2	2,44	3,89
6	356,0	363,8	1,68	4,76
9	375,5	369,2	1,91	4,19
10	336,8	383,0	2,00	3,56

4.2.4 – CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE APÓS TRATAMENTO BIOLÓGICO

Após tratamento biológico, a fração de baixa massa molar do efluente extraída com acetato de etila em pH 2 foi caracterizada por CG/EM. Na figura 15 é apresentado o cromatograma de íons reconstituídos (TIC) para o efluente tratado biologicamente e derivatizado com BSTFA.

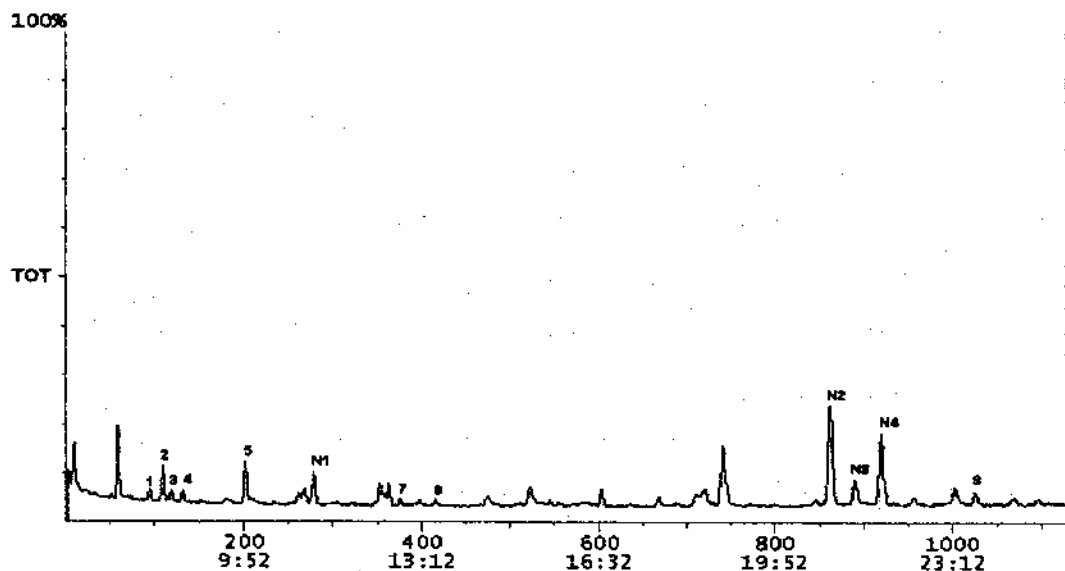
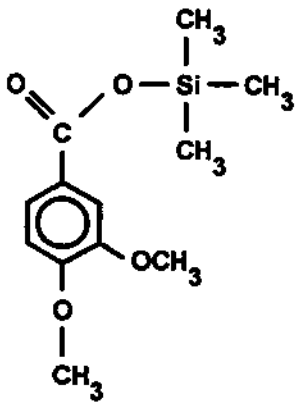


Figura 15 - Cromatograma de íons reconstituídos (TIC) da fração do efluente EOP tratado biologicamente, extraída com acetato de etila, evaporada a pressão reduzida e derivatizada com BSTFA.

Os resultados obtidos por comparação dos espectros de massas do efluente tratado com aqueles do efluente original mostraram que os compostos 2 e 9 foram recalcitrantes ao tratamento biológico. Além desses compostos, também foram detectados no efluente a presença de outros compostos (N1, N2, N3 e N4) formados após o biotratamento. O composto N3 foi identificado como derivado sililado do ácido 3,4-dimetoxi benzóico (tabela VX). Os demais picos que apareceram no cromatograma (N1, N2 e N4) foram atribuídos a produtos do metabolismo celular sendo que a completa identificação desses compostos não foi possível. Todos os espectros de massas citados anteriormente estão apresentados no apêndice 2.

Tabela XIV - Identificação dos compostos do efluente EOP, formados após tratamento biológico.

Pico n ^o	Tempo de retenção (min)	Íon molecular	derivado TMS	Fórmula molecular
N1	11:12	318	não identificado	-
N2	20:53	258	não identificado	-
N3	21:21	254	Ácido 3,4-dimetoxi benzóico	
N4	21:53	295	não identificado	-

4.2.5 – CONCLUSÕES PARCIAIS

O efluente EOP original por conter em sua composição ácidos carboxílicos como produtos da reação de oxidação com peróxido de hidrogênio, provavelmente não vai sofrer transformações em sua composição quando aplicados a outros processos oxidativos

A caracterização da fração de baixa massa molar por CG/EM, do efluente EOP após tratado biologicamente, mostrou a presença de alguns compostos recalcitrantes à atividade microbiana.

5 – CONCLUSÕES GERAIS

Considerando-se os objetivos definidos no início desse trabalho, as conclusões geradas no desenvolvimento do mesmo são apresentadas a seguir:

- o efluente EOP original apresentou toxicidades, aguda e crônica, elevadas. Entretanto, este efluente apresentou baixos valores de cor, DBO, DQO, COT e fenóis totais;
- na fração de baixa massa molar do efluente EOP original foram identificados alguns compostos derivados da oxidação de açúcares presentes no efluente, como também, a partir da degradação da lignina;
- os resultados dos tratamentos químicos com fotocatalise e ozônio mostraram que, por meio do monitoramento de COT e fenóis totais, não houve mineralização de compostos orgânicos presentes neste efluente;
- os tratamentos biológicos com os fungos *Lentinus edodes* e *Penicillium janthinellum*, provocaram um aumento na cor e nos teores de COT e fenóis totais do efluente EOP. Ao mesmo tempo, após o tratamento com esses fungos, foi observado que ocorreu degradação das frações de alta e baixa massa molar do efluente;
- No tratamento combinado, através da avaliação dos mesmos parâmetros estudados anteriormente (COT e fenóis totais), praticamente, os resultados foram os mesmos obtidos nos tratamentos químicos.
- os resultados obtidos dos tratamentos e da caracterização do efluente EOP indicaram que este efluente é de difícil tratamento, por conter compostos recalcitrantes.

6 – PERSPECTIVAS FUTURAS

A continuidade desse trabalho vem sendo feita através do estudo do tratamento biológico do efluente EOP, usando reator do tipo "airlift", com células livres e imobilizadas de *L. edodes*. Além disso, estão sendo usadas três diferentes vazões de ar para cada tratamento biológico. O intuito desse estudo é otimizar as melhores condições do processo biológico, em batelada, no que diz respeito a redução de cor, fenóis totais, COT e peróxido de hidrogênio.

Para dar continuidade a esse trabalho, pretende-se:

- tratar biologicamente o efluente usando o processo contínuo como uma condição mais realista para tratamentos de efluentes industriais;
- aplicar o tratamento fotocatalítico no efluente EOP usando um reator com irradiação interna, o qual abrange uma maior área de tratamento do efluente;
- comparar a atuação dos catalisadores TiO_2 e ZnO no tratamento fotocatalítico acima;
- avaliar a toxicidade do efluente EOP após cada tratamento.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- **ABNT (1993).** Água - Ensaio de Toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustacea). Norma NBR 12713. Rio de Janeiro, ABNT, p.16.

- **Adams, C. D.; Scanlon, P.A.; Secrist, N. D. (1994).** Oxidation and Biodegradability Enhancement of 1,4-Dioxane Using Hydrogen Peroxide and Ozone. Environmental Science & Technology, 28(11): 1812-1818.

- **Ahtiainen, J.; Nakari, T.; Silvonen, J. (1996).** Toxicity of TCF and ECF Pulp Bleaching Effluents Assessed by Biological Toxicity Tests. In: Environmental Fate and Effects of Pulp and Paper Mill Effluents, M.R. Servos, K.R. Munkittrick, J.H. Carey and G. Van Der Kraak (ed.), St. Lucie Press, Delray Beach, FL., 33-40.

- **Alder, A.C.; Siegrist, H.M.; Gujer, W.; Giger, W. (1990).** Behaviour of NTA and EDTA in Biological Wastewater Treatment. Water Research 24:733-742.

- **APHA. American Public Health Association (1992).** Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales. Greenberg AE (ed), Diaz de Santos, SA, Madrid, Espanha.

- **APHA. American Public Health Association (1989).** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 17 ed. Amer. Publ. Health Ass. N°5550B p.5.68, N. Y.

- **Arbuckle, W.B.; Alleman, J.E. (1992).** Effluente Toxicity Testing Using Nitrifiers and Microtox™. Water Environment Research, 64(3): 263-267.

- **ASTM Methods.(1966).** D.1106-56. Standard Test Method for Lignin in Wood.

- **Axegård, P.; Dahlman, O.; Haglind, I.; Jacobson, B.; Mörck, R.; Strömberg, L. (1993).** Pulp Bleaching and The Environment - The Situation 1993. Nordic Pulp and Paper Research Journal, 4:365-378.

- Barr, D.P.; Aust, S.D. (1994). Mechanisms White Rot Fungi Use to Degrade Pollutants. Environmental Science & Technology, 28(2): 79A-87A.
- Bergbauer, M.; Eggert, C. (1992). Differences in The Persistence of Various Bleachery Effluent Lignins Against Attack by White-Rot Fungi. Biotechnology Letters, 14(9): 869-874.
- Bergbauer, M.; Eggert, C. (1994). Degradability of Chlorine-free Bleachery Effluent Lignins by Two Fungi: Effects on Lignin Subunit Type and on Polymer Molecular Weight. Canadian Journal of Microbiology, 40: 192-197.
- Bergbauer, M.; Eggert, C.; Kalnowski, G. (1992). Biotreatment of Pulp Mill Bleachery Effluents with The Coelomycetous Fungus *Stagonospora gigaspora*. Biotechnology Letters, 14(4): 317-322.
- Bertoletti, E. (1989) Tratabilidade e toxicidade de efluentes industriais. Engenharia Sanitária, 28(1): 38-41.
- Bertoletti, E. (1990) Toxicidade e concentração de agentes tóxicos em efluentes industriais. Ciência e Cultura, 42(3/4): 271-277.
- Bervoets, L.; Baillieul, M.; Blust, R.; Verheyen, R. (1996). Environmental Pollution, 91: 333-341.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of protein using the principle of Proteindye Binding. Analytical Biochemistry, 73: 248-254.
- Brunsvik, J.J.; Kordes, R. (1991). Environmental Compatible Bleaching of Chemical Pulp. In: Jameel, H.(ed.) Bleaching, a Tappi Press Anthology, 1987-1990, Atlanta: TAPPI, 779p.: 593-596.
- Caron, R.J.; Reeve, D.W. (1992). Environmental Photolysis of Chlorinated Organic Matter Discharged in Kraft Pulp Bleaching Effluents. Pulp & Paper Canada, 93: 8.

