

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

**PROCESSO FOTOCATALÍTICO COMBINADO COM
SISTEMAS BIOLÓGICOS NO TRATAMENTO DE
EFLUENTES TÊXTEIS**

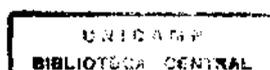
Tese de Doutorado

SANDRA GOMES DE MORAES

Orientador: Prof. Dr. Nelson Eduardo Durán Caballero

CAMPINAS

1999



8949.00006

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

M791p Moraes, Sandra Gomes de
Processo fotocatalítico combinado com sistemas biológicos
no tratamento de efluentes têxteis / Sandra Gomes de
Moraes. – Campinas, SP: [s.n.], 1999.

Orientador: Nelson Eduardo Durán Caballero.

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

1. Efluente têxtil. 2. Remediação. 3. Processo biológico.
4. Processo fotoquímico. I. Durán Caballero, Nelson
Eduardo. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto
de Química. III. Título.

UNIDADE	IQ
N.º CHAMADA:	TIUNICAMP
	M791p
V.	Ex.
TOMBO DE	41049
N.º	278100
	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	27/04/00
N.º CPD	

CM-00141281-5

Sandra Gomes de Moraes

**PROCESSO FOTOCATALÍTICO COMBINADO COM
SISTEMAS BIOLÓGICOS NO TRATAMENTO DE
EFLUENTES TÊXTEIS**

**Combined photochemical and biological processes for remediation of effluents
from the textile industry**

*Ao meu Pai, à minha Mãe
e ao Edgar.
Dedico para vocês esta Tese.*

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Nelson Durán pela orientação, profissionalismo durante o desenvolvimento desta tese, e principalmente, pela pessoa amiga e compreensiva que aceita nossas deficiências e ajuda-nos a superá-las.

Aos amigos do laboratório Ana Olívia, Airton (Skin), Mariângela (Burgus) e Mariângela (Santiago), Natália, Raquelsinha, Josy, Dárcio, Pedro, Daniel, Teresa, Ronaldo e Rosana, pela agradável convivência e amizade durante todos estes anos.

Ao Prof. Dr. Juan, pelas agradáveis conversas, amizade e disposição em nos ceder o espaço físico de seu laboratório para eu poder desenvolver a tese.

À Elisa, pela amizade, compreensão, e por toda a experiência e suporte na parte de microbiologia.

À amiga Bell Bueno, por todo carinho e incentivo em cada palavra.

Ao grande amigo Anselmo, pela agradável convivência nestes anos todos e por estar sempre a disposição para ajudar.

Ao Renato e Patrício pela amizade e grande colaboração nas discussões da tese.

À querida Livia pelo empenho e responsabilidade de trabalho durante seu estágio.

À Silvana, Buba e ao Rinaldo por saberem me ouvir e compreender mesmo nas horas difíceis de nossas vidas.

Ao Francisco Adão (Chico), pela ajuda no laboratório todos estes anos, e pela amizade conquistada dia a dia.

Aos amigos, Marcos (Mola) e Cleci, Ricardo (Bóia) e Cláudia, Alana, Adriano, Sílvio, Adriana e Denis, Carla e Maurício, Marcelo (Doca), Bira e Eliane, Luiz, Elias, Sebastião e Lorena, Claudia Martelli, Anderson G. Coser, e a todos com quem convivi nestes últimos anos não cito seus nomes, mas estão presentes neste momento.

Ao Prof. Dr. Jaime Baeza pela oportunidade concedida em trabalhar no Laboratório de Recursos Renováveis em Concepción, Chile, e ao Prof. Dr. Hector Mansilla pela orientação, dedicação e amizade.

Aos amigos Carolina, Samuel e Cristina, pela atenção, carinho e agradável convivência no Chile.

Ao CNPq e a FAPESP pelo suporte financeiro.

Aos funcionários do Instituto de Química que, direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada.

RESUMO

Processo Fotocatalítico Combinado com Sistemas Biológicos no Tratamento de Efluentes Têxteis

Autor : Sandra Gomes de Moraes

Orientador : Prof. Dr. Nelson Eduardo Durán Caballero

Neste trabalho de pesquisa estudou-se o potencial de um sistema de tratamento que combina processos fotoquímicos e biológicos, visando a remediação de efluentes provenientes da indústria têxtil. Os processos fotoquímicos consistiram na fotocatalise heterogênea, fundamentada na utilização de luz ultravioleta e semicondutores livres e imobilizados (TiO_2 e ZnO). Os processos biológicos envolveram a utilização de fungos de decomposição branca (*P. chrysosporium*, *T. villosa*, *T. versicolor*, *L. edodes*), fungo de decomposição marron (*G. trabeum*) e bactérias (*A. vinelandii* e *P. fluorescência*), microorganismos com reconhecida capacidade para a produção de enzimas ligninolíticas (lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase) e sideróforos. Os processos enzimáticos foram conduzidos com a enzima livre e imobilizada, sendo necessário para isto a realização de estudos de imobilização em suportes diversos.

A eficiência dos processos isolados e combinados foi avaliada em função de diversos parâmetros experimentais: teor de carbono orgânico total, cor e toxicidade. O controle analítico dos processos foi realizado por cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia de permeação em gel, enquanto que a toxicidade foi avaliada através de bioensaios utilizando a bactéria *Escherichia coli* e a alga *Scenedesmus subspicatus*.

Nos estudos envolvendo corantes isolados, foi observada uma elevada eficiência de degradação com sistema fotoquímico, permitindo descoloração praticamente completa em tempos de reação inferiores a 4 h. A eficiência dos processos biológicos foi fortemente influenciada pela estrutura química dos corantes. Os melhores resultados obtidos nos estudos de degradação foi com o fungo *L. edodes*, microorganismo que foi capaz de descolorir vários corantes em 6 dias de tratamento.

Nos estudos envolvendo o efluente têxtil, foi observada uma elevada eficiência do processo fotoquímico, especialmente quando o processo envolveu o uso de semicondutores imobilizados na forma de anéis de Raschig. Utilizando-se este sistema, descoloração completa e redução de TOC superiores a 50 % foram observadas em tempos inferiores a 1 h. O tratamento biológico utilizando os fungos *G. trabeum* e *L. edodes* resultou descolorações superiores a 95 %, em 4 dias de tratamento. Utilizando sistemas combinados de tratamento, observaram-se significativos ganhos de eficiência, especialmente para o sistema fotoquímico / ozônio / biológico.

ABSTRACT

Remediation of textile industry effluents by combined photochemical and biological processes

Author : Sandra Gomes de Moraes

Supervisor : Prof. Dr. Nelson Eduardo Durán Caballero

Combined photochemical and biological processes were applied to the treatment of textile industry effluents. Photochemical processes corresponding to heterogeneous photocatalytic systems, were based on UV light and free and immobilized semiconductors (TiO_2 and ZnO). Several white-rot fungi (*P. chrysosporium*, *T. villosa*, *T. versicolor*, *L. edodes*), brown-rot fungi (*G. trabeum*) and bacteria (*A. vinelandii*, *P. fluorescence*) with high capacity to produce ligninolytic enzymes (lignin peroxidase, manganese peroxidase and laccase) and siderophores were applied. Experiments with free and immobilized enzymes were carried out.

The efficiency of single and combined processes was evaluated by measuring several experimental parameters: total organic carbon content, color and toxicity were the most relevant. The analytical control of the processes were carried out by high performance liquid chromatography and gel permeation chromatography, while the toxicity by using bioassays involving *Escherichia coli* and *Scenedesmus subspicatus* was evaluated.

The degradation efficiency for the photochemical processes using isolated dyes, was observed during four hours of reaction times. The efficiency of biological processes was influenced by chemical structure of dyes. The best results were obtained on degradation processes using *L. edodes* which decolorated several dyes in six days.

High degradation efficiency was observed for the textile effluent using immobilized semiconductor in Raschig rings. Complete decoloration and TOC reduction (50 %) were observed in 1 hour. Biological treatment using *G. Trabeum* and *L. edodes* was effective for decoloration in four days.

Better efficiency was observed with combined treatments, especially when photochemical / ozone / biological processes were used.

ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O DOUTORAMENTO

Artigos publicados

Peralta-Zamora, P.; **Gomes de Moraes, S.**; Reyes, J. and Durán, N., (1996). Heterogeneous photocatalysis treatment of Kraft and textil effluents using metallic and polymeric semiconductors (ZnO and polyanilina). *Polymer Bull.*, **37** : 531.

P. Peralta-Zamora, **S. Gomes de Moraes**, J. Reyes and N. Durán (1997). Removal of organic pollutants by co-precipitation with metallic hydroxides and photochemical treatment . *Environ. Technol.*, **18** : 461.

Nelson Durán, Luciana M. Sato, Luciana S. A. Jardim, **Sandra G. Moraes e Roseli De Conti** (1998). Nuevo método de síntesis de N-Indol-Glucosidos con actividad antimicrobiana. *Bull. Soc. Chile. Quim.*, **43** : 91.

Patricio Peralta-Zamora, **Sandra Gomes de Moraes**, Ronaldo Pelegrini, Mariwalde Freire Jr., Juan Reyes, Hector Mansilla and Nelson Durán (1998). Decolorization of Kraft and textile effluents by heterogeneous photocatalytic treatment using TiO₂ and ZnO. *Chemosphere*, **36** : 2119.

Patricio Peralta-Zamora, **Sandra Gomes de Moraes**, Elisa Esposito, Renata Antunes, Juan Reyes and Nelson Durán (1998). Decolorization of pulp mill effluents with immobilized lignin and manganese peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium*. *Environ. Technol.*, **19** : 521.

Patricio Peralta-Zamora, Airtón Kunz, **Sandra Gomes de Moraes**, Ronaldo Pelegrini, Patricia de Campos Moleiro and Nelson Durán (1999). Degradation of reactive

dyes I. A comparative study of ozonation, enzymatic and photochemical processes. *Chemosphere*, **38** : 835.

Sandra Gomes de Moraes, Renato Sanches Freire and Nelson Durán (1999). Degradation and toxicity reduction on textile effluent by combined photocatalytic and ozonation processes. *Chemosphere*, no prelo.

Carlos A. K. Gouvêa, Fernando Wypych, **Sandra G. Moraes**, Nelson Durán and Patricio Peralta-Zamora (1999). Semiconductor-assisted photocatalytic degradation of reactive dyes in aqueous solution. *Chemosphere*, no prelo.

Carlos A. K. Gouvêa, Fernando Wypych, **Sandra G. Moraes**, Nelson Durán and Patricio Peralta-Zamora (1999). Semiconductor-assisted photochemical degradation of effluents and chemical compounds of environmental importance by using ag-doped zno photocatalyst. *Chemosphere*, no prelo.

Outras publicações não relacionadas ao doutorado

W. F. Jardim, **S. G. Moraes** and M. M. K. Takiyama, (1997). Photocatalytic Degradation of Aromatic Chlorinated Compounds Using TiO₂: Toxicity of Intermediates. *Wat. Res.*, **31** : 1728.

Jardim, W. F., Gimenez, S. M. N., Canela, M. C. e **Moraes, S. G.**, (1993). Acute toxicity of Hg⁰ and Hg²⁺ ions to *Escherichia coli*. *Chem. Speciation and Bioavailability*, **5** : 97.

Publicações em Anais Nacionais e Internacionais

Sandra Gomes de Moraes, Patricio Peralta-Zamora, Elisa Esposito e Nelson Durán (1997). "Degradação enzimática de corantes e efluentes derivados da indústria

têxtil". Anais da Iª Reunião Nacional de Microbiologia Aplicada ao Meio Ambiente. Campinas – SP, p 121.

Patricio Peralta-Zamora, **Sandra Gomes de Moraes**, Elisa Esposito, Renata Antunes, Robson Groto, Juan Reyes and Nelson Durán (1997). "Bioremediation of effluents from paper industry using immobilized lignin peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium*". Fifth Brazilian Symp. on the Chemistry of Lignins and other wood components. Curitiba – PR, Vol VI, p 382.

Sandra Gomes de Moraes, Patricio Peralta-Zamora, Juan Reyes and Nelson Durán (1997). "Treatment of effluents from textile industry using coprecipitation and photochemical process". Fifth Brazilian Symp. on the Chemistry of Lignins and other wood components. Curitiba – PR, Vol VI, p 322.

Moraes, S. G., Esposito, E., Peralta-Zamora, P., Reyes, J. and Durán, N. (1998). "Decolorization of dyes and textile effluents by lignin peroxidase isoenzymes from *Phanerochaete chrysosporium*". Third Latin American Biodegradation & Biodeterioration Symposium, LABS – 3. Florianópolis – SC, CD-Room Paper 60.