- **Cates, D.H.; Eggert C.; Yang, J.L.; Eriksson, K-E.L. (1995).** Comparison of Effluents from TCF and ECF Bleaching of Kraft Pulps. Tappi Journal, 78 (12): 93-98.
- **Chen, H.Y.; Zahraa, O.; Bouchy, M.; Thomas, F.; Bottero, J.Y. (1995).** Adsorption Properties of TiO₂ Related to The Photocatalytic Degradation of Organic Contaminants in Water. Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry, 85: 179-186.
- **Chiou, C.; Mariñas, B.J.; Adams, J.Q. (1995).** Ozone-Science & Engineering, 17: 329-344.
- **CETESB (1991).** Água - Avaliação de Toxicidade Crônica, Utilizando *Ceriodaphnia dubia* Richard 1894 (Cladocera, Crustacea). Norma Técnica L5.022, São Paulo, CETESB, p.33.
- **Conte, R.A. (1995).** Determinação de Impurezas Substitucionais por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente. Tese de Doutorado, UFSC, São Carlos.
- **Cotrim, A. (1990).** Separação e Caracterização de Óleos Provenientes da Liquefação Direta de Ligninas da Hidrólise Ácida de Eucalipto. Tese de Doutorado. UNICAMP, Campinas, 115.
- **CPPA (1975).** Technical Section Standard Method H5P.
- **Dahlman, O.; Sousa, F.; Ljungquist, P. (1995).** Analysis of Organic Compounds in Effluents from TCF Bleaching of Softwood and Hardwood Kraft Pulps. In: 8th International Symposium on Wood and Pulping Chemistry, Helsinki, Finland, June 6-9, 729-736.
- **Dethlefs, F.; Stan, H.-J. (1996a).** Determination of Resin Acids in Pulp Mill EOP Bleaching Process Effluent. Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 356: 403-410.
- **Dethlefs, F.; Stan, H.-J. (1996b).** Analysis of Pulp Mill EOP Bleaching Process Effluent by Thin-layer Chromatography with Automated Multiple Development (AMD-HPTLC). Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, 24(2): 77-84.

- Dethlefs, F.; Stan, H.-J.; Kalnowski, G. (1995). Chemical and Toxicological Characterization of a Pulp Mill EOP Bleachery Effluent. Vom Wasser, 85: 149-165.
- Durán, N.; Esposito, E.; Innocentini-Mei, L. H.; Canhos, V.P. (1994). A New Alternative Process for Kraft Effluent Treatment: A Combination of Photochemical and Biological Method. Biodegradation, 5: 13-19.
- Durán, N. (1992). Redution of Chemical Oxygen Demand in Bleach Plant Effluent by a Combination of Photochemical and Biological Methods. Proceedings of The Second Brazilian Symposium on The Chemistry of Lignins and Other Wood Components, Campinas, São Paulo, 3: 323.
- Durán, N.; Dezotti, M.; Rodriguez, J. (1991). Biomass Photochemistry. XV: Photobleaching and Biobleaching of Kraft Effluent. Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry, 62: 269.
- Durán, N.; Esposito, E. (1993). Nuevas Técnicas para la Reducción del Impacto Ambiental de la Industria de Celulosa. Química & Industria, 17-23.
- Durán, N.; Esposito, E. (1998). Biodegradação de Lignina e Tratamento de Efluentes por Fungos Ligninolíticos. Microbiologia Ambiental, ed. Melo, I.S; Azevedo, J.L., Embrapa, 12: 269-292.
- Eklund, B.; Linde, M.; Tarkpea, M. (1994). Abstract for Environmental fate and Effects of Bleached Pulp Mill Effluents Conference, Vancouver.
- Esposito, E.; Vanderlei, P.; Canhos, P.; Durán, N. (1991). Screening of Lignin-Degrading Fungi for Removal of Color from Kraft Mill Wastewater with no Additional Extr Carbon-Source. Biotechnology Letters, 13(8): 571.
- Esposito, E.; Vanderlei, P.; Canhos, P.; Durán, N. (1992). Photochemical Pre-treatment of Kraft Effluent: Biobleaching with *Lentinus edodes*. Proceedings of The Second Brazilian Symposium on The Chemistry of Lignins and Other Wood Components, Campinas, Proceedings, 3: 356-361.
- Esposito, E.; Durán, N.; Freer, J.; Baeza, J.; Innocentini-Mei, L. H. (1993). Performance of a modified Packed Bed Reactor to Evaluate Immobilized

Letinus edodes Acting on Kraft Effluent. International Chemical Engineering Conference, Porto. Proceedings, 4: 12-16.

- **Esposito, E. (1992).** Processos Envolvidos no Tratamento Biológico de Efluentes: Utilização de um Bioreator de leito Recheado. Dissertação de mestrado, UNICAMP, Campinas.
- **Esposito, E. (1995).** Tratamento Biológico de Efluentes: Parâmetros ótimos na Utilização de um Bioreator de Leito Recheado Modificado. Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas.
- **Esposito, E.; Innocentini-Mei, L. H.; Durán, N. (1996).** Organochlorides degradation from Kraft Effluent by Immobilized Fungus on Chemically Modified Nylon. Proceedings of The Fourth Brazilian Symposium on The Chemistry of Lignins and Other Wood Components, Recife, Proceedings, 5: 82-86.
- **Faires, L.M. (1986).** Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy. ASM Hand book Materials Characterization, 10:31-42.
- **Fengel, D.; Wegener, G. (1989).** Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions. Walter de Gruyter, Berlin, New York, 297.
- **Ferraz, A.; Christov, L.; Akhtar, M. (1998).** Fungal Pretreatment for Organosolv Pulping and Dissolving Pulp Production. Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry. ed. Young, R.A.; Akhtar, M., John Wiley & Sons, N.Y., cap. 13: 421-447.
- **Folke, J.F.; Renberg, L.; McCubbin, N. (1996).** Environmental Aspects of ECF VS. TCF Pulp Bleaching. Environmental Fate and Effects of Pulp and Paper Mill Effluents, M.R. Servos, K.R. Munkittrick, J.H. Carey and G. Van Der Kraak (ed.), St. Lucie Press, Delray Beach, FL., 681-691.
- **Forrester, I.T.; Brabski, A.C.; Mishra, C.; Kelly, B. D.; Strickland, W.N.; Leatham, G.F.; Burgess, R. R. (1990).** Characteristics and N-terminal Amino Acid Sequence of a Manganese Peroxidase Purified from *Lentinula edodes* Culture Grow on a Commercial Wood Substrate. Applied Microbiology and Biotechnology, 33: 359-365.

- Fox, M.A.; Dullay, M.T. (1993). Heterogeneous Photocatalysis. Chemical Reviews, 93: 341-357.
- Friesen, K. J.; Foga, M.M.; Loewen, M-D (1991). Aquatic Photodegradation of Polychlorinated Dibenzofurans: Rates and Photoproduct. Environmental Science & Technology, 30: 2504-2510.
- Guerra, A.A. (1998). Polimerização de Lignina Solúvel por Polifenoloxidase e peroxidase de Rabanete/H₂O₂. Dissertação de mestrado, FAENQUIL, Lorena.
- Guimarães, J.R. (1990). Determinação do Dióxido de Carbono por FIA. Aplicação em Testes de Toxicidade. Dissertação de Mestrado, UNICAMP, Campinas.
- Heimbürger, S.A.; Blewing, D.S.; Bostwick, J.H. (1991). Kraft Mill Bleach Plant Effluents: Recent Developments Aimed at Decreasing their Environment Impact, Part I. In: Jamell, H. (ed.) bleaching a Tappi Press Anthology, 1987-1990. Atlanta: Tappi, 779: 513-522.
- Hermann, J-M.; Guillard, C.; Pichat, P. (1993). Heterogeneous Photocatalysis: an Emerging Technology for Water Treatment. Catalysis Today, 17: 7-20.
- Hinck, M.L.; Ferguson, J.; Puhaakka, J. (1997). Resistance of EDTA and DTPA to Aerobic Biodegradation. Water Science and Technology, 35(2-3): 25-31.
- Hirvonen, A.; Tuhkanen, T.; Kalliokoski, P.(1996). Treatment of TCE- and PCE- Contaminated Groundwater using UV / H₂O₂ Oxidation Processes. Water Science and Technology, 33: 67 -73.
- Hoffmann, M.R.; Martins, S.T.; Choi, W.; Bahnemann, D.W. (1995). Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis. Chemical Reviews, 95: 69-96.
- Hostachy, J.; Lachenal, D.; Coste, C. (1996a). Ozonation of Pulp Bleaching Effluent to Reduce the Polluting Charge. TAPPI International Environmental Conference Processes, 2: 817.

- Hostachy, J.; Lenon, G.; Pisicchio, J.L.; Coste, C.; Legay, C. (1996b). Redution of Pulp and Paper Mill Pollution by Ozone Treatment. 5th IAWQ Symposium for Industrial Wastewaters, Vancouver, B. C., Canadá, 275.
- Huang, C.P.; Chengdi, D.; Tang, Z. (1993). Advanced Chemical Oxidation: its Present Role and Potential Future in Hazardous waste Treatment. Waste Management, 13: 361-377. *→ para o livro de o livro*
- ISO. International Organization for Standarization (1987). Water Quality. Guidelines for the determination of total organic carbon (TOC). ISO 8245.
- Jardim, W.F.; Pasquini, C.; Guimarães, J.R. (1990). Short-Term Toxicity Test Using *Escherichia coli*: Monitoring CO₂ Production by Flow Injection Analysis. Water Research, 24: 351-354.
- Jeffery, G.H.; Bassett, J.; Mendham, J.; Denney, R. C. (1992). Vogel: Análise Química Quantitativa. 5. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.
- Kahmark, K.A.; Unwin, J. P. (1997). Pulp and Paper Effluent Management. Water Environment Research, 69(4): 641-658.
- Kondo, R. (1998). Waste Treatment of kraft Effluent by White-Rot Fungi. Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry. ed. Young, R.A.; Akhtar, M., John Wiley & Sons, N. Y., cap. 17: 515-539.
- Kopinke, F. D.; Poerschermann, J.; Stottmeister, U. (1995). Environ. Sci. Technol., 29: 941-950.
- Kunz, A.; Mansilla, H.F.J.; Baeza, J.; Durán, N. (1997). Chemical Treatment (ozone) of Dyes Present in Textil Effluents: Toxicity of Intermediate Formed in The Process. Proc. 5nd. Braz. Symp. Chem. Lignins and Other Wood Comp., Curitiba - Pr, VI, 92-98.
- Kunz, A.; Freire, R.S.; Rohwedder, J.R.; Durán, N. (1999). Introdução e Otimização de um Sistema para Produção e Aplicação de Ozônio em Escala de Laboratório. Química Nova, 22(3): 425-428.

- LaFleur, L.E. (1996). Sources of Pulping and Bleaching Derived Chemicals in Effluents. Environmental Fate and Effects of Pulp and Paper Mill Effluents, M.R. Servos, K.R. Munkittrick, J.H. Carey and G. Van Der Kraak (ed.), St. Lucie Press, Delray Beach, FL., 21-31.
- Larisch, B. C.; Duff, S.J.B. (1997a). Effect of H₂O₂ on Characteristics and Biological Treatment of TCF Bleached Pulp Mill Effluent. Water Research, 31(7): 1694-1700.
- Larisch, B. C.; Duff, S.J.B. (1997b). Effect of H₂O₂ and DTPA on The Characteristics and Treatment of TCF (Totally Chlorine-Free) and ECF (Elemental Chlorine-Free) Kraft Pulping Effluents. Water Science and Technology, 35(2-3): 163-171.
- Legrini, O.; Oliveros, E.; Braun, A.M. (1993). Photochemical Processes for Water Treatment. Chemical Reviews, 93: 671-698.
- Mansilla, H.; Villaseñor, J.; Maturana, G.; Baeza, J.; Freer, J.; Durán, N. (1994). ZnO-Catalyzed Photodegradation of Kraft black Liquor. Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry, 78: 267.
- Massai, L.R.; Esposito, E.; Huan, M.; Durán, N. (1997). Degradação de Fenol e Guaiacol dos efluentes Kraft E1 e Final Ef pelo Fungo *Lentinus (lentinula) edodes*. Anais I Reunião Nacional de Microbiologia Aplicada ao Meio Ambiente, 1: 159-162.
- Masten, S.J.; Davis, S.H.R. (1994). The Use of Ozonation to degrade Organic Contaminants in Wastewater. Environmental Science and Technology, 28(4): 181A-185A.
- Milagres, A.M.F. (1988). Alguns Aspectos da Regulação de *B*-xilanases extracelulares de *Penicillium janthinellum*. Dissertação de Mestrado, Viçosa, UFV.
- Milagres, A.M.F.; Lacis, L.S. (1991). Efficient Screening of Process Variables in *Penicillium janthinellum* Fermentation. Biotechnology Letters, 13(2): 113-118.
- Mills, G.; Hoffmann, M.R. (1993). Photocatalytic Degradation of Pentachlorophenol on TiO₂ Particles: Identification of Intermediates and

Mechanism of Reaction. Environmental Science and Technology, 27: 1681-1689.