S. G. de Moraes, R. C. Minussi, G. M. Pastore e N. Durán (1999). "Biodescoloração de corantes e efluente têxtil". Anais da IIª Reunião Nacional de Microbiologia Aplicada ao Meio Ambiente. Florianópolis – SC, no prelo.

M. F. Santiago, **S. G. Moraes**, N. Durán (1999). "Seleção de cepas de sideróforos e sua aplicação no tratamento de efluentes têxtil e papaleiro". Anais da IIª Reunião Nacional de Microbiologia Aplicada ao Meio Ambiente. Florianópolis – SC, no prelo.

Moraes, S. G., Freire, R. S. and Durán, N. (1999). "Combined photocatalysis-ozone process: degradation and toxicity reduction of textile effluent". International Conference on Diffuse Pollution "Solutions – Innovations". Perth – Austrália, p 541.

Freire, R. S., **Moraes, S. G.**, Kubota, L. T. e Durán, N. (1999). "Treatment of Kraft E1 effluents and black liquor by biological and chemical processes". 6th Brazilian Symposium on the Chemistry of Lignins and other Wood Components. Guaratingueta – SP, no prelo.

Peralta-zamora, P., Pereira, C. M., Tuburtius, E. R., **Moraes, S. G.**, Minussi, R. C. and Durán, N. (1999). "Degradation of reactive dyes by using free and immobilized laccase". 6th Brazilian Symposium on the Chemistry of Lignins and other Wood Components. Guaratingueta – SP, no prelo.

Peralta-zamora, P., Gouvêa, C. A. K., Wypych, F., **Moraes, S. G.** and Durán, N. (1999). "Semiconductor-assisted photochemical degradation on paper effluents by using Ag-doped ZnO photocatalyst". 6th Brazilian Symposium on the Chemistry of Lignins and other Wood Components. Guaratingueta – SP, no prelo.

Outras publicações em Anais Nacionais e Internacionais

S. Gomes de Moraes, W. F. Jardim (1995). "Photocatalytic degradation of pentachlorophenol on TiO₂ particles: identification and toxicity of intermediates". The Fourth Brazilian Symposium on the Chemistry of Lignins and other Components: Alternative Pulping and bleaching Processes Environmental Impact and Utilization of Wood by-Products.

Trabalhos Apresentados em Reuniões Científicas – Livro de Resumos

Patrício Peralta-Zamora, **Sandra Gomes de Moraes**, Nelson Durán e Juan Reyes, (1996). "Utilização de polímero semiconductor na remediação de efluentes industriais". 19^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas (MG).

Mariwalde Giancursi F. Junior, Patrício Peralta-Zamora, **Sandra Gomes de Moraes**, Nelson Durán e Juan Reyes, (1996). "Tratamento fotocatalítico de efluentes

derivados da indústria de papel e celulose utilizando ZnO imobilizado em porcelana". 19ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas (MG).

Denise A. De Oliveira, Anna Maria A. P. Fernandes, Roseli De Conti, **Sandra Gomes de Moraes**, Marcela Haun e Nelson Durán (1996). "Antichagásicos: Síntese, separação de isômeros e avaliação de atividade biológica de N,N-Dimetil-2-Propen-1-Amina". 19ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas (MG).

Elisa Esposito, Josefina de Souza, Renata Antunes, Patrício Peralta-Zamora, **Sandra G. de Moraes**, Juan Reyes e Nelson Durán (1996). "Remediação de efluentes derivados da indústria de papel e celulose através de métodos biológicos utilizando-se enzimas imobilizadas". XXXVI Congresso Brasileiro de Química, São Paulo (SP).

Patrício Peralta-Zamora, **Sandra G. de Moraes**, Juan Reyes e Nelson Durán (1996). "Remediação de efluentes derivados da indústria de papel e celulose através de fotocatalise heterogênea utilizando-se semicondutores metálicos". XXXVI Congresso Brasileiro de Química, São Paulo (SP).

Sandra G. Moraes, Patrício Peralta-Zamora, Hector Mansilla, Jaime Baeza and Nelson Durán (1998). "Degradation of reactive dyes by using combined photocatalytic and ozonation processes". 19th Biennial Conference of the International Association on Water Quality. Vancouver, Canada.

Patrício Peralta Zamora, **Sandra G. Moraes**, Oswaldo L. Alves, Iara F. Gimenez, Juan Reyes and Nelson Durán (1998). 19th Biennial Conference of the International Association on Water Quality. Vancouver, Canada.

Sandra G. Moraes, Rosana C. Munissi, Patrício Peralta Zamora, Gláucia M. Pastore y Nelson Durán. (1998). "Bioremediation of textile effluents using immobilized and free

Lentinus e. and Trametes Versicolor". 4º Congresso Nacional de Biotecnologia. Talca, Chile.

Patrício Peralta Zamora, **Sandra G. Moraes**, Rosana C. Munissi, Iara F. Gimenez, Oswaldo L. Alves, (1998). "Tratamiento enzimático de efluentes derivados de las industrias papelera y téxtil". 4º Congresso Nacional de Biotecnologia. Talca, Chile.

Patrício Peralta Zamora, **Sandra G. Moraes**, Aldo J. G. Zarbin, Juan Reyes y Nelson Durán (1998). "Tratamiento fotoquímico de efluentes industriales. Nuevas tendencias y proyecciones futuras". 4º Congresso Nacional de Biotecnologia. Talca, Chile.

Rosana C. Minussi, **Sandra G. Moraes**, Gláucia Maria Pastore, Néelson Durán (1998). "Produção de enzimas lignolíticas fúngicas visando biorremediação de efluentes industriais". 50ª Reunião Anual da SBPC – Natal (RN)

Peralta-Zamora, P., Kunz, A., Moraes, S. G., Pelegrini, R., Moleiro, P. C., Reyes, J. e Durán, N. (1998). "Degradação de corantes reativos. Estudo comparativo dos processos enzimático, fotoquímico e de ozonização". 21ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas (MG).

Renato S. Freire, **Sandra G. Moraes**, Lauro T. Kubota e Nelson Durán (1999). "Tratamento do efluente papelero empregando processos químicos e biológicos". 22ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas (MG).

Airton Kunz, **Sandra G. Moraes**, Patrício Peralta Zamora, Néelson Durán (1999). "Tratamento de efluente têxtil com ozônio após precipitação com hidróxido de Ferro". 22ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas (MG).

S. G. Moraes, N. Durán (1999). "Bioremediation of textile effluents by immobilized and free *Phanerochaete chrysosporium*". The International Conference – Enzymes in the Environment: Activity, Ecology and Applications. Granada-Espanha.

P. Peralta Zamora, C. M. Pereira, E. L. Tiburtius, **S. G. Moraes**, R. C. Minussi, I. F. Gimenes, O. L. Alves, G. M. Pastore, N. Durán (1999). Immobilization of peroxidase and phenoloxidase in several solid supports". The International Conference – Enzymes in the Environment: Activity, Ecology and Applications. Granada-Espanha.

M. F. Santiago, **S. G. Moraes**, N. Durán (1999). "Lignin and chlorolignin degradation by fungal and bacterial siderophores". The International Conference – Enzymes in the Environment: Activity, Ecology and Applications. Granada-Espanha.

Renato Sanches Freire, **Sandra Gomes de Moraes**, Lauro T. Kubota e Nelson Durán (1999). 10º Encontro Nacional de Química Analítica. Santa Maria – RS.

P. Peralta-Zamora, C. A. K. Gouvêa, F. Wypych, N. Nagata, N. Durán e **S. G. Moraes** (1999). 10º Encontro Nacional de Química Analítica. Santa Maria – RS.

P. Peralta-Zamora, C. M. Pereira, E. R. L. Tiburtius, I. F. Gimenez, O. L. Alves, **S. G. Moraes**, R. C. Minussi e N. Durán (1999). 10º Encontro Nacional de Química Analítica. Santa Maria – RS.

Patrício Peralta-Zamora, Carlos K. Gouvea, Fernando Wypich, Alcely J. Wosniak, Aldo J. G. Zarbin, **Sandra G. de Moraes**, Oswaldo L. Alves e Nelson Durán (1999). SBQ - Regional Sul, Tubarão - SC.

Patrício Peralta-Zamora, Cláudia M. pereira, Elaine L. Tiburtius, Aldo J. G. Zarbin, Shirley Nakagaki, **Sandra G. de Moraes**, Rosana C. Minussi e Nelson Durán (1999). SBQ - Regional Sul, Tubarão - SC.

Outros trabalhos apresentados em Reuniões Científicas

Guimarães, A. C.; Zoghbi, M. G. B.; **Moraes, S. G.** e Siani, A. C. (1996). "Atividade antimicrobiana de extratos vegetais e óleos essenciais de espécies de *Protium* (*Burseraceae*). XIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Florianópolis (SC).

Participação em Mini-simpósio

2º Mini – Simpósio de Novas Estratégias em Química e Biotecnologia de Materiais Renováveis. Instituto de Química – UNICAMP, 1995.

3º Mini – Simpósio de Novas Tecnologias em Química e Biotecnologia de Materiais Renováveis. Instituto de Química – UNICAMP, 1997.

Patentes

1 - Peralta-Zamora, P.; **Moraes, S.G.**; Reyes, J. and Durán, N.

"Processo de precipitação-irradiação para remediação de efluentes papaleiros".

Patente Brasileira N° PI 9601686-8.

2 - Nelson Durán, Roseli De Conti Lourenço, Luciana M. Sato, Luciana S. Alcântara Jardim e **Sandra G. Moraes.**

" Processo de obtenção de Indol-Glicosídeos."

Patente Brasileira N° PI 9702822-3.

Estágio de Aperfeiçoamento no Exterior

Universidade de Concepción - Laboratório de Recursos Renováveis. Concepción -Chile. Outubro a Dezembro de 1997.

Índice

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Aspectos ambientais da indústria têxtil.....	2
1.2. Alternativas de tratamento para efluentes da indústria têxtil.....	5
1.2.1. Degradação de corantes e efluentes têxtil por processos fotocatalíticos.....	6
1.2.2. Degradação de corantes e efluentes têxtil por processos de ozonização.....	12
1.2.3. Degradação de corantes e efluentes têxtil por processos biológicos.....	13
1.2.4. Degradação de corantes e efluentes têxteis por processos combinados.....	22
1.3. Estudo de toxicidade em organismos vivos.....	25
2. OBJETIVOS.....	28
2.1. Objetivos específicos.....	28
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	29
3.1. Efluente têxtil.....	29
3.2. Corantes.....	29
3.3. Controle analítico.....	30
3.3.1. Carbono Orgânico Total (COT).....	30
3.3.2. Determinação de cor 1.....	30
3.3.3. Determinação de cor 2.....	30
3.3.4. Fenóis totais.....	31
3.3.5. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	31
3.3.6. Cromatografia de Permeação em Gel (CPG).....	32
3.3.7. Determinação do pH.....	32
3.3.8. Espectrometria de absorção atômica.....	33
3.3.9. Testes de toxicidade.....	33
3.3.10. Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	40
3.4. Estudo cinético da degradação de corantes isolados e do efluente têxtil.....	41
3.4.1. Geração e medida de ozônio.....	41
3.4.2. Fotodegradação de corantes e efluente têxtil.....	41
3.4.3. Estudo cinético.....	42
3.5. Tratamento fotocatalítico – variação do pH.....	43
3.6. Tratamento fotocatalítico – TiO ₂	43

3.7. Tratamento fotocatalítico – ZnO.....	43
3.8. Tratamento fotocatalítico utilizando TiO ₂ e ZnO imobilizados em “anéis de Raschig”.....	44
3.9. Estudo da utilização de microrganismos.....	44
3.9.1. Cultivo do fungo <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (ATCC 24725) em meio sólido.....	44
3.9.2. Cultivo do fungo em meio líquido.....	44
3.9.3. Determinação da atividade enzimática.....	46
3.9.4. Imobilização enzimática.....	46
3.9.5. Tratamento enzimático utilizando LiP e MnP.....	47
3.9.6. Cultivo do fungo para produção de Lacase.....	50
3.10. Tratamento biológico do efluente têxtil e de corantes.....	52
3.10.1. Tratamento do efluente têxtil com <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	52
3.10.2. Tratamento do efluente têxtil com fungos <i>Trametes versicolor</i> , <i>Lentinus edodes</i> , <i>Trametes villosa</i> e <i>Phanerochaete chrysosporium</i> em meio líquido.....	52
3.10.3. Tratamento do efluente têxtil e de corantes com fungos (meio sólido).....	52
3.10.4. Tratamento do efluente com fungos <i>T. versicolor</i> , <i>L. edodes</i> , <i>T. villosa</i> , <i>Gloeophyllum trabeum</i> , e com bactérias <i>A. vinelandii</i> e <i>P. fluorescens</i>	53
3.11. Tratamento combinado.....	55
3.11.1. Tratamento fotocatalítico combinado com biológico.....	55
3.11.2. – Tratamento fotocatalítico combinado com ozônio.....	55
3.11.3. - Tratamento foto-ozônio combinado com biológico.....	55
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
4.1. Tratamento fotocatalítico do efluente têxtil.....	57
4.2. Influência do pH do efluente têxtil na fotodegradação.....	59
4.3. Determinação de fenóis totais.....	60
4.4. Desenvolvimento de novos métodos.....	61
4.5. Tratamento fotocatalítico utilizando TiO ₂ e ZnO em reator com camisa interna de quartzo.....	66
4.6. Tratamento fotocatalítico utilizando TiO ₂ e ZnO imobilizados em “anéis de Raschig”.....	67
4.7. Estudo da fotodegradação de corantes.....	69
4.8. Estudo de otimização para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	71
4.9. Estudo cinético dos corantes e efluente.....	74
4.10. Tratamento biológico utilizando enzimas.....	96
4.11. Teste enzimático.....	96
4.12. Tratamento biológico com fungos.....	104

4.13. <i>Biodescoloração de corantes e efluente têxtil com fungos em meio sólido</i>	108
4.14. <i>Tratamento do efluente têxtil com fungos T. versicolor, L. edodes, T. villosa, G. trabeum, e com as bactérias A. vinelandii e P. fluorescens</i>	111
4.15. <i>Tratamento fotocatalítico combinado com biológico</i>	115
4.16. <i>Tratamento combinado foto-ozônio</i>	115
4.17. <i>Tratamento foto-ozônio combinado com biológico</i>	118
5. <i>CONCLUSÕES</i>	126
6. <i>ANEXOS</i>	128
7. <i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	134

1. INTRODUÇÃO

A rápida evolução científica e tecnológica verificada no presente século propiciou o crescimento da atividade industrial e, conseqüentemente, o desenvolvimento de inúmeros processos de produção. Estes processos permitiram o aparecimento de vários produtos de primeira necessidade, razão pela qual a atividade industrial adquiriu um caráter essencial para a sociedade moderna. No entanto, em função das características próprias dos processos envolvidos na produção destes bens, esta atividade costuma ser responsabilizada pelos fenômenos de contaminação ambiental.

Embora a atividade agrícola, os esgotos sanitários e os resíduos domésticos contribuam de maneira importante com o processo de poluição, cabe às atividades das refinarias de petróleo, indústrias químicas, têxteis e papeleiras um lugar de destaque, principalmente em função dos grandes volumes de resíduos produzidos e da diversidade na sua composição. Atualmente, o conjunto dos resíduos domiciliares, comerciais, industriais e agro-industriais, corresponde a aproximadamente 90% de todos os resíduos despejados no meio ambiente (240 mil t/dia, Neto, 1997). Se nenhuma forma de tratamento for aplicada, o caráter crítico destas atividades toma-se evidente.

A sociedade tem um papel importante na conservação dos recursos naturais. A preocupação com o meio ambiente tem sido o agente propulsor de um grande número de estudos tendentes ao desenvolvimento de tecnologia cada vez mais avançada no que se refere a tratamento de efluentes e águas domésticas.

Embora exista uma preocupação universal de evitar a contaminação, esta pode acontecer, principalmente porque grande parte dos processos produtivos são poluentes. Nestes processos de transformação industrial geram-se resíduos que direta ou indiretamente são lançados para o meio ambiente. Por este motivo, o estudo de novas alternativas capazes de minimizar o volume e a toxicidade, junto com o tratamento e a remediação dos inúmeros efluentes industriais produzidos, continua

sendo uma das principais armas de combate à contaminação ambiental. A busca por processos otimizados tem como um dos principais objetivos maximizar o uso das matérias-primas, ou seja, minimizar a geração de resíduos. Com isto reduz-se os custos e aumenta-se a competitividade.

1.1. Aspectos ambientais da indústria têxtil

A indústria têxtil é responsável pela geração de muitos efluentes com elevados níveis de coloração, demanda bioquímica de oxigênio, sólidos suspensos e baixas concentrações de oxigênio dissolvido. Dentre outras espécies químicas presentes no meio, especial atenção tem sido dada aos corantes reativos, principalmente em função da sua elevada toxicidade e resistência ao ataque microbiano. Atualmente, e em função desta realidade, notáveis esforços estão sendo feitos para desenvolver tecnologia limpa e processos que facilitarão atingir um estado de descarga zero (Peralta-Zamora e col., 1997).

O potencial poluidor da indústria têxtil abrange cinco campos distintos: efluentes líquidos, emissões gasosas, resíduos sólidos, odores e ruídos. Com relação a carga hidráulica, uma tinturaria de porte médio apresenta o equivalente a uma população de 7 mil pessoas, ou 20 mil quanto à sua carga orgânica (resíduos e dejetos). Além das vazões elevadas, há o agravante destas serem variáveis quanto ao volume, portanto, com elevado potencial de choque no corpo d'água receptor. Em se tratando do efluente bruto, a toxicidade é bastante elevada. No entanto, significativa diminuição desta toxicidade pode ser conseguida *via* tratamento biológico convencional (lodo ativado) (Conchon, 1995).

As indústrias têxteis e de tingimento são as que mais produzem e utilizam corantes, respectivamente. O uso cada vez mais difundido destes corantes deve-se, principalmente, às características como facilidade de produção e baixo custo (eficiência em sínteses), constância de estrutura e grande variedade de cores. Estas características os diferenciam significativamente dos corantes naturais (Wong e Yuen, 1996).

Muitos dos compostos corantes não são particularmente tóxicos, mas geralmente são difíceis de remover pelos métodos convencionais de tratamento de efluentes. A remoção dos corantes do efluente continua sendo o problema principal para a indústria têxtil (Hu, 1996).

As moléculas dos corantes utilizados pela indústria têxtil consistem de um grupo cromóforo (uma estrutura aromática que absorve radiação visível). Existem aproximadamente 12 classes de grupos cromóforos, sendo que destes, o mais largamente utilizado corresponde ao da família dos azo corantes. Atualmente, os azo corantes são utilizados em aproximadamente 60 a 70% de todos os processos de tingimento de fibras têxteis, sendo o grupo da antraquinona, o segundo mais utilizado (Vandevivere e col., 1998).

Os azo corantes, apesar de serem compostos orgânicos que costumam ser associados com o surgimento de câncer no organismo, apresentam muitas substâncias não cancerígenas, que são largamente utilizadas em cosméticos, na produção de remédios e no processamento industrial de alimentos (Brown e DeVito, 1993). Segundo Brown e DeVito (1993), a história dos efeitos dos azo corantes no organismo humano vem sendo observada a muito tempo. Oficialmente, ela começa no século passado, com a observação do excesso de casos de câncer de bexiga em trabalhadores que manipulavam e usavam corantes. As controvérsias iniciais sobre a relação entre o câncer de bexiga e a eventual exposição desses trabalhadores só foi resolvida através de exames epidemiológicos, durante um período de 30 anos. A toxicidade dessas substâncias foi a mais investigada de todas as classes dos compostos orgânicos. Há centenas de publicações descrevendo os mecanismos da carcinogenicidade dos azo corantes no homem e nas cobaias de laboratório.

Alguns corantes antraquinonas também são tóxicos, carcinogênicos para animais e mutagênicos para os microrganismos (Itoh e col., 1993).

Cada vez mais, um número maior de compostos sintéticos são gerados em laboratórios, fazendo com que, em termos de novos compostos, a síntese de corantes somente perca para o grupo dos polímeros. Algumas estruturas de corantes de classes diferentes são apresentadas na Figura 1.

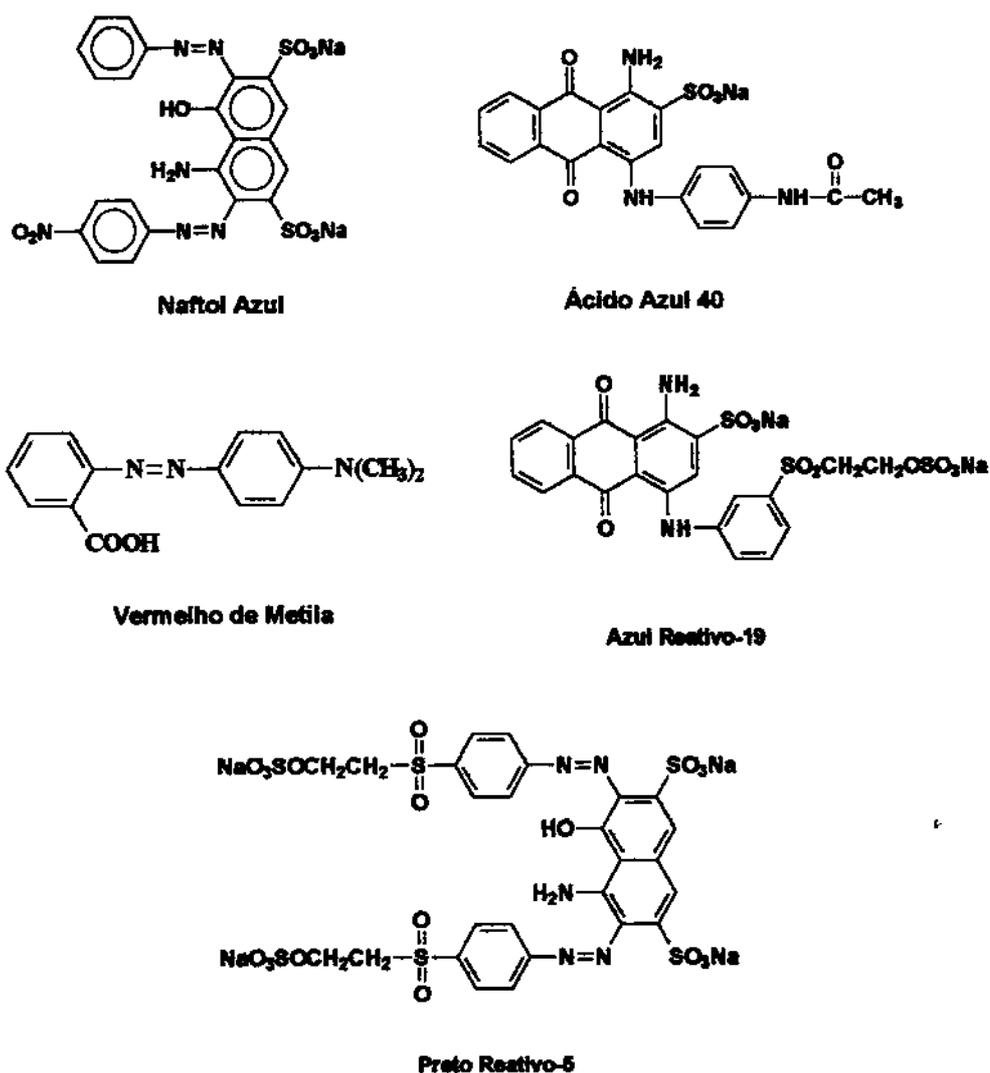


Figura 1. Diferentes classes de corantes (Azo e Antraquinonas), freqüentemente utilizadas na indústria têxtil.

Antecedentes históricos têm mostrado que a troca dos corantes naturais pelos sintéticos é um fato relativamente recente. Corantes sintéticos são usados intensivamente na indústria têxtil e tinturaria, impressão de papel, fotografia e como aditivos em derivados de petróleo. Aproximadamente 10.000 diferentes corantes e pigmentos são usados industrialmente, e acima de 7×10^5 toneladas destes corantes são produzidos anualmente no mundo (Spadaro e col., 1992; Nigam e Marchant, 1995; Chivukula e col., 1995; Nigam e col., 1996).

Considerando-se a necessidade de alta estabilidade dos corantes em contato com uma série de influências físico-químicas, não é nada surpreendente o fato de que

os corantes apresentem uma estabilidade contra a ação de microrganismos. Em geral, os corantes não são biodegradáveis no curto prazo de retenção dos processos de tratamento aeróbio realizado durante o tratamento biológico do efluente (Neto, 1995).