- **Minero, C.; Pelizzetti, E.; Pichat, P.; Zega, M.; Vicenti, M. (1995).** Formation of Condensation Products in Advanced Oxidation Technologies: The Photocatalytic Degradation of Dichlorophenols on TiO₂. Environmental Science and Technology, 29: 2226-2234.

- **Morales, A.; Birkholz, D.A.; Hrudef, S.E. (1992).** Analysis of Pulp Mill Effluent Contaminants in water, sediment, and fish Bile - Fatty and Resin Acids. Water Environment Research, 64: 660-668.

- **Mörck, R.; Reimann, A.; Dahlman, O. (1995).** Studies on High Molecular Weight Effluent Materials from TCF Bleaching of Softwood and Hardwood Kraft Pulps. 8th International Symposium on Wood and Pulping Chemistry, Helsinki, Finland, June 6-9, 737-744.

- **Munteer, A. H.; Colodette, J.L.; Gomide, J.L.; Campos, A. S. (1992).** Alternativas para o branqueamento sem cloro molecular. O Papel, 25-35.

- **Nakamura, Y.; Sawada, T.; Kobayashi, F.; Godliving, M. (1996).** microbial Treatment of Kraft Pulp Wastewater Pretreated with Ozone. 5th IAWQ Symposium For Industrial Wastewaters, Vancouver, B. C., Canadá, 291.

- **Nelson, P.J. (1998).** Elemental Chlorine Free (ECF) and Totally Chlorine Free (TCF) Bleaching of Pulps. Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry, ed. Young, R.A.; Akhtar, M., John Wiley & Sons, N. Y., cap. 7: 215-256.

- **Niku-Paavola, M.-L.; Karhunen, E.; Salola, M.; Raunio, V. (1988).** Ligninolytic Enzymes of the White-Rot Fungus *Phlebia radiata*. Biochemical Journal, 254: 977-984.

- **Nogueira, R.F.P. (1995).** Fotodestruição de Compostos Potencialmente Tóxicos Utilizando TiO₂ e Luz Solar. Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas.

- **O'Connor, B.I.; Kovacs, T.G.; Voss, R.H.; Martel. (1993a).** A Study of The Relationship Between Laboratory Bioassay Response and AOX Content for Pulp Mill effluents. Journal of Pulp and Paper Science, 19(1): j33-j39.

- O'Connor, B.I.; Kovacs, T.G.; Voss, R.H.; Martel, P.H.; Van Lierop, B. (1993b). A Laboratory Assessment of The Environmental Quality of Alternative Pulp Bleaching Effluents. Proceedings Int'l Environmental Symposium EUCEPA, vol 1, Paris, France, April, 273. Centre Technique du Papier, Grenoble, France, 1:273-297.

- Peck, V.; Daley, R. (1994). Toward a "Greener" Pulp and Paper Industry. Environmental Science and Technology, 28(12): 524A-527A.

- Peralta-Zamora, P.; Esposito, E.; Reyes, J.; Durán, N. (1997). Remediação de Efluentes Derivados da Indústria de Papel e Celulose. Tratamento Biológico e Fotocatalítico. Química Nova, 20(2): 186-190.

- Peralta-Zamora, P.; Moraes, S.G.; Reyes, J.; Durán, N. (1996). Heterogeneous Photocatalysis Treatment of Kraft and Textil Effluents using Semiconductors (ZnO and Polyanilines). Polymer Bulletin, 37(4): 531-537.

- Peralta-Zamora, P.; Moraes, S.G.; Pellegrini, R.; Freire, M. Jr.; Mansilla, H.; Reyes, J.; Durán, N. (1996). Evaluation of ZnO, TiO₂ and Supported ZnO on The Photoassisted Remediation of Black Liquor, Cellulose and Textile Mill effluents. Chemosphere, 36: 2113-2133.

- Pichat, P. (1994). Partial or Complete Heterogeneous Photocatalytic Oxidation of Organic Compounds in Liquid Organic or Aqueous Phases. Catalysis Today, 19: 313-334.

- Pulgarin, C.; Ribordy, P.; Kiwi, J.; Péringer, P. (1996). Electrochemical Vs. Photochemical Pretreatment of Industrial Wastewaters. Proceedings International Conference - Oxidation Technologies for Water and Wastewater treatment, A. Vogelpohl - ed., 23.

- Rebolledo, G.W. (1989). Dioxinas y dibenzofuranos policlorados em la celulose el papel. Celulose y Papel, Concepcion, 5(5): 28-32.

- Reeve, D.W.; Earl, P.F. (1991). Chlorinated Organic matter in Bleached Chemical Pulp Production: Part I - Environment Impact and Regulation of Effluents. In: Jamell, H. (ed.) bleaching a Tappi Press Anthology, 1987-1990. Atlanta: Tappi, 779: 550-555.

- Reid, I.D. (1998). Bleaching Kraft Pulps with White-Rot Fungi. Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry. ed. Young, R.A.; Akhtar, M., John Wiley & Sons, N. Y., cap. 16, 505-514.
- Rice, R.G. (1997). Applications of Ozone for Industrial Wastewater Treatment - A Review. Ozone Science & Engineering. 18: 477-515.
- Rintala, J. A.; Punhaka, J. A. (1994). Bioresource Technology, 47: 1.0
- Ristolainen, M.; Alén, R.; Knuutinen, J. (1996). Characterization of TCF Effluents from Kraft Pulp bleaching. I. Fractionation of Hardwood Lignin-Derived Material by GPC and UF. Holzforschung, 50(1): 91-96.
- Ristolainen, M.; Alén, R. (1997). Characterization of TCF Effluents from Softwood Kraft Pulp Bleaching. 9th International Symposium on Wood and Pulp Chemistry. Canadá, june 9-12, 95-1-4.
- Ristolainen, M.; Alén, R. (1998). Characterization of Effluents from TCF Bleaching of Hardwood Kraft Pulp. Journal of Pulp and Paper Science, 24(4): 129-133.
- Rocha, G.J.M.; Silva, F.T.; Schuchardt, U. (1993). Improvement of a Rapid UV Spectrophotometric Method for Determination of Lignin in Alkaline Solutions. Proceedings of The Third Brazilian Symposium on the Chemistry of Lignins and Other Wood Components. Belo Horizonte, M.G., setembro 8-10, Programme and Abstracts, p.73.
- Rodriguez, J.; Fuentes, S.; Freer, J.; Baeza, J.; Mendez, P.; Banenechea, C. (1996). Informe Final. Laboratorio de Recursos Renovables. Universidad de Concepcion (Chile).
- Rodriguez, J.; Fuentes, S.; Freer, J.; Mansilla, H.; Ferraz, A.; Baeza, J. (1998). Response to Ozonation of Different Cellulose Pulp Bleaching Effluents. Environmental Technology, 19: 1-7.
- Roy-Arcand, L.; Archibald, F. (1996a). Ozonation as a Treatment for mechanical and Chemical Pulp Mill Effluents. Ozone-Science & Engineering, 18(4): 363-384.

- Roy-Arcand, L.; Archibald, F. (1996b). Selective Removal of Resin and Fatty Acids from Mechanical Pulp Effluents by Ozone. Water Research, 30: 1269.
- Roy-Arcand, L.; Archibald, F. (1993). Effect of Time , Daylight and Settling Pond Microorganisms on The High Molecular Weight Fraction of Kraft Bleachery Effluents. Water Research, 27: 873.
- Rounsaville, J.; Rice, R.G. (1997). Evolution of Ozone for The Bleaching of Paper Pulps. Ozone-Science & Engineering, 18: 549-566.
- Sant'Anna, G.L. (1992). Biological treatment of Pulp and Paper Industrial Wastewater: processes and Bioreactors. Proceedings of The Second Brazilian Symposium on The Chemistry of Lignins and Other Wood Components, Campinas, 3: 297-314.
- Sawada, T.; Kuwahara, M.; Nakamura, Y.; Kobayashi, F.; Orikasa, H.; Ohnaga, M.; Srebotnik, E.; Messner, K. (1996). Treatment of Kraft Pulp wastewater by Using Ozone and Microorganisms in Combination. Proceedings of The 6th International Conference on Biotechnology in The Pulp and Paper Industry: Recent Advance in Applied and Fundamental Research, Vienna, Aust., 275.
- Saunamäki, R. (1995). Treatability of Wastewaters from Totally Chlorine-Free Bleaching. Tappi Journal, 78(8): 185-192.
- Scott, J. P.; Ollis, D. F. (1995). Integration of Chemical and Biological Oxidation Processes for Water Treatment: Review and Recommendations. Environmental Progress, 14(2): 88-103.
- Shen, Y.; Ku, Y.; Lee, K. (1995). The Effect of Light Absorbance on the Decomposition of Chlorophenols by Ultraviolet Radiation and UV / H₂O₂ Processes. Water Research, 29, 907-914.
- Silva, F.T. (1995). Obtenção de Insumos Químicos a partir do Aproveitamento Integral do Bagaço de Cana. Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas.
- Stauber, J.; Gunthorpe, L.; Woodworth, J.; Munday, B.; Krassoi, R.; Simon, J. (1996). Comparative Toxicity of Effluents from ECF and TCF Bleaching of Eucaliptus Kraft Pulps. Appita, 49(3): 184-188.

- Stockinger, H.; Heinze, E.; Kut, O. (1995). Removal of Chloro and Nitro Aromatic Wastewater Pollutants by Ozonation and Biotreatment. Environmental Science and Technology, 29: 2016-2022.
- Sundquist, J. (1994). Paperi Ja Puu - Paper and Timber, 76: 22-26.
- Szklarz, G.D.; Antibus, R.K.; Sinsabaugh, R.L.; Linkins, A.E. (1989). Production of Phenol Oxidases and Peroxidases by Wood-rooting fungi. Mycologia, 8(2): 234-240.
- Vanegas, C.; Espina, S.; Botello, A.V.; Villanueva, S. (1997). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 58: 87-92.
- Verta, M.; Ahtiainen, J.; Nakari, T.; Langi, A.; Talka, E. (1996). The Effect of Waste Constituents on The Toxicity of TCF and ECF Pulp Bleaching Effluents. Environmental Fate and Effects of Pulp and Paper Mill Effluents, M.R. Servos, K.R. Munkittrick, J.H. Carey and G. Van Der Kraak (ed.), St. Lucie Press, Delray Beach, FL., 41-51.
- Villaseñor, J.; Mansilla, H.D. (1996). Effect of Temperature on Kraft Black Liquor Degradation by Zn-photoassisted Catalysis. Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry, 93: 205-209.
- Wallis, A. F.A. e Wearne, R.H. (1994). Characterization of the High Molar Mass Organic material in Filtrates from Bleaching Eucalyptus Kraft Pulps. Appita, 47(4): 309-314.
- Zeltner, W. A.; Hill, C.G.; Anderson, M.A. (1993). Chemtech, 23: 21.
- Zini, C.A. (1993). Análise de dioxinas. O Papel, 26-34.
- Ziolli, R.L.; Jardim, W.F. (1998). Mecanismo de Fotodegradação de Compostos Orgânicos Catalisada por TiO₂. Química Nova, 21(3): 319-325.