1.2. Alternativas de tratamento para efluentes da indústria têxtil

Em função do acentuado caráter tóxico das espécies acima comentadas, torna-se necessário o desenvolvimento de tecnologias adequadas para o seu controle. Com isto, novas tecnologias de tratamento de águas e efluentes que destróem ou imobilizam compostos orgânicos tóxicos, vêm sendo direcionadas para criar estratégias onde o tratamento de poluentes seja o mais efetivo e econômico possível. A Figura 2 esquematiza, de uma maneira geral, os principais métodos de tratamento de efluentes industriais.

Tratamento de efluentes fundamentados em processos biológicos e físico-químicos tem sido amplamente utilizado. A combinação destes processos apresenta-se muito interessante para a obtenção de resultados satisfatórios (Marco e col., 1997). Uma das propostas mais clássicas, por exemplo, consiste na combinação de processos de coagulação, eletrólise e lodo ativado. Atualmente, os processos de desinfecção envolvem além da radiação UV, a ozonização e a ultrafiltração. A ultrafiltração é altamente eficiente produzindo uma excelente qualidade e total desinfecção do efluente (Lazarova e col., 1998).

Em recentes revisões sobre tecnologias emergentes para o tratamento de resíduos industriais (Vandevivere e col., 1998), encontra-se descrita grande parte das tecnologias avançadas para o tratamento de efluentes têxteis. Alguns processos, como o de ozonização, apresentam custo muito alto. Outros processos, como a eletrólise, permitem uma eficiência maior que os sistemas convencionais, com um baixo custo operacional. A fotocatalise com TiO_2 mostrou-se promissora, mas devido à limitada penetração da luz UV na solução de corante, os autores sugeriram utilizar um pré-tratamento com ozônio, os resultados obtidos foram neste processo surpreendentes; a cor foi completamente removida e o Carbono Orgânico Total (COT) foi reduzido em 90%.

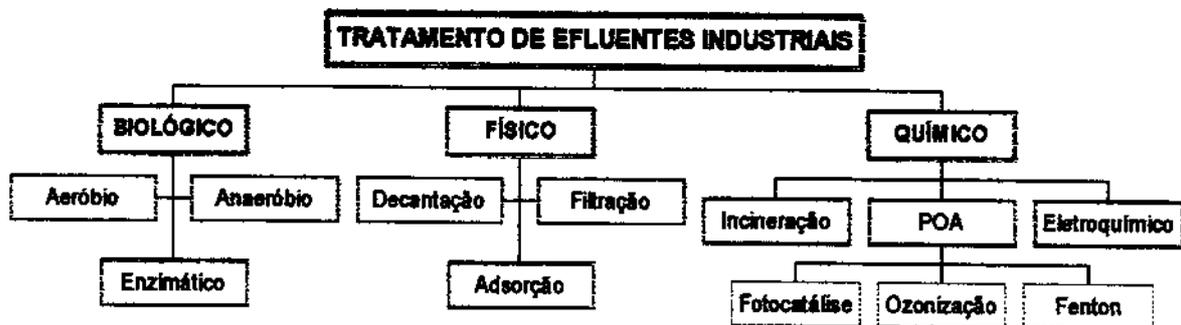


Figura 2. Organograma das classes de tratamento de efluentes (POA = Processos Oxidativos Avançados)

1.2.1. Degradação de corantes e efluentes têxtil por processos fotocatalíticos

Efluentes industriais contêm muitos substratos não-biodegradáveis, os quais podem ser prejudiciais ao meio ambiente. Uma das maiores fontes deste tipo de resíduos está representada por efluentes originários de processos industriais que utilizam corantes para papéis, plásticos e fibras naturais e sintéticas. Por isso, a descoloração de efluentes que apresentam cor intensa tem adquirido maior atenção (Muneer e col., 1997).

Os corantes têxteis, principalmente os azo corantes, representam um problema ambiental emergente. Uma grande quantidade de resíduos de corantes é perdida no efluente durante os processos de tingimento na indústria têxtil. O problema surge não somente devido à cor do efluente, como também devido aos resíduos de azo corantes que podem passar a prejudicar potencialmente a jusante de um rio ou mananciais (Vinodgopal e Prashant, 1994; Nasr e col., 1997; Muneer e col., 1997).

Na ausência de alguma regulamentação governamental específica sobre a eventual disposição destes corantes azo, o método a ser utilizado fica à escolha da indústria. Eventuais regulamentações introduzidas, são ou administrativas ou limitam a disposição de cada efluente colorido, fazendo com que métodos alternativos de tratamento e descoloração se tornem de suma importância.

Dentro do conjunto de procedimentos concebidos com a intenção de eliminar o risco provocado pela presença destes contaminantes, destacam-se os processos de fotomineralização catalítica mediada por semicondutores, processos que tendem a se expandir rapidamente, em função da sua capacidade para a descontaminação de águas e efluentes, onde o produto mineral resultante do processo é inofensivo para o meio ambiente.

As tecnologias destrutivas atualmente em uso para o tratamento de águas potáveis e efluentes, tal como cloração, ozonização e UV-ozonização, utilizam oxidantes fortes e perigosos, e portanto indesejáveis para a natureza (Mills e col., 1993).

Em função deste fato, novos métodos de purificação têm sido desenvolvidos. Dentre estes métodos, os chamados Processos Oxidativos Avançados (POA) têm recebido grande atenção por serem capazes de converter poluentes em espécies químicas inócuas, sem a utilização de agentes agressivos. Os POA são definidos como processos de oxidação onde radicais hidroxila (OH^{\bullet}) são gerados em quantidade suficiente para atuarem como principais agentes oxidantes. Muitos sistemas são qualificados dentro desta ampla definição de POA. Dentre estes, destacam-se a radiólise, a fotólise homogênea e a fotólise heterogênea (Matthews, 1992; Huang e col., 1993).

A fotocatalise tem sido uma área de rápido crescimento nos últimos anos. Vários são os fotocatalisadores utilizados (TiO_2 , ZnO , WO_3 , CdS , ZnS , SrTiO_3 e Fe_2O_3), com TiO_2 sendo o mais ativo nos experimentos de degradação de compostos orgânicos (Lakshmi e col., 1995). A possibilidade de reutilizar o catalisador e substituir a radiação artificial por luz solar faz com que o processo se torne mais econômico, e portanto, viável para aplicações a nível industrial.

O esquema ilustrado a seguir mostra os princípios eletrônicos de um processo fotoquímico Figura 3. Quando a partícula do TiO_2 sofre a irradiação ocorre a geração de elétrons na banda de condução (e^-_{BC}) e lacunas na banda de valência (h^+_{BV}) (equação 1). Estas cargas, ou suportam a resistência interna do cristal ou migram para a superfície para reagir com o adsorventes acessíveis, tais como OH^- e H_2O . A lacuna, altamente oxidante, h^+_{BV} ($E^\circ = +2,7 \text{ V}$) pode reagir diretamente com as moléculas

orgânicas adsorvidas na superfície, ou oxidar indiretamente os compostos orgânicos via formação de OH^\bullet radical (equação 2 e 3).

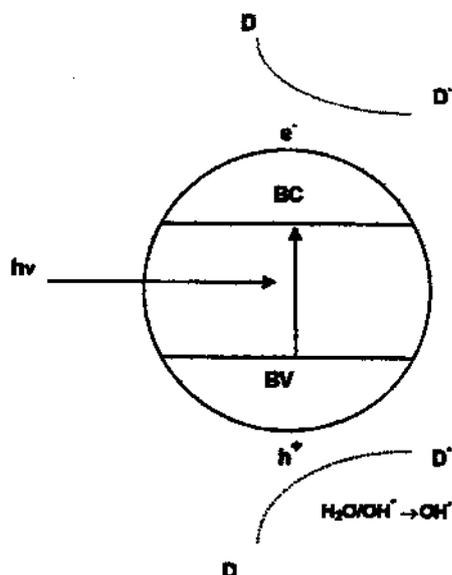
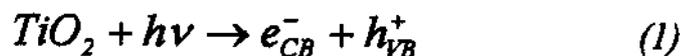
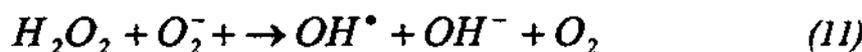
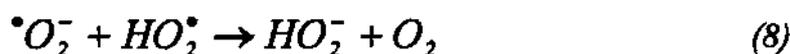
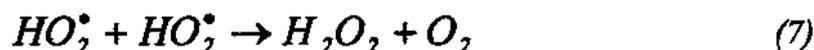


Figura 3. Princípios eletrônicos de um processo fotoquímico. BV = banda de valência; BC = banda de condução; e^- = elétron; h^+ = lacuna; $h\nu$ = radiação (UV); D = substrato orgânico; D^- = espécie reduzida; D^+ = espécie oxidada.

O elétron com baixo potencial redutivo e^-_{BV} ($E^\circ = -0,5 \text{ V}$) pode, em alguns casos, reagir diretamente com os compostos alvo ou, em muitos casos, atuar via formação de radicais, tais como $^{\bullet}\text{O}_2^-$, $^{\bullet}\text{O}_2^{-2}$ e HO_2^\bullet (equações de 4 a 6).



Evidências experimentais sugerem que os radicais OH^* são espécies fundamentais da oxidação para iniciar a reação de degradação na fotocatalise de vários substratos orgânicos. A reação do peróxido de hidrogênio tem sido demonstrada por ser produzido no processo fotocatalítico com TiO_2 (equações 7 a 9). As equações 10 a 12 mostram outras reações que podem gerar os radicais OH^* .



Sem a superfície oxidante adsorvida do TiO_2 para reagir com e^-_{BC} , o elétron e a lacuna recombinariam rapidamente (equação 1) (O'shea e col., 1997; Wang e Hong, 1999).

O semicondutor catalítico pode ser empregado ou na forma coloidal ou como um filme imobilizado. Em fotoreatores que operam com partículas de catalisador em suspensão, a velocidade de reação é predominantemente determinada pela intensidade da luz na superfície, pela eficiência quântica do catalisador e pelas propriedades de adsorção dos componentes reagentes e não-reagentes na solução. Porém, o uso de suspensões requer a separação e reciclo do catalisador ultrafino do líquido tratado, o que pode ser um inconveniente, tornando o processo caro e demorado. Além disso, a penetração da luz UV é limitada pela forte absorção das partículas do catalisador e das espécies orgânicas dissolvidas. Estes problemas podem ser contornados empregando-se fotoreatores onde as partículas do catalisador são imobilizadas (Ray e Beenackersy, 1998).

Yeber e col. (1998), imobilizaram TiO_2 e ZnO em superfícies de vidro transparente e sobre anéis Raschig de Pyrex. A atividade do catalisador impregnado foi avaliada usando um composto modelo. Após 15 minutos, a degradação foi mais efetiva

quando o catalisador estava em suspensão, devido provavelmente a maior quantidade de catalisador empregado. Após 60 minutos de reação, o composto modelo foi completamente degradado, empregando-se tanto o catalisador imobilizado como livre.

A aplicação de processos fotocatalíticos para a remediação de efluentes têxteis ainda é pouco estudada, sendo que geralmente os trabalhos de fotoquímica ambiental estudam a degradação de corantes de forma isolada. Vinodgopal e col. (1994,1995, 1996) utilizaram o semicondutor TiO_2 para degradar azo corantes e estudaram a elucidação de mecanismos de degradação de corantes com técnicas de absorção por reflectância difusa e FTIR.

Embora muitos poluentes possam ser efetivamente fotodecompostos usando TiO_2 como catalisador, a cinética e mecanismo são comparativamente desconhecidos. Chen e Chou (1993) estudaram a cinética de fotodescoloração do alaranjado de metila. Neste trabalho, foi proposto um modelo teórico e experimental do mecanismo de reação usando TiO_2 como catalisador. Devi e Krishnaiah (1999) utilizaram o TiO_2 tratado a diferentes temperaturas p/ fotodegradar os corantes azo *p*-amino benzeno e o *p*-hidroxi benzeno; ambos apresentam estrutura relativamente simples quando comparados com outros azo corantes. A forma anatase (TiO_2 a 600-650 °C), foi a mais eficiente para degradar os dois corantes quando comparada com as amostras de TiO_2 Degussa P-25 e a forma rutilica (acima de 700 °C).

Um outro estudo de degradação fotocatalítica foi feito por Lakshmi e col. (1995). Os autores estudaram a oxidação do azul de metileno sob filmes e suspensão de TiO_2 usando luz natural (solar) e artificial (lâmpada de Hg). As constantes de velocidade da fotocatalise foram avaliadas em função da concentração do corante, quantidade de catalisador e pH. Um estudo mais recente sobre a degradação fotocatalítica do azul de metileno com TiO_2 foi feito por Mills e Wang (1999); neste trabalho, os resultados revelam que a descoloração pode ser devido à fotoredução e fotoxidação do corante.