APÉNDICE

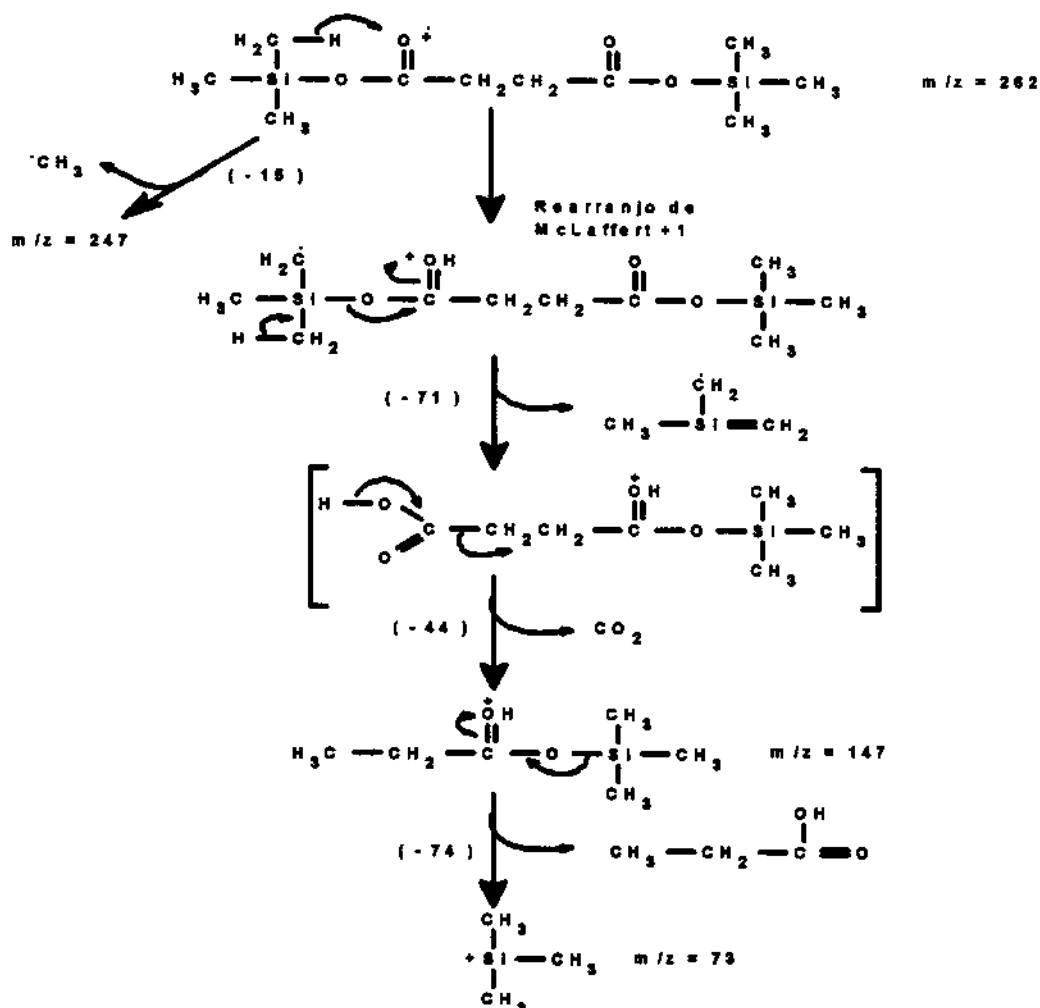
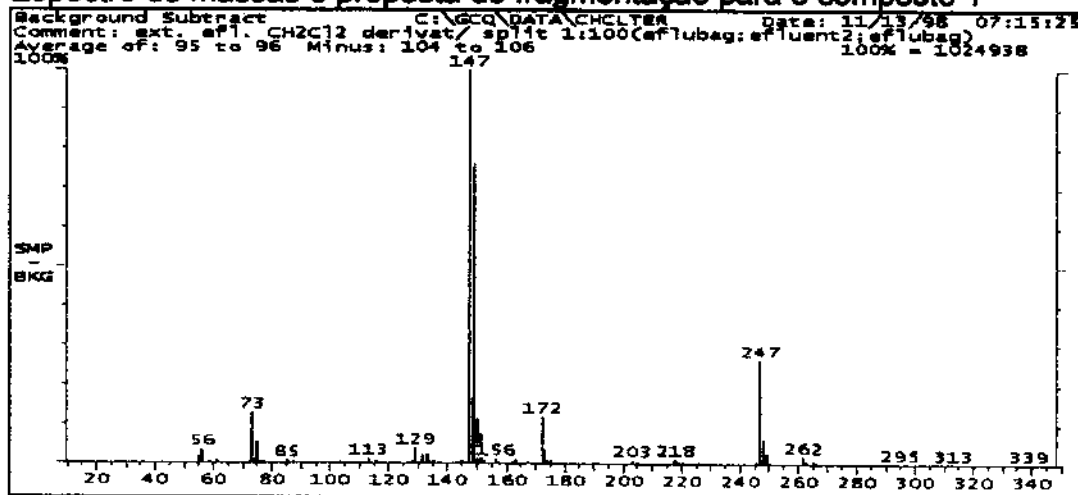
Apêndice 1

Composição do meio de cultura ISO 8692 para o ensaio com a alga *Scenedesmus subspicatus*.

Sais Nutrientes	Meio ISO
Solução estoque 1: maro-nutrientes	
(mg.L⁻¹)	
CaCl ₂ .2H ₂ O	18,0
MgCl ₂ .6H ₂ O	12,0
MgSO ₄ .7H ₂ O	15,0
NH ₄ Cl	15,0
KH ₂ PO ₄	1,6
Solução estoque 2: Fe-EDTA	
(µg.L⁻¹)	
FeCl ₃ .6H ₂ O	80
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	100
Solução estoque 3: elementos traço	
(µg.L⁻¹)	
H ₃ BO ₃	185
MnCl ₂ .4H ₂ O	415
CuCl ₂ .2H ₂ O	0,01
ZnCl ₂	3,0
CoCl ₂ .6H ₂ O	1,5
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	7,0
Solução estoque 4: NaHCO₃	
(mg.L⁻¹)	
NaHCO ₃	50,0

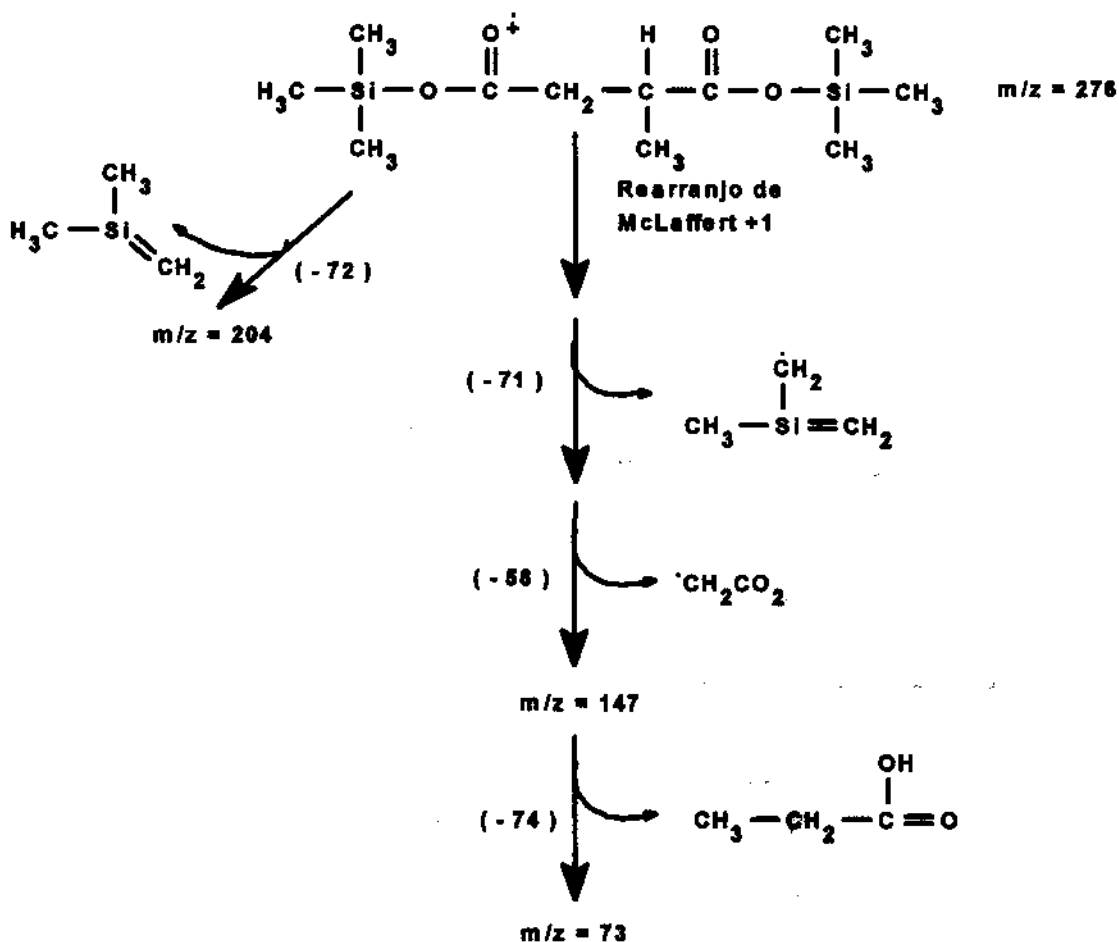
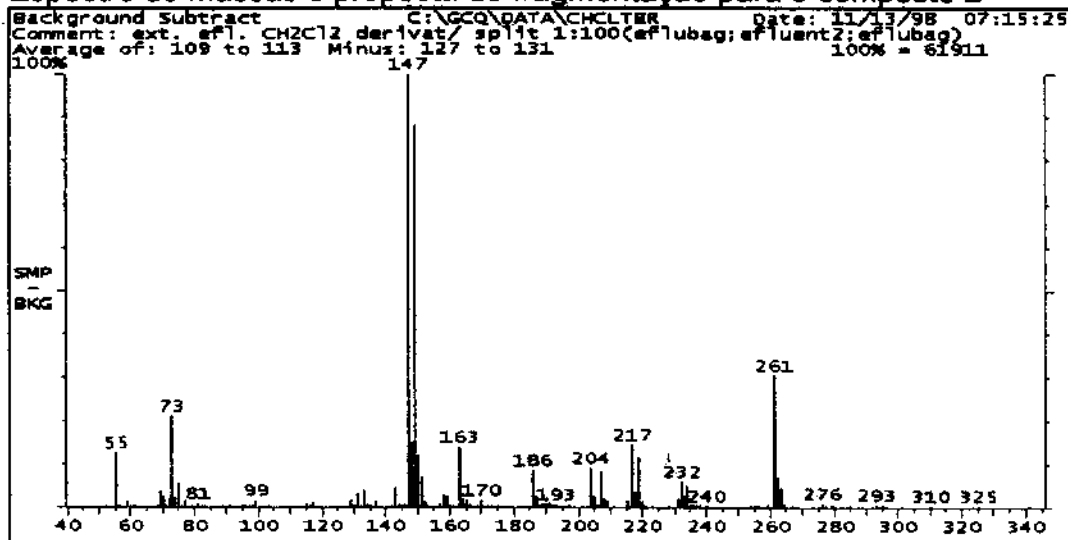
Apêndice 2

Espectro de massas e proposta de fragmentação para o composto 1



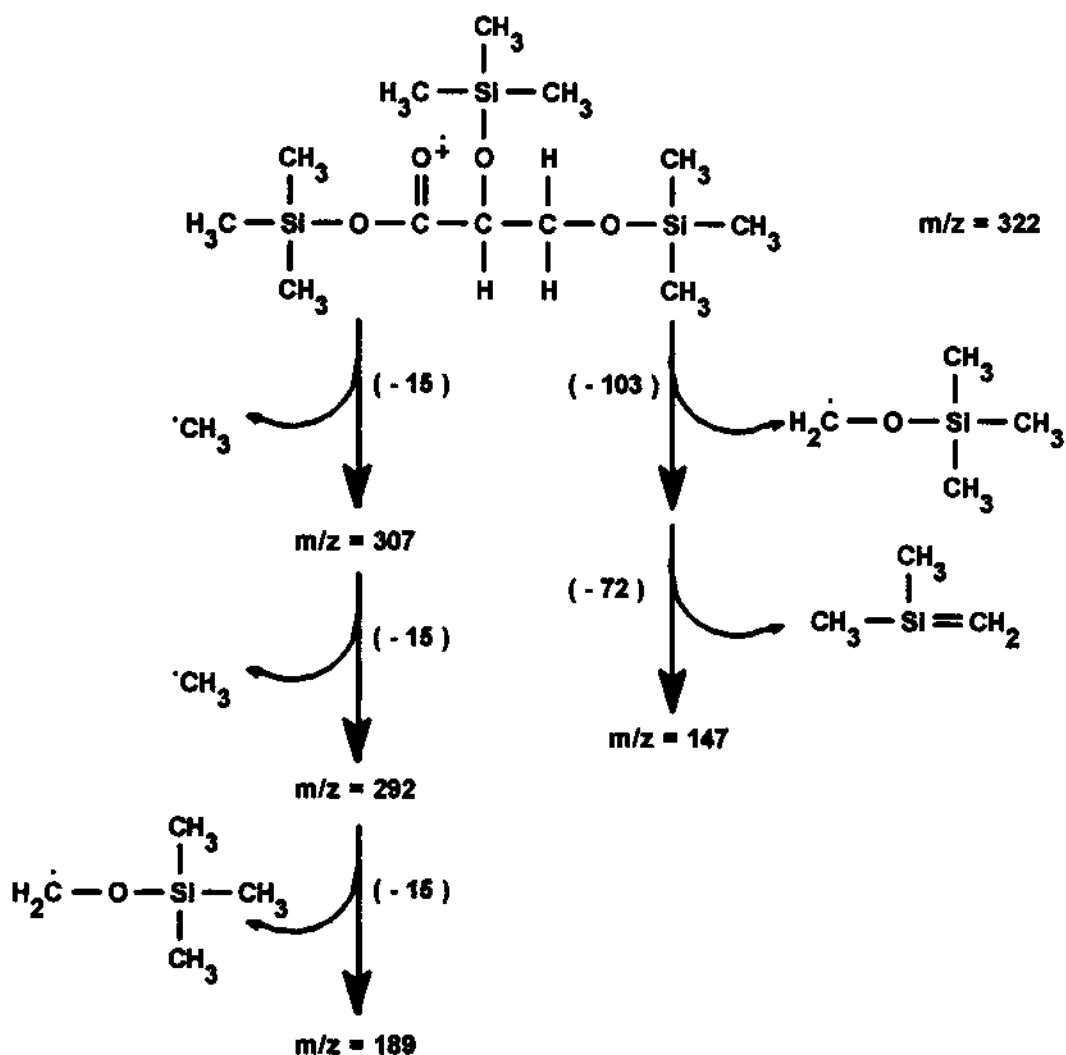
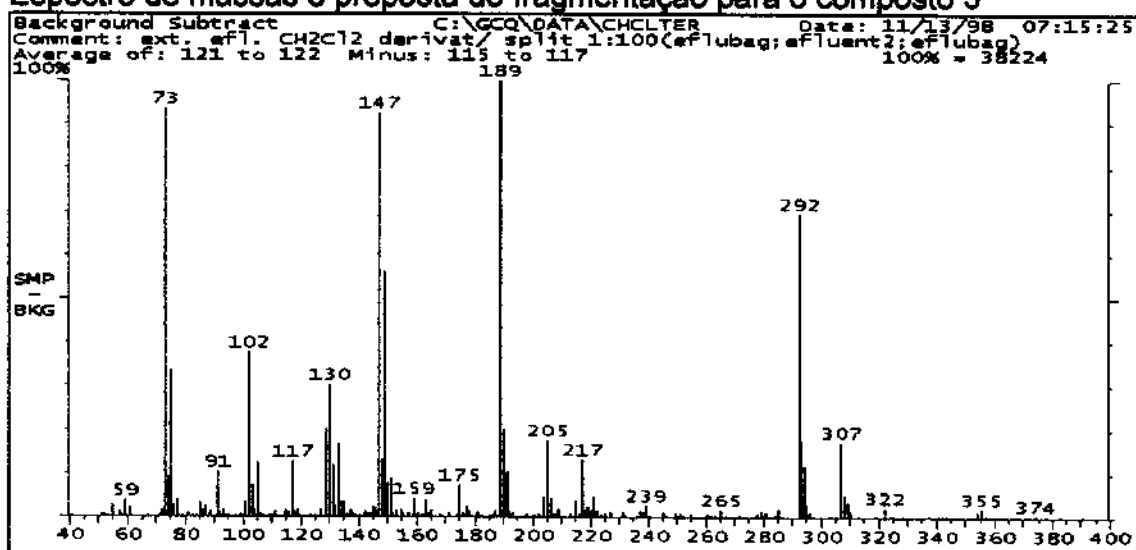
Apêndice 2 (cont.)

Espectro de massas e proposta de fragmentação para o composto 2



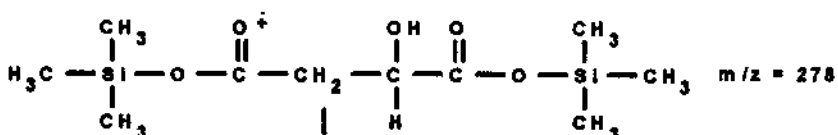
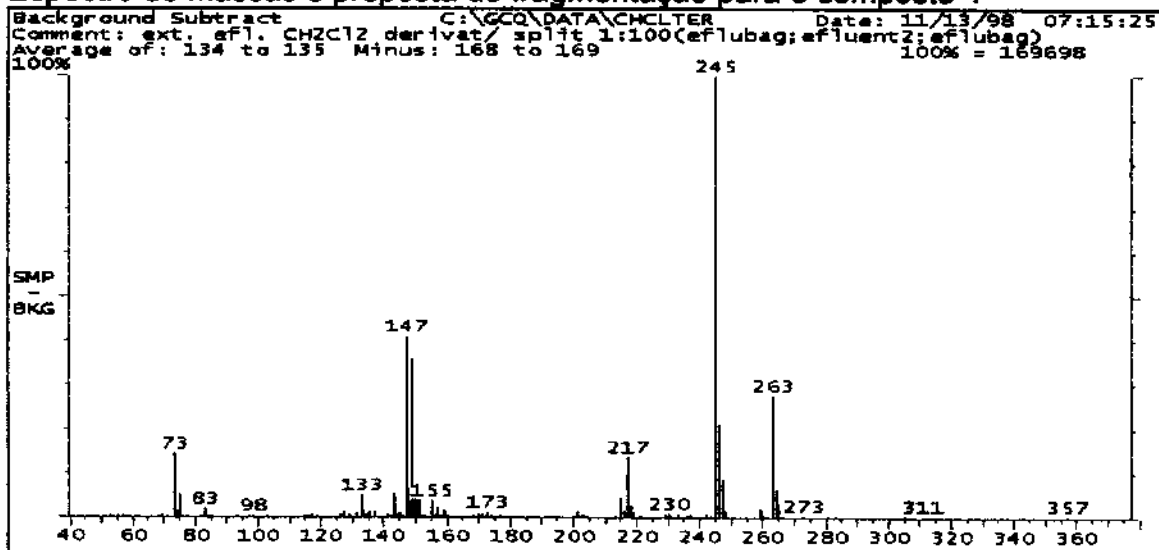
Apêndice 2 (cont.)

Espectro de massas e proposta de fragmentação para o composto 3

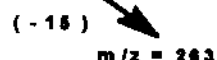
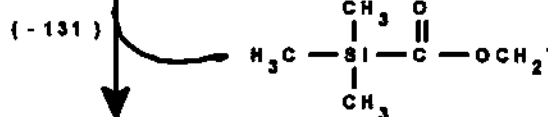
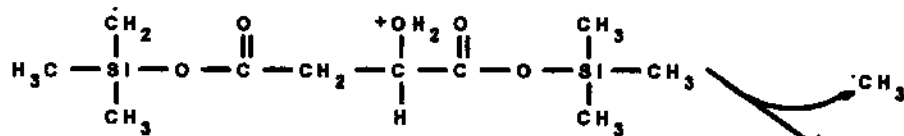
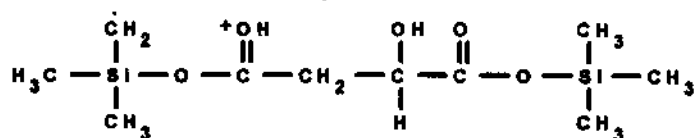


Apêndice 2 (cont.)