Um trabalho de degradação fotocatalítica de 11 azo corantes por TiO_2 foi realizado por Tang e col. (1997). Os autores comentam que a cinética de degradação parece estar significativamente influenciada por sua natureza elétrica, pelo número de ligação azo presente em uma molécula de corante e pelo tipo de grupos auxiliares fixos à ligação azo. Neste trabalho observou-se que substratos contendo um maior número

de grupos azo são degradados com maior dificuldade. O efeito do pH na cinética dos diferentes corantes pode ser devido a: (1) reatividades intrínsecas de espécies neutras e ionizadas dos corantes a vários valores de pH; (2) provável oxidação direta através da lacuna; (3) ataque indireto do radical hidroxila.

Chu e Ma (1997) estudaram o efeito da luz UV na descoloração de corantes aromáticos com diferentes estruturas químicas. A solubilidade da molécula do corante foi o primeiro fator para determinar a eficiência da fotodecomposição. Comparados com os corantes mono-azo, os corantes multi-azo (di-, tri-, ou poli-) foram facilmente descoloridos. Surpreendentemente, na irradiação de corantes antraquinonas o grau de coloração aumentou, devido à formação de intermediários durante o processo. Entretanto, muito destes intermediários podem posteriormente ser decompostos com o aumento do tempo de irradiação. Os resultados foram contraditórios quando comparados aos dados obtidos por Tang e col. (1997).

Reutergardh e Langphasuk (1997) estudaram a degradação fotocatalítica do corante preto reativo 5, um azo corante, por TiO_2 e CdS (Sulfeto de Cádmio); ambas as reações seguiram uma cinética de 1ª ordem. A fotocatalise com CdS seguiu a equação de Langmuir-Hinshelwood, enquanto que a fotocatalise com TiO_2 , não. O corante foi descolorido e destoxificado pela fotocatalise com titânio; com CdS houve um aumento da toxicidade devido a dissolução do CdS. Não foi observado pelos autores uma redução da eficiência de descoloração com o uso do TiO_2 reciclado.

Recentemente, foram realizados estudos de degradação fotocatalítica com TiO_2 em suspensão no tratamento de corantes e efluente têxtil (Muneer e col., 1997; Rao e Dube, 1998).

Alguns estudos em que se utiliza o semicondutor imobilizado vem despertando grande interesse Naskar e col. (1998) degradaram fotocataliticamente um corante orgânico, o azul de metileno, com TiO_2 imobilizado em pedaços de polietileno. Ma e Yao (1998) utilizaram filmes de TiO_2 para a fotodegradação de rodamina B, um corante muito importante que é usado em uma variedade de aplicações.

Quanto ao tratamento do efluente têxtil, a aplicação de processos fotocatalíticos para remediação é ainda pouco estudada. Mas muitos poluentes podem ser

efetivamente fotodecompostos usando TiO_2 como catalisador, a cinética e mecanismo são comparativamente desconhecidos.

1.2.2. Degradação de corantes e efluentes têxtil por processos de ozonização

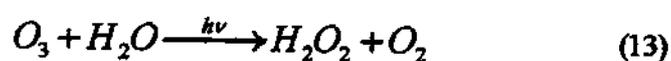
O ozônio, a forma triatômica do oxigênio, apresenta-se como um gás incolor e de odor pungente, com elevado poder oxidante e capacidade para reagir com vários compostos orgânicos.

Em temperaturas entre 30 e 35 °C, ozônio se decompõe a oxigênio e radicais hidroxila. Por ser instável ele deve ser gerado *in situ*, sendo que o método mais eficiente para produzi-lo é por descarga elétrica (Echagaray e Olivieri, 1994).

O ozônio pode reagir via dois mecanismos: reação direta (eletrofílica ou por cicloadição) e reação indireta, através do radical livre hidroxila ($\cdot\text{OH}$) formado pela decomposição do ozônio (Masten e Davis, 1994; Freire e col. 1999).

A reação indireta é muito mais eficiente porque o potencial de oxidação do radical hidroxila ($E^\circ = +3,06 \text{ V}$) é mais elevado que o do ozônio molecular ($E^\circ = +2,07 \text{ V}$), podendo assim, promover uma oxidação mais enérgica. Além do mais, as reações com ozônio molecular tendem a ser seletivas (ataque a centros nucleofílicos), enquanto que os radicais hidroxila, como a maioria das reações radicalares, não reagem seletivamente (Stockinger e col., 1995). Desta forma, o emprego do ozônio por via indireta é muito mais versátil, sendo a tendência apresentada na literatura recente.

Na presença de radiação ultravioleta (UV), o ozônio também pode formar o radical hidroxila:



O radical hidroxila também pode ser obtido a partir do ozônio utilizando-se uma mistura com peróxido de hidrogênio sem radiação UV ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$) ou na presença da mesma ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$), ou ainda em valores elevados de pH ($\text{O}_3/\text{pH alto}$). Masten e

Davis (1994), sugeriram que o método O_3/H_2O_2 era o processo mais promissor, por ser o que melhor se adaptaria ao uso em tratamento de efluentes industriais.

A ozonização demonstra-se altamente eficaz na remoção da cor de efluentes têxteis. Um estudo da remoção da cor numa mistura de corantes foi feito por Churchley, (1994). A concentração do corante utilizada foi de $9,5 \text{ mgL}^{-1}$, após 20 minutos de tratamento, aproximadamente 90% da cor inicial foi removida.

Um estudo da ozonização do azo corante alaranjado II foi feito por Liakou e col. (1997). Neste trabalho foi avaliada a eficiência da ozonização na rápida conversão da molécula do corante com uma concomitante redução da chamada Demanda Química de Oxigênio (DQO) e a geração de intermediários biodegradáveis.

Liakou e Lyberatos (1998) observaram uma rápida cinética de descoloração do azo corante laranja 2. Kunz e col. (1999), verificaram a influência do pH no processo de ozonização dos corantes reativos e avaliaram a toxicidade utilizando a bactéria marinha *Vibrio fischeri* (Microtox).

Ciardelli e Ranieri (1998) utilizaram, em escala piloto, tratamentos com ozonização e a eletrocoagulação para testar sua eficiência na remoção de substâncias poluentes de efluentes da indústria têxtil. Por meio do tratamento com ozônio, elevada remoção de cor (95-99%) foi obtida e a água tratada foi reusada satisfatoriamente na etapa de tingimento da fibra; a demanda química de oxigênio diminuiu em mais de 60%. No tratamento eletroquímico foram obtidos resultados similares, tanto para a descoloração como para a redução da demanda química de oxigênio.

1.2.3. Degradação de corantes e efluentes têxtil por processos biológicos

Tratamento de efluentes utilizando processos biológicos são freqüentemente utilizados. Nestes processos ocorre a transformação de compostos orgânicos tóxicos em CO_2 , H_2O e CH_4 , com custos relativamente baixos. Este tipo de tratamento fundamenta-se na utilização destes compostos como substrato para o crescimento e manutenção do microrganismo.

Os processos biológicos podem ser divididos em aeróbios e anaeróbios. Nos processos aeróbios, o receptor de elétrons é o oxigênio molecular e os produtos finais são CO_2 e H_2O . Nos anaeróbios, que degradam à CO_2 e CH_4 , o oxigênio está ausente,

sendo que algumas formas de carbono, enxofre e nitrogênio participam como receptores de elétrons.

A aplicação deste processo está na remoção da matéria orgânica presente nos efluentes industriais, usualmente medida pela demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO) e carbono orgânico total (COT) (Subramani e col., 1995).

O acentuado desenvolvimento da microbiologia tem propiciado muitas alternativas que viabilizam o tratamento biológico de efluentes industriais. Trabalhos recentes relatam que diferentes efluentes são tratáveis por meio destes processos.

Nos estudos de descoloração e capacidade de mineralização de corantes e efluente têxtil têm sido utilizados diferentes fungos produtores de enzimas. Pesquisadores da área de biotecnologia têm aumentado o interesse no versátil fungo de decomposição branca *Phanerochaete chrysosporium*. Este fungo é capaz de mineralizar, além da lignina, pelo menos parcialmente, e algumas vezes completamente, uma variedade de poluentes persistentes no ambiente (Paszczyński e col., 1992; Goszczyński e col., 1994; Barr e Aust, 1994; Balan e Monteiro, 1996).

Especialmente para efluentes têxteis, alguns trabalhos foram realizados estudando a descoloração e capacidade de mineralização através do fungo *P. chrysosporium*. Sani e col. (1998) estudaram a descoloração de vários corantes e de um efluente industrial utilizando o fungo *P. chrysosporium* em culturas estáticas e sob agitação. Tanto os corantes como o efluente foram descoloridos com porcentagens de descoloração variado (20 - 100%). O grau de descoloração para todos os corantes em condições estáticas foi menor que nas culturas que ficaram sob agitação e também dependeu da concentração da biomassa. Os autores compararam os diferentes corantes com a porcentagem de descoloração e chegaram a um consenso de que pequenas diferenças estruturais podem afetar fortemente o grau de descoloração. Mais estudos de séries homólogas de corantes com diferentes fungos são necessários para estabelecer a relação entre estrutura-degradabilidade.

Spadaro e col. (1992) demonstraram a capacidade de mineralização deste fungo para uma variedade de azo corantes, sendo que a habilidade de descoloração e/ou degradação do fungo dependeu da natureza dos grupos substituintes dos anéis

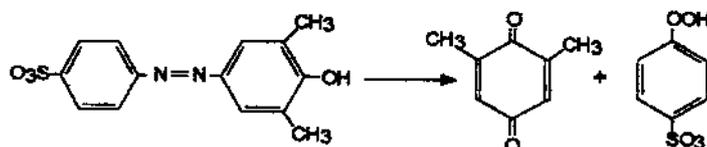
aromáticos dos corantes. Isto foi observado também por Knapp e col. (1995) num estudo utilizando fungos de decomposição marrom e corantes com pequenas diferenças estruturais. Os autores observaram que todos os corantes foram descoloridos em até 90%, por pelo menos um destes fungos, e que diferenças estruturais relativamente pequenas podem afetar a descoloração.

Um estudo de descoloração de um efluente têxtil artificial por *P. chrysosporium*, foi feito por Kirby e col. (1995). Os autores testaram nove corantes têxteis sintéticos. *P. chrysosporium* descoloriu seis destes nove corantes na presença de glicose, e três corantes têxteis foram descoloridos na ausência de uma fonte de carbono primária. Após 7 dias a descoloração foi completa, entretanto o papel da lignina peroxidase foi obscuro, certos corantes podem ser metabolizados como única fonte de carbono e energia pelo *P. chrysosporium*.

A descoloração de corantes azo, trifenilmetano, heterocíclico e polimérico, por isoenzimas da lignina peroxidase (LiP) de *P. chrysosporium*, foi estudada por Ollikka e col. (1993). Dez diferentes tipos de corantes foram testados com o caldo enzimático bruto. Muitos destes corantes perderam 75% de sua cor inicial; somente os corantes vermelho de Congo, poly R-478 e poly T-128 foram menos descoloridos que os outros, 54, 46 e 48%, respectivamente. A habilidade das isoenzimas em descolorir os corantes na presença do álcool veratrílico foi comparada àquela da preparação do caldo enzimático bruto, sugerindo que lignina peroxidase tem um papel importante na descoloração e a manganês peroxidase não é necessária para iniciar a degradação destes corantes. Na ausência de álcool veratrílico, a atividade de descoloração das isoenzimas foi reduzida, sugerindo que o álcool veratrílico atua como um mediador na reação catalítica.

Um outro trabalho desenvolvido por Chivukula e col. (1995) também está relacionado com a oxidação catalisada de azo corantes sulfonados por LiP do fungo de decomposição branca *P. chrysosporium*, gerando novos sulfofenil hidroperóxidos. Um mecanismo para degradação de azo corantes sulfonados é proposto baseado na identificação dos produtos. As características relevantes deste mecanismo são, a liberação de ligação azo com o nitrogênio e a geração de um novo sulfofenil

hidroperóxido, (esquema a seguir), o qual não foi ainda identificado em nenhum sistema químico ou biológico.



Na degradação microbiana de compostos aromáticos, a oxigenação do anel aromático prepara o anel para posteriores degradações. A incorporação de oxigênio no anel aromático em degradação peroxidativa de azo corantes sulfonados poderia auxiliar na subsequente degradação do anel aromático (Chivukula e col. 1995).