Espectro de massas e proposta de fragmentação para o composto 4

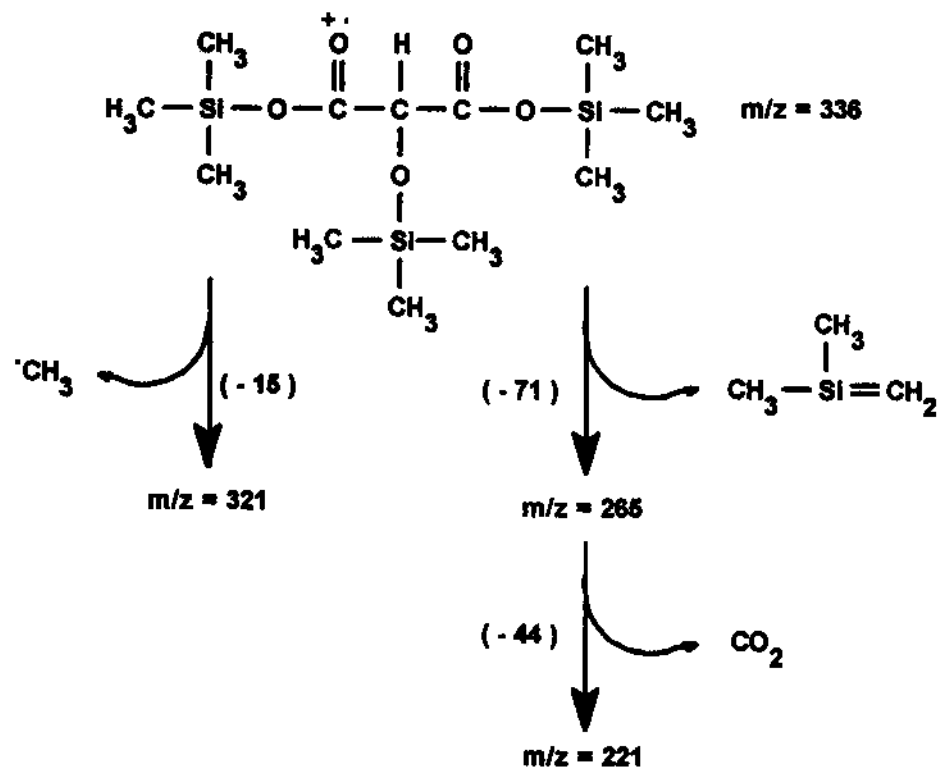
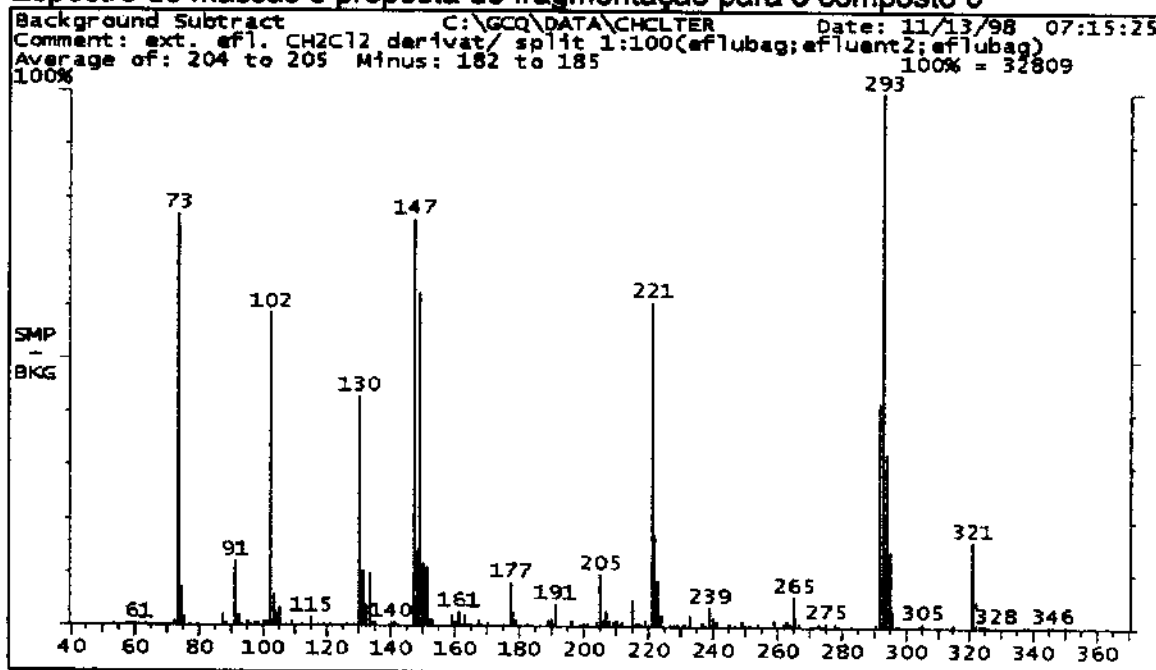


Rearranjo de
McLaffert +1



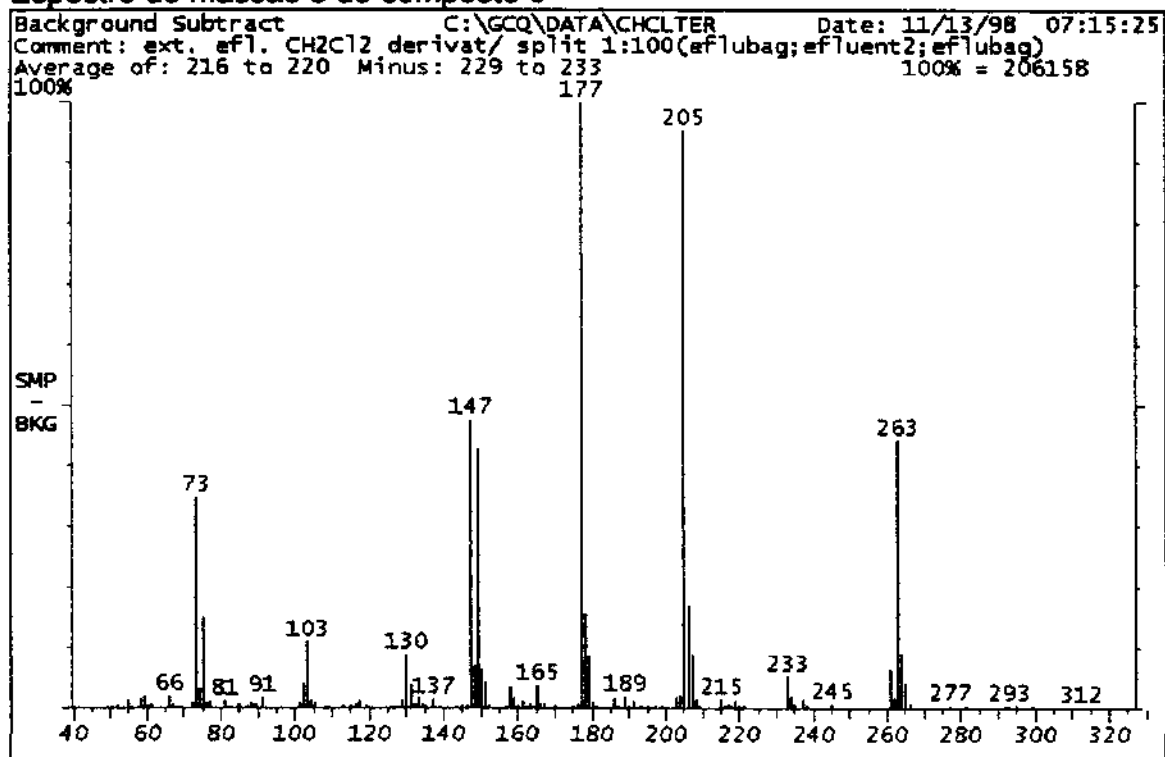
Apêndice 2 (cont.)

Espectro de massas e proposta de fragmentação para o composto 5



Apêndice 2 (cont.)

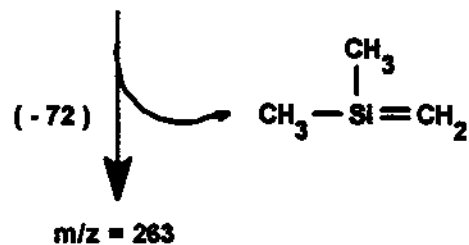
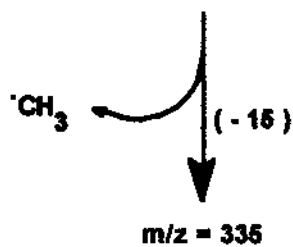
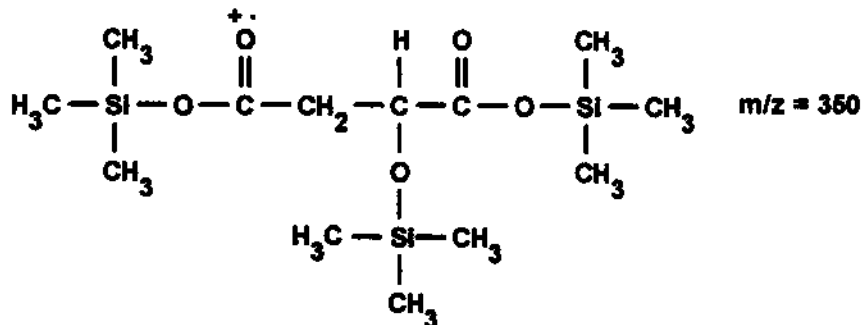
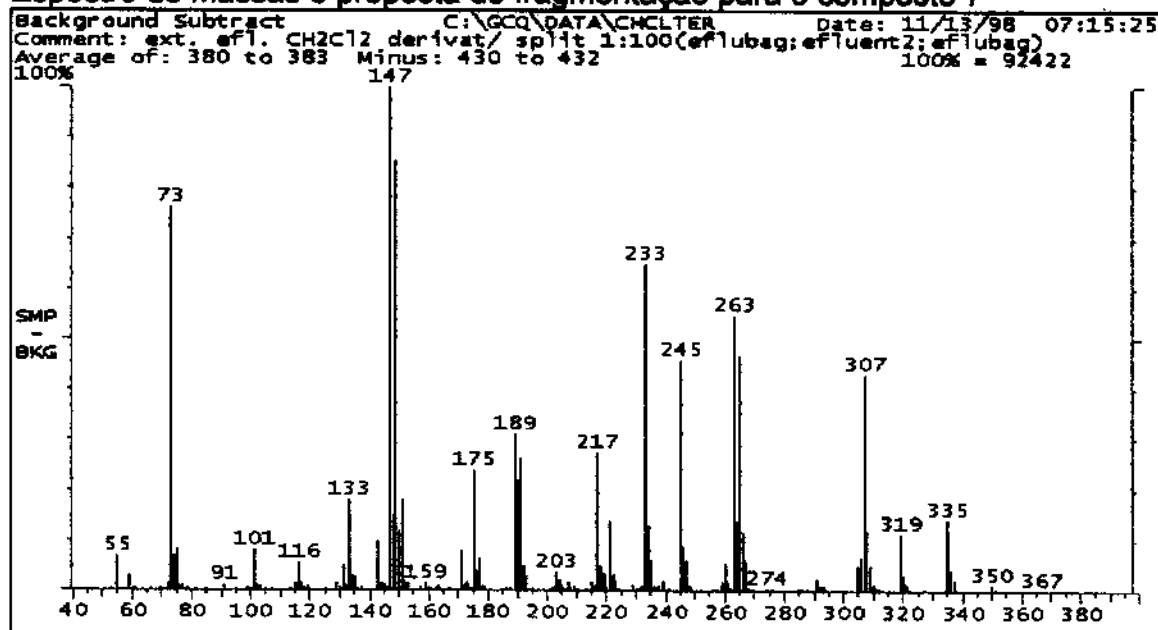
Espectro de massas e do composto 6



Composto não identificado

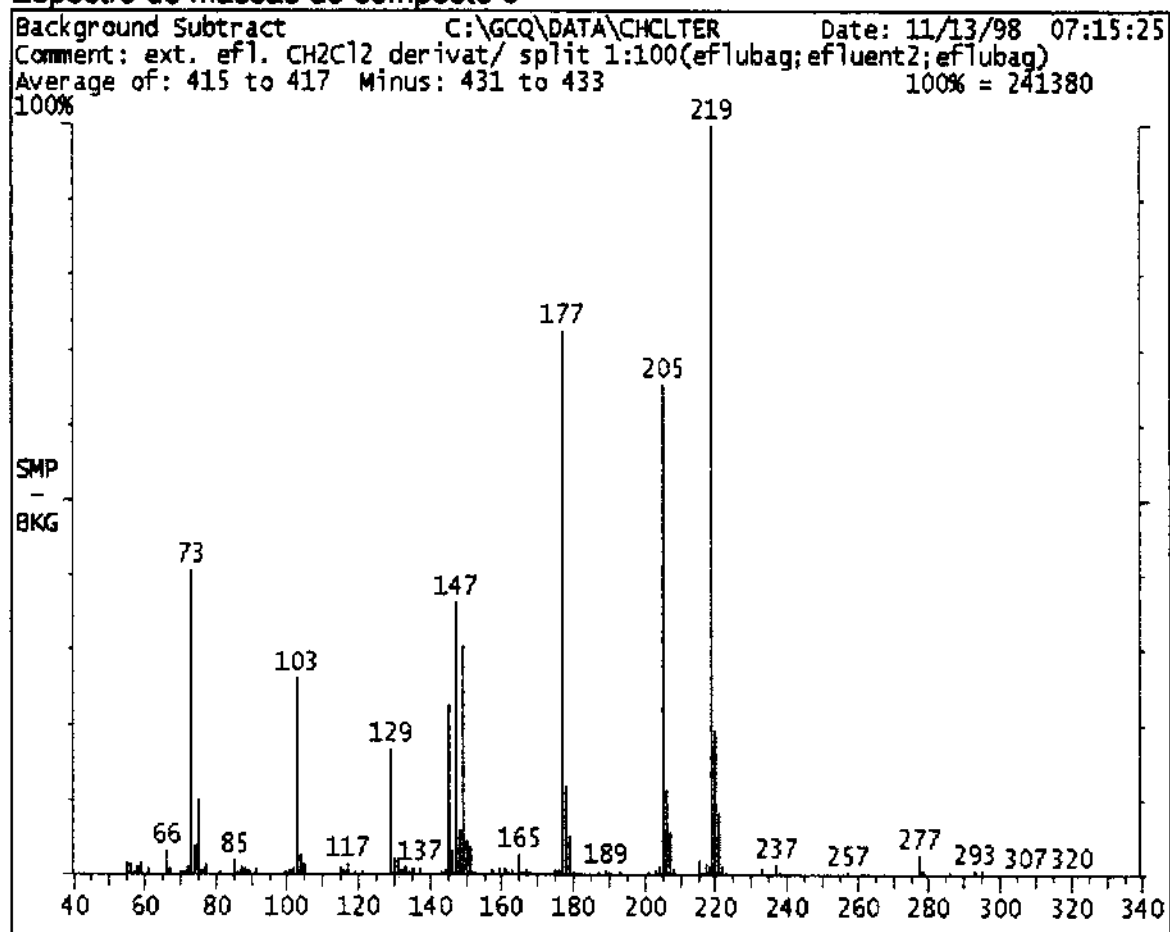
Apêndice 2 (cont.)

Espectro de massas e proposta de fragmentação para o composto 7



Apêndice 2 (cont.)

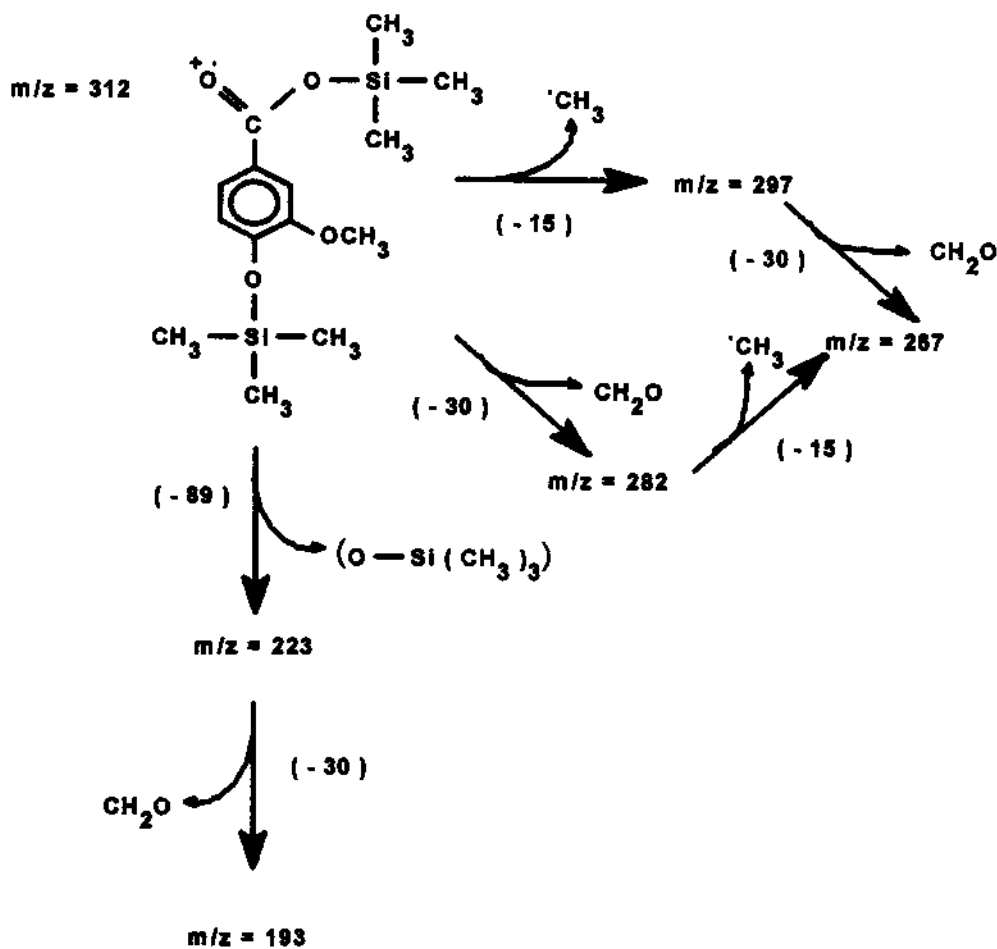
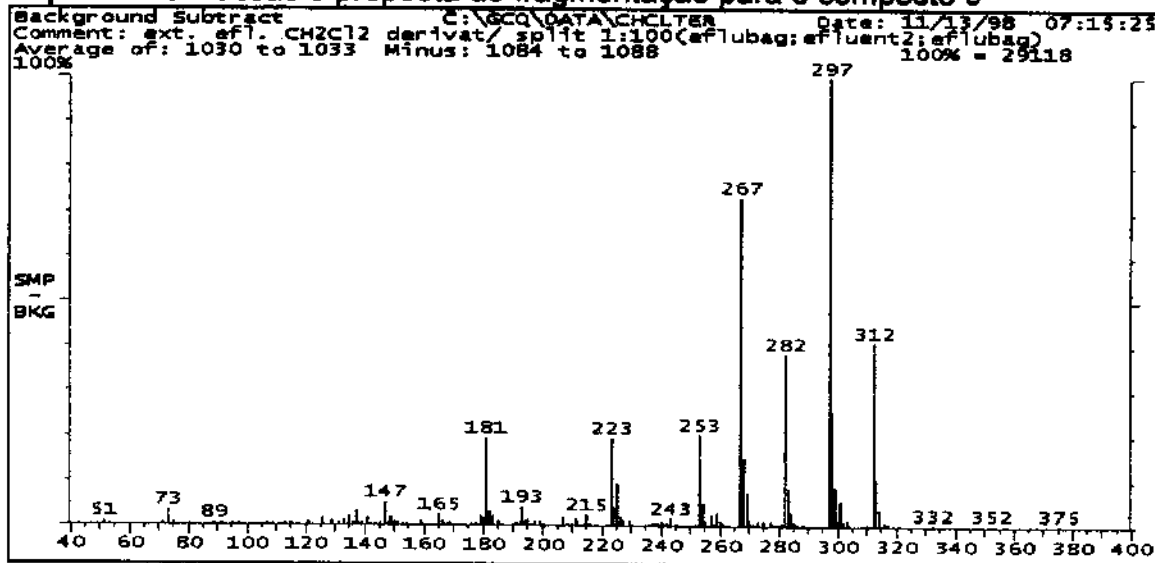
Espectro de massas do composto 8



Composto não identificado

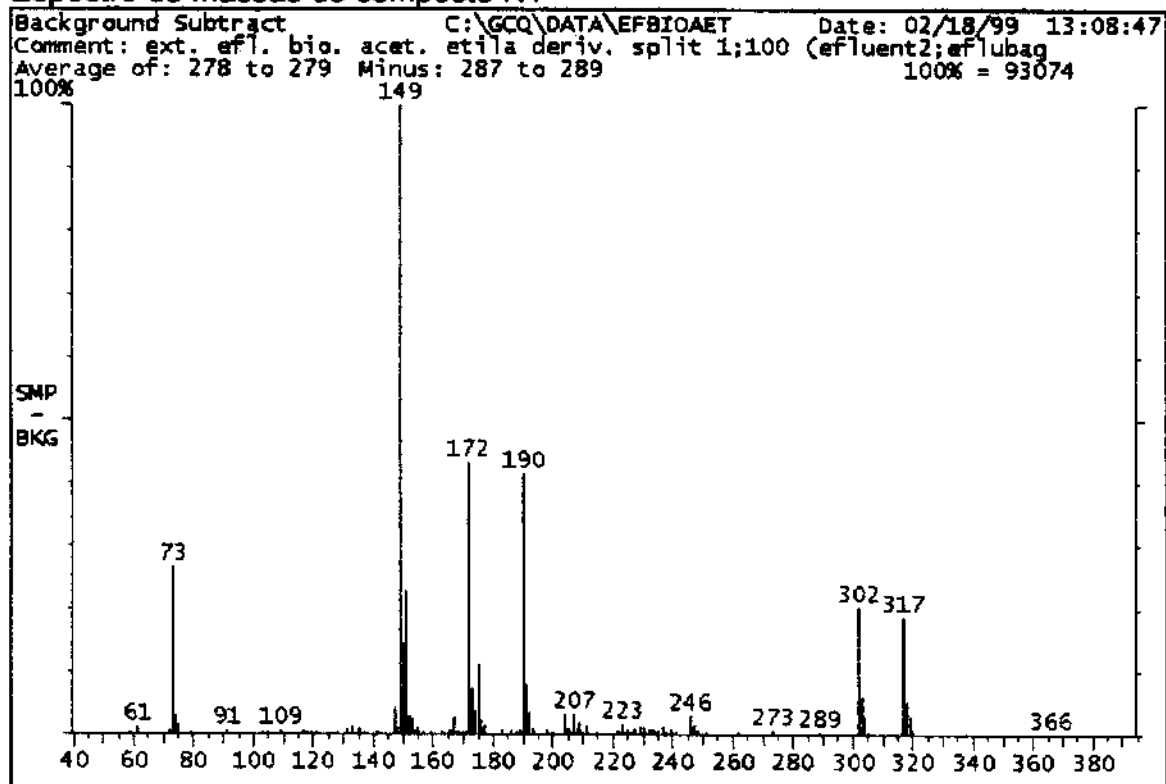
Apêndice 2 (cont.)

Espectro de massas e proposta de fragmentação para o composto 9



Apêndice 2 (cont.)