Tipos diferentes de organismos podem ser utilizados para o tratamento de efluentes que apresentam coloração. No relato de Swamy e Ramsay (1999a), comenta-se que muitas pesquisas sobre a degradação de corantes por fungos de decomposição branca têm focalizado *P. chrysosporium*. Embora existem poucos estudos de descoloração de corantes por *Trametes versicolor*, este organismo tem sido investigado por sua descoloração de efluentes Kraft fortemente coloridos (Swamy e Ramsay, 1999a). Estudos prévios se restringem a uma simples descoloração de um único corante. Uma vez que o efluente têxtil contém uma variedade de corantes, sucessivas descolorações de um único corante não indicam adequadamente a eficiência de um organismo para o processo de descoloração. Um sistema de biodescoloração deveria manter alta atividade sobre repetidas exposições dos vários corantes. Na pesquisa desenvolvida por Swamy e Ramsay (1999a) foi avaliada a capacidade de 5 fungos em descolorir diferentes corantes em condições onde os corantes encontravam-se isolados ou misturados e ainda sob repetidas adições destes corantes. Observaram que o fungo *T. versicolor* descoloriu rapidamente repetidas adições de diferentes corantes e as misturas dos corantes, sem nenhuma adsorção visual dos corantes nos pélets do fungo.

A adsorção e degradação de 3 corantes com grupos cromóforos comercialmente representativos (azo, antraquinona e índigo) foram estudadas utilizando-se o micélio vivo e morto do fungo *T. versicolor*. A adsorção física e a degradação enzimática da molécula do corante adsorvido também foram estudadas. Os autores encontraram uma atividade enzimática para peroxidase de 78 UL^{-1} e para lacase 16.000 UL^{-1} . As enzimas

intracelulares e extracelulares removeram e degradaram os corantes antraquinona e índigo adsorvidos, enquanto que os azo corantes foram degradados somente por enzimas extracelulares (Wang e Yu, 1998).

Swamy e Ramsay (1999b), estudaram os efeitos da concentração de Mn^{2+} e NH_4^+ sob a produção de lacase, Manganês Peroxidase (MnP), e a descoloração de um azo corante por *T. versicolor*. Foram detectadas MnP e lacase, mas não LiP. A baixas concentrações de Mn^{2+} e nitrogênio, o fungo descoloriu sucessivamente oito adições do corante sem nenhuma adsorção visível na biomassa micelial. Em altas concentrações de Mn^{2+} , a produção de MnP aumentou e a lacase diminuiu, mas as sucessivas descolorações do corante não foram alteradas. Fatores indicaram que as enzimas isoladas não são suficientes para a descoloração.

A biodegradação de 3 azo corantes e 2 corantes ftalocianinos por *T. versicolor* e *B. adusta* foi estudada por Heinfling e col. (1997). Os autores selecionaram 18 fungos conhecidos pela sua capacidade em degradar material lignocelulósico ou derivados da lignina; destes, somente *T. versicolor*, *B. adusta* e *P. chrysosporium* foram capazes de descolorir todos os corantes testados.

Shin e Kim (1998) estudaram a descoloração de corantes artificiais por peroxidase extracelular do fungo *Pleurotus ostreatus*. Tipos diferentes de corantes, incluindo trifenil metano, heterocíclico, azo e poliméricos foram descoloridos. O melhor resultado obtido foi com o corante azul de bromofenol (98%), da classe do trifenil metano. Corantes heterocíclicos, como azul de metileno e azul de toluidina O, foram os que menos descoloriram (10%), mostrando certa resistência à oxidação enzimática.

Rodríguez e col. (1999) utilizaram enzimas produzidas por fungos de decomposição branca para descolorir 23 corantes industriais. Atividades de lacase, MnP, LiP e aril álcool oxidase foram determinadas nos extratos brutos das culturas de 16 fungos. O fungo *P. ostreatus* foi capaz de descolorir 12 dos 23 corantes "in vivo", enquanto que o fungo *P. chrysosporium* descoloriu somente 5. Utilizando o extrato bruto, *P. ostreatus* descoloriu somente 5 corantes, mostrando que outro mecanismo enzimático poderia estar envolvido nos experimentos de descoloração "in vivo". Este fungo apresentou uma atividade elevada para lacase e MnP. O fungo *Trametes hispida* apresentou também elevada atividade para lacase, o que é consistente com a elevada

atividade de descoloração dos corantes. Não foi encontrada atividade para LiP em nenhum fungo nestas condições de crescimento. Muitos corantes industriais foram descoloridos biocataliticamente por enzimas extracelulares de diferentes cepas de fungos. Esta capacidade de descoloração foi correlacionada com os níveis de atividade da lacase.

Knapp e Newby (1999) utilizaram o fungo de decomposição branca *Coriolus versicolor* para descolorir um efluente contendo o grupo cromóforo diazo acoplado; o resultado obtido após o tratamento foi uma descoloração de 70-80%.

Recentemente Azmi e col. (1998), descreveram detalhadamente os diferentes métodos de tratamento para efluentes contendo corantes da classe dos trifenil metano e verificaram, que tipos diferentes de organismos tal como bactéria, leveduras e fungos tiveram desempenho análogo em descolorir e degradar diferentes corantes trifenil metano.

Nigam e col. (1995), durante uma pesquisa em busca de microrganismos com capacidade de degradação de corantes têxteis em efluentes industriais, isolaram um fungo filamentoso anaeróbio facultativo. Este fungo tem a habilidade de crescimento utilizando o corante como única fonte de carbono, sob ambas as condições (aeróbia e anaeróbica). Os autores observaram que os corantes não são descoloridos, mas mostraram alterações nos seus espectros na região UV-Visível, indicando mudanças de estrutura molecular dos seus centros cromóforos.

Um trabalho mais recente de Nigam e col. (1996), envolvendo bactérias e fungos para degradar azo corantes e efluente têxtil, mostrou que, para as bactérias uma extraordinária descoloração foi adquirida sob condições anaeróbicas, indicando que em sistemas anaeróbios elas são capazes de quebrar as ligações azo. Com os fungos, houve um crescimento de uma espessura micelial no meio do corante e não mostraram qualquer descoloração, indicando que os fungos não são habilitados para quebrar as ligações azo, mas hábeis em outras partes da molécula do corante; as técnicas utilizadas para as análises foram espectrofotometria UV-Visível e eletroforese capilar.

Um estudo de biodegradação de azo corantes pela levedura *Candida zeylanoides* em culturas aeradas foi feito por Martins e col. (1999). O meio de cultura continha glicose como fonte de carbono e energia e seu pH foi controlado a 5,0-5,2. A

extensão da remoção da cor no meio de cultura foi avaliada através da diminuição da absorvância do sobrenadante. O resultado obtido foi de uma remoção de cor entre 44-90 %, após 7 dias.

Beydilli e col. (1998) fizeram um estudo utilizando azo corantes reativos, preto-5, vermelho-2, vermelho-120, amarelo-3, amarelo-15 e amarelo-17. Usando uma cultura anaeróbia, sob condições metanogênicas enriquecidas de lodo do esgoto municipal, alguns ensaios foram realizados para avaliar o potencial de toxicidade dos corantes selecionados aos microrganismos anaeróbios, bem como, para determinar a biodegradabilidade anaeróbia destes corantes. A produção total de gás e de metano foram monitoradas. Não foi observado efeito tóxico para a concentração de 300 mg L⁻¹ de corante, resultando numa remoção de cor entre 81,3 a 97,3 %, exceto para o corante vermelho-2, o qual apresentou uma remoção de cor de 65 %.

Os fungos de decomposição branca têm a habilidade única para degradar/mineralizar um amplo espectro (estruturalmente diverso) de poluentes tóxicos para o meio ambiente. O potencial destes fungos para a biorremediação *in situ* tem sido atribuída à sua habilidade em degradar uma variedade de compostos xenobióticos *via* um mecanismo de radical livre mediado pelas peroxidases extracelulares - LiP e MnP - e lacase, que são componentes chave para o sistema enzimático. Estas enzimas tem um potencial de oxidação-redução muito elevado e podem oxidar potencialmente xenobióticos que não são atacados por outras peroxidases (Durán e Esposito, 1997).

Vários estudos relacionados com a biodegradação de corantes descrevem que culturas ligninolíticas de *P. chrysosporium* degradam extensivamente diversos corantes, incluindo a classe dos azo corantes. Reddy (1995) sugere que a degradabilidade de azo corantes pode ser aumentada facilmente incorporando-se substituintes degradáveis dentro da estrutura dos corantes.

Nos tratamentos biológicos de efluentes têxteis e de corantes têm-se utilizado enzimas produzidas por fungos. A lignina peroxidase (LiP) e manganês peroxidase (MnP) são heme (ferro-porfirina) enzimas, agindo na presença de peróxido de hidrogênio. A LiP oxida o composto dimetóxi álcool veratrílico ao correspondente aldeído. Álcool veratrílico é usado no teste da LiP e é também um metabólito secundário produzido por muitos fungos de decomposição branca. Este composto

aromático induz a produção da LiP e protege a enzima da inativação por peróxido de hidrogênio. A lacase é uma enzima pertencente ao grupo das oxidases que complexam o cobre e é ativada pelo oxigênio (Ander e Marzullo, 1997). Com a lacase, têm-se tanto a polimerização como a despolimerização de lignina. Na descoloração de efluentes, substratos não-fenólicos podem ser oxidados pela lacase na presença de um mediador redox como ABTS (Burbonnais e Paice 1990).

Recentemente, vários trabalhos relacionados com a remediação de efluentes industriais e corantes foram publicados utilizando a LiP em sua forma livre e imobilizada (Antunes e col., 1997; Moraes e col., 1998a; Ollikka e col., 1998; Peralta-Zamora e col., 1998a).

Muitos estudos de tratamento de efluente têxtil com enzimas e fungos foram recentemente publicados (Kunz e col., 1998; Moraes e col., 1998b; Azmi e col., 1998; Peralta-Zamora e col., 1998b; Moraes e col., 1999; Peralta-Zamora e col., 1999).

Um estudo sobre o potencial de aplicações das enzimas oxidativas imobilizadas em tratamento de efluentes foi relatado por Durán e Durán (1999).

Além do sistema enzimático, uma outra alternativa para a descoloração/degradação de efluentes industriais está sendo estudada. A utilização de sideróforos para biobranqueio de polpa já é conhecida e vários trabalhos estão sendo desenvolvidos (Rodríguez e col., 1997; Parra e col., 1998a,b; Durán e col., 1998a, b; 1999), mas sobre a sua utilização na descoloração de efluente têxtil não há registros na literatura.

Sideróforos são compostos quelantes específicos com alta constante de afinidade por metais formando complexo com elevada estabilidade, são produzidos por microrganismos num ambiente deficiente em ferro. Sideróforo na forma de catecolato foi detectado em muitos fungos com capacidade degradativa de lignina (Durán e col., 1998).

Entre os compostos de baixa massa molar podemos englobar os quelantes de ferro do tipo sideróforos (Rodríguez e col., 1997). Propõe-se que os sideróforos possam ter um papel direto na modificação da lignina (Jellison e col., 1990).

Rodríguez e col. (1997), avaliaram a produção de sideróforos por *L. edodes*, *T. versicolor* e *P. chrysosporium* e a aplicação no branqueamento da polpa; os resultados

mostraram que o fungo *T. versicolor* foi altamente eficiente na produção de sideróforo. As condições de culturas para produção de sideróforos mostraram que a concentração de ferro e a oxigenação foram os parâmetros mais críticos.

Um dos mecanismos de aquisição de ferro, que é estudado amplamente em diferentes espécies de microrganismos quando encontram-se em meios onde há baixas concentrações deste micronutriente, é o de produção de sideróforos (Neilands, 1995).

Nas últimas três décadas mais de 100 sideróforos naturais foram isolados e caracterizados apresentando uma considerável variação estrutural (Neilands, 1993).

Dependendo da concentração de ferro e outros parâmetros ambientais, o ferro deve permanecer ligado com o quelante ou pode ser liberado na forma reduzida. O estado reduzido do ferro pode reagir com oxidantes tais como peróxido de hidrogênio onde uma reação tipo Fenton ocorre para gerar espécies radicalares do oxigênio (O_2^- e $OH\cdot$) (Goodell e col., 1997), utilizadas no tratamento de efluentes industriais, apresentando assim uma alternativa para resolver os problemas associados ao impacto ambiental.

Segundo Machuca e Milagres (1998), muitos fungos necessitam do ferro como um elemento essencial para o processo de degradação da madeira. Para seqüestrar e solubilizar o íon férrico, muitos microrganismos utilizam um eficiente sistema que consiste de compostos de baixo peso molecular (< 1 KDa) com alta afinidade ao Fe, do tipo sideróforo. Neste trabalho, os autores se propuseram a verificar se conhecidos fungos de decomposição da madeira são capazes de produzir compostos quelantes de Fe do tipo sideróforo com atividade oxidativa.

Santiago e col. (1999) também fizeram uma seleção de microrganismos, bactérias e fungos, produtores de sideróforos para utilizar no tratamento de efluentes da indústria têxtil e papeleira (Kraft E₁). Todos os microrganismos estudados apresentaram considerável produção de sideróforo no período de 10 dias, através do método, que utiliza o Chrome Azurol S (CAS) (Schwyn e Neilands, 1986).

Até o presente, são poucas as publicações que relatam as propriedades oxidativas dos compostos do tipo sideróforo em materiais lignocelulósicos (Parra e col., 1998b; Durán e col., 1998).

O fato dos diversos processos propostos para o tratamento de efluentes industriais freqüentemente apresentarem deficiências quando aplicados isoladamente, faz com que o estudo de processos combinados seja uma das alternativas mais viáveis para a redução do impacto ambiental de muitos resíduos industriais. Teoricamente, a elaboração de rotinas de tratamento fundamentadas na combinação das melhores propriedades de cada tipo de processo é uma das alternativas para enfrentar este crítico problema.

1.2.4. Degradação de corantes e efluentes têxteis por processos combinados

O tratamento de um dado efluente pode requerer a combinação de processos para obter resultados satisfatórios, com um custo não muito elevado. Na combinação de processos químicos e biológicos, nesta ordem por exemplo, o primeiro processo pode ser usado para eliminar os compostos orgânicos tóxicos ao segundo, aumentando a biodegradabilidade do efluente. Qualquer alternativa orientada a facilitar a aplicação de um processo biológico é bastante atraente, principalmente em função dos processos biológicos apresentarem um custo bastante menor (Esplugas e col., 1996).

Os efluentes são tratados por uma seqüência de processos físico-químico e biológicos. Tradicionalmente, coagulação e floculação (C/F) tem sido o primeiro passo do tratamento seguido pelo tratamento biológico. Na utilização do tratamento biológico convencional (lodo ativado), o inconveniente é o fato dos corantes ficarem adsorvidos no lodo e a geração de grandes volumes de lodo de difícil disposição.

De acordo com Grau (1991), novas tecnologias para descontaminação de efluentes são representadas pela oxidação catalítica, ozonização e adsorção/dessorção. Seu uso prático é, entretanto, escasso até o momento.

O tratamento de efluente têxtil por processos contínuos combinados por coagulação química, oxidação eletroquímica e tratamento com lodo ativado foi investigado por Lin e Peng (1996). Por estes processos, a qualidade do efluente têxtil tratado, em termos da concentração de demanda química de oxigênio e transparência, excedeu amplamente os padrões de emissão.

A combinação de processos químicos e biológicos para o tratamento de efluentes têxteis é de grande interesse devido aos grupos cromóforos dos corante serem recalcitrantes ao tratamento biológico (Gähr e col., 1994).

Altinkas e col. (1995) observaram a eficiência de remoção na DQO de 94 %, com a adição de um coagulante (alumina) no efluente têxtil, seguido de um tratamento por lodo ativado.

Outros trabalhos relacionados com a utilização de processos combinados foram encontrados (Nicolaou e Hadjivassilis, 1992; Lin e Liu, 1994; Churchley, 1994).

Tzitzí e col. (1994) obtiveram bons resultados para o tratamento de efluente têxtil utilizando ozonização após o estágio de coagulação-precipitação.

A mineralização da anilina em solução ácida ($\text{pH} = 3,0$) foi estudada por três processos oxidativos avançados: fotocatalise com TiO_2 , eletro-Fenton e fotoeletro-Fenton. O chamado processo fotoeletro-Fenton levou à destruição de uma solução de anilina de 100 mg L^{-1} à 100 mA e de 92% de COT após 6 horas de eletrólise. A degradação por fotocatalise é mais lenta que nos processos eletro-Fenton e fotoeletro-Fenton. A presença de Fe^{+2} e H_2O_2 na fotocatalise aumenta a velocidade de destruição da anilina no estágio inicial do processo, embora efeitos opostos tomem lugar num maior tempo de iluminação, quando uma elevada concentração de Fe^{+2} é adicionada (Brittas e col., 1998).

A utilização de métodos físicos como etapas de pré-tratamento ou polimento do processo final possui extrema importância em um tratamento efetivo. Neste sentido, a tecnologia de filtração com membranas vem demonstrando um alto potencial, principalmente no tratamento e reaproveitamento de águas residuárias de processos industriais (Madaeni, 1999; Teodosiu e col., 1999; Silva e col., 1999).

De Amorim e Soares (1999) utilizaram, como processo de tratamento para efluente têxtil, a nanofiltração, para remoção da cor. Mais de 90 % do corante foi concentrado e separado. A água pode ser reutilizada em novos processos de tingimento, se concentrações auxiliares de sais forem corrigidos, esta água pode ser, também usada para a lavagem da fábrica. A parte concentrada (composta pela hidrólise do corante) pode ser eventualmente tratada em solução por processo aeróbio (lodo ativado). Os contaminantes da água podem ser submetidos aos processos clássicos de

tratamento como a coagulação /filtração. Contudo, é possível o aparecimento freqüente de problemas devido a interferência de sais. Outro caminho seria a concentração do corante hidrolizado em um pequeno volume usando membranas de ultra-filtração.

Moraes e col. (1999) estudaram a degradação e redução da toxicidade do efluente têxtil combinando o processo fotocatalítico com a ozonização. Os resultados obtidos mostraram uma redução de cor de 95 %, carbono orgânico total (COT) de 60 % e a toxicidade do efluente foi reduzida em 50 % utilizando *E. coli* como organismo teste.

A degradação de corantes reativos azul 19, vermelho 251 e azul 21, utilizando processo fotocatalítico-ozônio simultâneo, foi estudada por Moraes e col. (1998c). Foi observada total descoloração em 15 minutos de tratamento para o corante azul 19, para os outros corantes, o processo combinado não foi tão eficiente quando comparado ao processo fotocatalítico isolado. Através do teste de toxicidade utilizando a bactéria *Vibrio fischeri* (Microtox), foi observada para o corante vermelho 251, a formação de compostos transientes tóxicos após 15 minutos de degradação, as análises por cromatografia corroboram a presença de novas espécies.

Poucos são os trabalhos publicados que utilizam processos combinados, mais raros são os artigos relacionados a processos fotoquímicos e biológicos. Os processos de tratamento de efluentes envolvendo fungos trazem perspectivas muito promissoras. Alguns trabalhos encontrados relacionados a processos fotoquímicos e biológicos combinados referem-se ao tratamento de efluentes derivados da indústria de papel e celulose.

Utilizando pré-tratamento fotoquímico, os problemas decorridos dos processos por transferência de fase são solucionados, o semicondutor pode ser usado não só na forma de suspensão como também sob a forma imobilizada.

Um tratamento posterior ao processo fotoquímico com a utilização de fungos ou de suas enzimas semi-purificadas desperta o interesse neste trabalho, já que as perspectivas são muito promissoras, pois não há a geração de grandes quantidades de biomassa e resíduos de difícil disposição, muitas vezes com um potencial altamente tóxico ao meio ambiente.

1.3. Estudo de Toxicidade em Organismos Vivos

Os testes de toxicidade com organismos aquáticos têm sido utilizados desde a década de 40 para prever o impacto do lançamento de agentes tóxicos em recursos hídricos. Ao longo dos anos 70, alguns pesquisadores dos Estados Unidos e Inglaterra observaram que as concentrações estabelecidas isoladamente para os diversos agentes tóxicos poderiam não preservar, efetivamente, a qualidade da água necessária para a manutenção da vida aquática, devido à mistura desses agentes. Isto tornou-se mais evidente ao estabelecer padrões de emissão para efluentes industriais e domésticos que geralmente contêm um grande número de agentes químicos potencialmente tóxicos (Bertoletti, 1990).

Parâmetros convencionais, tais como, demanda química de oxigênio (DQO) e sólidos suspensos não detectam a toxicidade dos compostos presentes numa variedade de efluentes industriais e águas tratadas. Então, a presença de espécies tóxicas em muitos resíduos industriais representa um impacto significativo sobre o tratamento biológico de efluentes, e manifesta efeitos adversos sobre águas receptoras.

Há uma necessidade aparente em assegurar um pré-tratamento individual adequado em plantas industriais para prevenir efeitos adversos sobre plantas de tratamento centralizado, bem como fornecer descargas de efluente final apropriados para minimizar o impacto nas águas receptoras.

Partindo dessas observações, e através do teste de toxicidade e análises químicas, vários pesquisadores intensificaram os estudos para identificação das possíveis interações entre os agentes tóxicos presentes em efluentes e seus efeitos sobre a biota (Blum e Speece, 1991).

Segundo Bertoletti (1990), o controle de efluentes industriais no Brasil, com a finalidade de reduzir os teores de substâncias tóxicas nos recursos hídricos tem-se baseado predominantemente nas análises químicas desses descartes, tendo como referência os padrões numéricos de emissão. Durante anos, as estimativas da toxicidade através de análise química foram insatisfatórias.

Investigações sobre a compatibilidade ambiental representam um critério essencial para avaliar o impacto dos processos industriais. É necessário para tal,

encontrar parâmetros que caracterizem efeitos ao ecossistema de uma maneira clara e compreensível.

Os ensaios biológicos padrões para determinação da toxicidade aguda e crônica aceitos pelas agências de controle ambiental necessitam de 2 a 7 dias para serem completados. O custo destes testes é elevado e utilizam normalmente peixes, macroinvertebrados aquáticos (*Daphnia* e *Ceriodaphnia*) e algas (*Selenastrum capricornutum* e *Scenedesmus subspicatus*).

Vários testes alternativos têm sido propostos para o controle da qualidade de águas, principalmente devido à sua sensibilidade, reprodutividade, facilidade de manuseio, custo e tempo de duração. Estes testes, por apresentarem um custo menor e rapidez nos resultados, podem ser utilizados no monitoramento de um número grande de amostras para estudos preliminares de toxicidade.

Muitas espécies microbiológicas estão sendo usadas para avaliar a toxicidade e/ou tratabilidade biológica. A inibição microbiana pela nitrificação por *Nitrobacter* ou pela perda da mobilidade do *Spirillum volutans* tem sido usada como indicador de toxicidade. Um outro indicador é a bioluminescência pela bactéria marinha *Photobacterium phosphoreum*, atualmente chamada de *Vibrio fischeri* (Assami e col., 1996; Jung e Bitton, 1997). Esta bactéria vive livremente ou em simbiose com peixes. A condição metabólica dos organismos é caracterizada por sua bioluminescência, ou seja, o decréscimo das condições metabólicas leva à redução da luminescência. A inibição da emissão da luz pela bactéria é o meio mais rápido de determinação da toxicidade aguda. Este teste, Microtox, foi utilizado por Hao e col. (1996) para detectar o potencial tóxico de compostos em efluentes industriais submetidos a pré-tratamento. Foram analisados 45 diferentes efluentes industriais por Microtox e outros parâmetros convencionais como DQO e COT (carbono orgânico total). Wells e col. (1994) fizeram um estudo avaliando a toxicidade de um efluente têxtil com *Daphnia pulex* os resultados mostraram que o principal determinante da toxicidade foi uma forma aniônica do zinco presente no efluente.

Outros tipos de ensaios muito utilizados são os respirométricos. Estes medem o consumo de oxigênio ou a produção de CO₂ dos bioindicadores. Os organismos

utilizados possuem, normalmente, uma taxa de reprodução alta permitindo a obtenção de resultados rápidos, como por exemplo a *Escherichia coli* (Jardim e col., 1993).

Os ensaios de toxicidade mais comuns anteriormente descritos, usam espécies únicas, ou seja, apenas um organismo indicador, representante de um único nível trófico, para avaliar a toxicidade. Apesar desses testes serem amplamente difundidos pela sua facilidade de realização e baixos custos envolvidos, a sua utilização tem sido criticada. Aponta-se como desvantagem o fato de os testes com espécies únicas ignorarem totalmente a interação entre os indivíduos de outras espécies que formam o ecossistema (Isomaa e Lilius, 1995).

Para solucionar esses problemas, alguns pesquisadores desenvolveram testes de toxicidade, nos quais mais de uma espécie de organismo indicador é utilizada. Esses testes são denominados ensaios multi espécies ou microcosmos e permitem a observação das interações entre as espécies estudadas. Os métodos mais simples são os que utilizam o lodo ativado (consórcio de microrganismos formado por bactérias, fungos, leveduras, protozoários e metazoários) como indicador biológico (Reginatto, 1998).