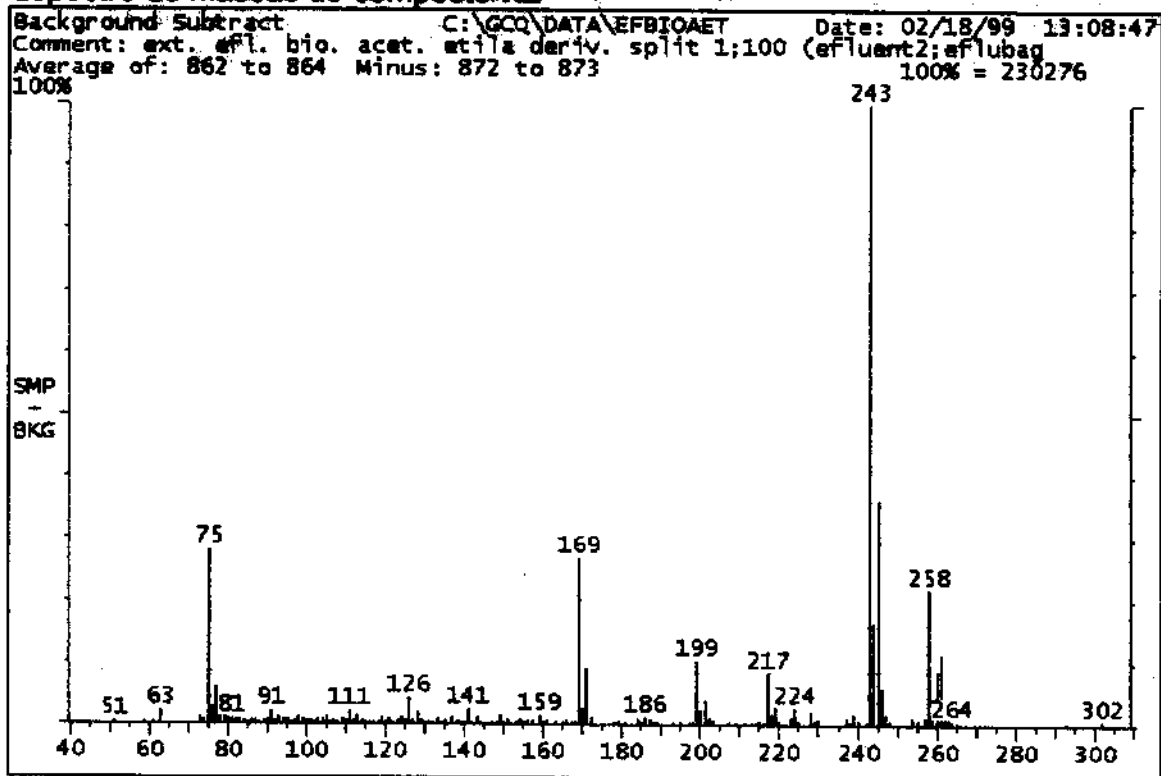
Espectro de massas do composto N1



Composto não identificado

Apêndice 2 (cont.)

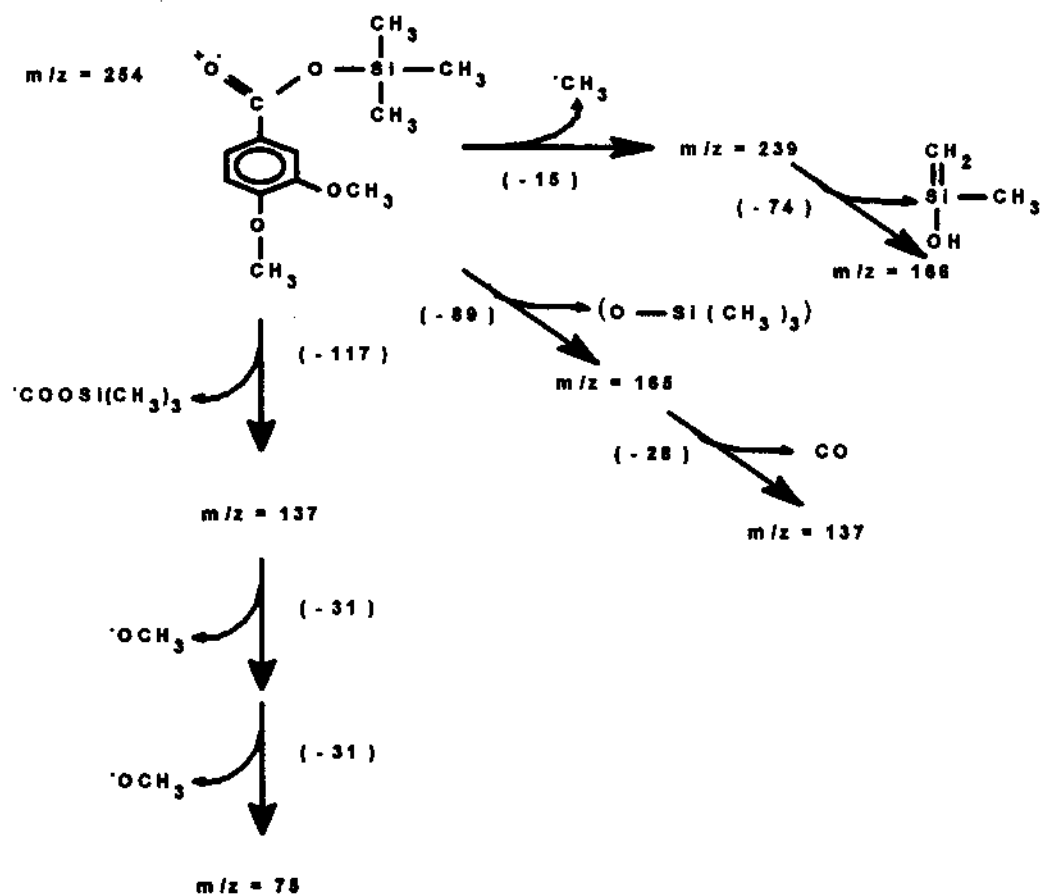
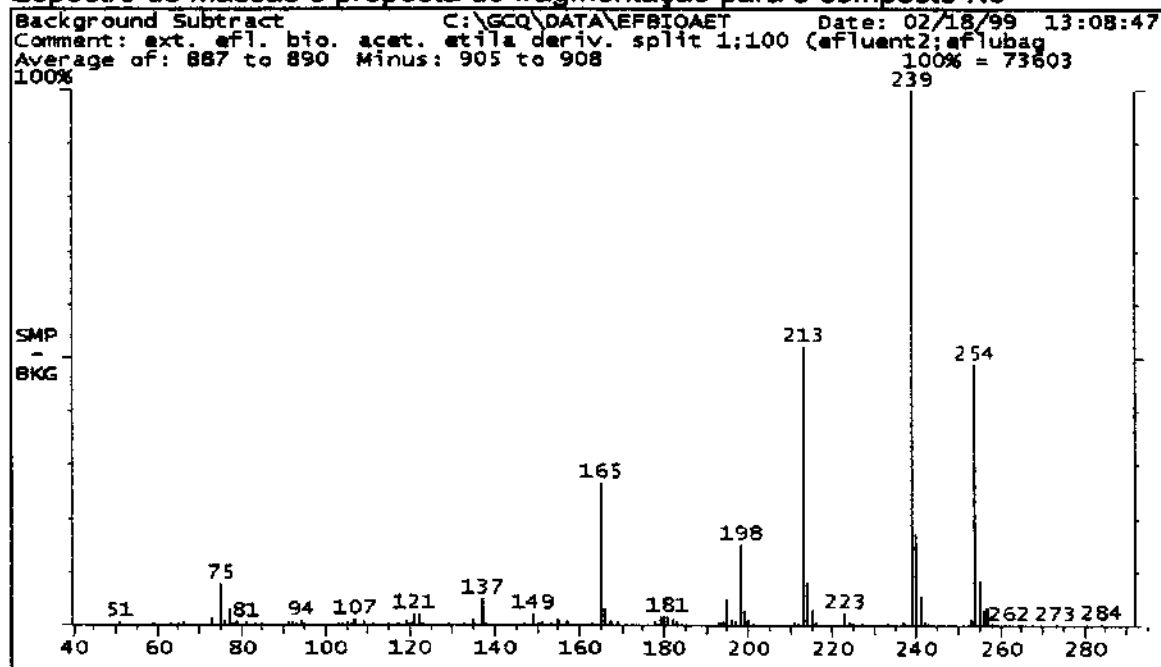
Espectro de massas do composto: N2



Composto não identificado

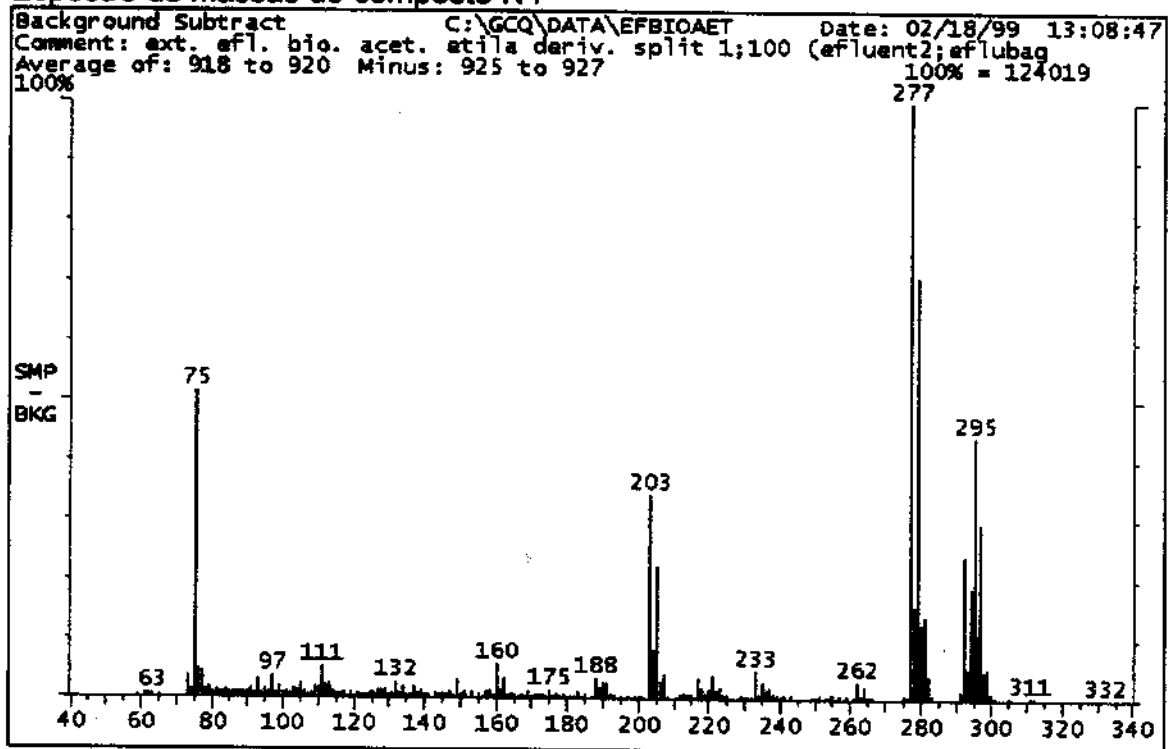
Apêndice 2 (cont.)

Espectro de massas e proposta de fragmentação para o composto N3



Apêndice 2 (cont.)

Espectro de massas do composto N4



Composto não identificado