2. OBJETIVOS

O presente trabalho apresenta como principal objetivo a avaliação do potencial de processos biológicos e fotoquímicos em relação à remediação de efluentes provenientes da indústria têxtil.

2.1. Objetivos Específicos

- Estudos fotocatalíticos utilizando TiO_2 e ZnO no tratamento do efluente;
- Estudo biológico envolvendo o uso de diferentes fungos e suas enzimas;
- Estudos de novas alternativas para a remediação do efluente, combinação de processos (fotocatálise, ozonização e biológico);
- Avaliação da eficiência dos processos (isolados e combinados) em função da redução da concentração de carbono orgânico total (COT), cor e toxicidade utilizando a bactéria *Escherichia coli* (ATCC 25922) e a alga *Scenedesmus subspicatus* (SAG 8681);
- Utilização das técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia de permeação em gel (GPC) para verificar a formação de compostos intermediários e a variação da massa molar durante o tratamento.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Efluente Têxtil

As amostras de efluente têxtil utilizadas neste trabalho foram coletadas em uma indústria têxtil, localizada no distrito industrial na cidade de Americana. O efluente bruto foi compostado pela coleta diária das amostras num período de 7 dias. As amostras foram armazenadas sob refrigeração a 4 °C, pH 2,0 sendo o pH original em torno de 10. As características do efluentes são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1. Características do efluente têxtil.

Características Iniciais	Absorvância 610 nm	pH	Carbônio Orgânico Total	Cloratos
Efluente Têxtil	0,780	10	879 mg L ⁻¹	635 mg L ⁻¹

3.2. Corantes

Alguns corantes empregados nos processos de tingimento foram cedidos pela mesma indústria têxtil. A importância de estudar os corantes individualmente está relacionada ao fato dos mesmos estarem dissolvidos no efluente. Na Tabela 2 são apresentados os corantes e as condições em que foram utilizados nos experimentos.

Tabela 2. Corantes utilizados nos experimentos.

Corantes ¹	Concentração	pH
Alaranjado Reativo 122	15,0 (mg L ⁻¹)	11,0
Preto Reativo-5	125 mL L ⁻¹	9,5
Azul Marinho Reativo (WIN)	12,0 (mg L ⁻¹)	9,5
Vermelho Reativo-251	10,0 e 100,0 (mg L ⁻¹)	9,0 e 11,0
Azul Reativo-19	12,0 e 20,0 (mg L ⁻¹)	9,0 e 11,0
Amarelo Reativo-145	13,0 (mg L ⁻¹)	9,5
Azul Reativo 21	103,0 (mg L ⁻¹)	11,0

¹ Estes corantes foram utilizados sem nenhum tratamento prévio de purificação.

3.3. Controle Analítico

3.3.1. Carbono Orgânico Total (COT)

As medidas de COT foram realizadas seguindo-se a metodologia padrão (ISO - 1987), utilizando um analisador de carbono orgânico total Shimadzu TOC-5000. A determinação de Carbono Total (CT) é feita através do método de oxidação com aquecimento (680 °C), catalisada por platina adsorvida em um óxido de alumínio. A quantificação do Carbono Inorgânico (CI) se dá por meio de um analisador infravermelho não-dispersivo. O CI da amostra é convertido a CO₂ quando o mesmo reage com a solução acidificada pelo reagente para sua determinação. O COT é determinado pela diferença de CT e CI.

3.3.2. Determinação de Cor 1

A remoção de cor do efluente têxtil e dos corantes foi avaliada pela diminuição da absorção de acordo com o procedimento descrito em CCPA (1975), empregando um espectrofotômetro Hitachi modelo U-2000. O comprimento de onda foi fixado pela absorção máxima do efluente e dos corantes na região do visível (400 - 700 nm).

3.3.3. Determinação de Cor 2

A cor também foi avaliada de acordo com o método padrão descrito por Atlow e col. (1984). O pH das amostras foi ajustado para 7,6 com tampão fosfato 0,1 molL⁻¹ e determinada suas absorvâncias a 465 nm. Foi feita uma curva padrão em mgL⁻¹ de Platina e os resultados obtidos das amostras foram interpolados na curva, obtendo-se assim a unidade de cor. Neste procedimento, foi utilizado o Espectrofotômetro GBC UV/Vis 918.

3.3.4. Fenóis Totais

Foram analisados colorimetricamente, conforme procedimento padrão de Folin-Ciocalteu (APHA 1989). Foi utilizado 1 mL de amostra, 250 μ L do tampão carbonato-tartarato e 25 μ L do reagente de Folin e Ciocalteu. Esta mistura foi deixada em repouso por 30 minutos a 20 °C, após este tempo, as amostras foram analisadas no espectrofotômetro Hitachi modelo U-2000, em comprimento de onda de 700 nm.

3.3.5. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A cromatografia é uma técnica que permite separar, isolar e identificar componentes de uma mistura de espécies químicas. A amostra é então distribuída entre duas fases, uma estacionária e outra móvel, de tal forma que cada um dos componentes da mistura é seletivamente e retido pela fase estacionária. A obtenção dessas informações são do tipo qualitativas que envolve técnicas auxiliares, como por exemplo espectrometria de massa.

A principal vantagem dessa técnica é a possibilidade de injeção direta da amostra em meio aquoso, sem a necessidade de qualquer processo de extração.

O efluente têxtil e seus intermediários formados durante o tratamento e os corantes foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência, sendo as melhores condições de análise ajustadas experimentalmente. Utilizou-se um cromatógrafo Varian - detector UV-Vis modelo 9050; bomba modelo 9010, uma coluna C18 MCH 10 Varian para CLAE (4 mm \times 30 cm), com tamanho da partícula = 10 μ m, um injetor Rheodyne de volume = 10 μ L. Também foi utilizado o cromatógrafo Knauer pulp 64, Knauer Variable Wavelength Monitor, Integrador Spectra physics, coluna Lichrospher 100 RP-18.

Utilizaram-se dois sistemas, o isocrático e o de gradiente nos estudos de otimização.

Estudaram-se diferentes eluentes, em diferentes proporções, para otimizar a separação dos corantes e do efluente têxtil. As condições utilizadas para os testes são mostradas na Tabela 3.

Tabela 3. Condições utilizadas para otimizar a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência nas análises realizadas.

Mistura	Porcentagem
Metanol/Água	80/20
Metanol/Água	90/10
Metanol/Água	65/35
Metanol/Água	85/15
Metanol/NH ₄ Ac 0,1 molL ⁻¹	80/20
Metanol/H ₂ SO ₄ 5x10 ⁻⁴ molL ⁻¹	5/95
H ₂ SO ₄ 5x10 ⁻⁴ molL ⁻¹	100

As condições utilizadas em cromatografia líquida de alta eficiência foram otimizadas e os melhores resultados foram obtidos utilizando-se o sistema isocrático:

- fluxo = 0,5 mL.min⁻¹ (Varian) e 0,7 mL/min⁻¹ (Knauer)
- volume de amostra = 20µL
- Metanol/H₂SO₄ 5x10⁻⁴ molL⁻¹ e/ou H₂SO₄ 5x10⁻⁴ molL⁻¹
- λ = variável para cada corante e para o efluente.

3.3.6. Cromatografia de Permeação em Gel (CPG)

As análises por CPG foram feitas utilizando-se uma coluna ASAHIPAK GS-320H, temperatura de 30°C, fluxo de 1 mL min⁻¹, água bidestilada foi usada como solvente e o tempo de análise das amostras foi de 20 min. O aparelho usado foi um Shimadzu SIL-9A com injetor automático, detector RID – 10A (refractive index detector), uma bomba LC-10AD, forno CTO-10A, e CBM-101 (communication bus module).

3.3.7. Determinação do pH

As medidas de pH foram feitas no aparelho Controller Model 5997-60, e também no pHmetro portátil WTW pH 320/Set – 1. Foi utilizado um eletrodo de vidro combinado modelo Sem Tix 97T.

3.3.8. Espectrometria de Absorção Atômica

As determinações dos elementos foram realizadas utilizando-se um espectrômetro GBC 908 AA em chama ar-acetileno. As amostras foram analisadas para a determinação dos seguintes elementos: Ti, Zn, Cu, Ni, Fe.

3.3.9. Testes de toxicidade

3.3.9.1. MICROTOX

A toxicidade aguda das amostras dos corantes vermelho reativo 251, azul reativo 19 e azul reativo 21, antes e após os tratamentos, foi avaliada através do teste Microtox. O Aparelho utilizado foi M500 Toxicity Analyser (UNDP).

Este bioensaio utiliza como organismo teste a bactéria marinha *Vibrio fischeri*. Essa bactéria emite luz como mecanismo de liberação de energia durante seu metabolismo normal. A intensidade de luz emitida é portanto uma medida da atividade metabólica desta bactéria. Quando é exposta a uma amostra tóxica, a atividade de sua enzima luciferase (responsável pela luminescência) é inibida (Ronco, 1992). Os resultados obtidos por este teste de toxicidade são expressos em termos de EC₅₀, a qual representa a concentração que causa a redução de 50 % de intensidade de luz.

3.3.9.2. ALGA *Scenedesmus subspicatus*: (ISO 8692) (Reginatto, 1998)

Cultura da alga

Como organismo indicador foi utilizada a alga verde de água doce, *Scenedesmus subspicatus* (cepa número 8681 SAG), adquirida da coleção de culturas de algas do "Pflanzenphysiologisches Institut", localizado em Göttingen, Alemanha.

A cultura da alga, recebida em meio sólido (Agar 2% + meio A), foi transferida, com auxílio de alça de platina, sob condições estéreis, para um Erlenmeyer de 125 mL contendo o meio A (TABELA 4). Esta pré-cultura foi deixada sob agitação a 100 rpm e 23 °C, por 14 dias, sob intensidade luminosa (entre 6000 e 8000 Lux). Após este período, retirou-se 1 mL da pré-cultura em condições estéreis para um Erlenmeyer de 125 ml contendo 30 mL do meio A, para servir de inóculo para uma nova cultura. O

período de crescimento foi de 2 a 4 dias, sob as mesmas condições da pré-cultura e esta foi utilizada como inóculo para a realização do ensaio de toxicidade. A suspensão de algas foi diluída, quando necessário, para obter a concentração de alga desejada para o inóculo das amostras (absorvância de 0,160 a 680 nm).

Preparação do meio A:

A constituição da solução de nutrientes é mostrada na Tabela 4. As soluções estoques foram autoclavadas a 120 °C por 15 min e estocadas no escuro a 4 °C. A preparação da solução de nutrientes foi realizada através da adição de 100 mL da solução estoque 1, 10 mL da solução estoque 2, 10 mL da solução estoque 3 e 10 mL da solução estoque 4 e o volume final foi completado a 1000 mL.

Tabela 4. Constituição da solução de nutrientes utilizado para o cultivo da alga *S. supspicatus*.

Nutrientes	Concentração na solução estoque	Concentração final na solução teste
Solução estoque 1: macro-nutrientes		
NH ₄ Cl	1,5 gL ⁻¹	15,0 mgL ⁻¹
MgCl ₂ .6H ₂ O	1,2 gL ⁻¹	12,0 mgL ⁻¹
KH ₂ PO ₄	0,16 gL ⁻¹	1,6 mgL ⁻¹
CaCl ₂ .2H ₂ O	1,8 gL ⁻¹	18,0 mgL ⁻¹
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,5 gL ⁻¹	15,0 mgL ⁻¹
Solução estoque 2: Fe-EDTA		
FeCl ₃ .6H ₂ O	80,0 mgL ⁻¹	80,0 µgL ⁻¹
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	100,0 mgL ⁻¹	100,0 µgL ⁻¹
Solução estoque 3: elementos traço		
H ₃ BO ₃	185,0 mgL ⁻¹	185,0 µgL ⁻¹
MnCl ₂ .4H ₂ O	415,0 mgL ⁻¹	415,0 µgL ⁻¹
ZnCl ₂	3,0 mgL ⁻¹	3,0 µgL ⁻¹
CoCl ₂ .6H ₂ O	1,5 mgL ⁻¹	1,5 µgL ⁻¹
CuCl ₂ .2H ₂ O	0,01 mgL ⁻¹	0,01 µgL ⁻¹
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	7,0 mgL ⁻¹	7,0 µgL ⁻¹
Solução estoque 4: NaHCO₃		
NaHCO ₃	50,0 gL ⁻¹	50,0 mgL ⁻¹

Condições do ensaio:

A vidrarias necessária para a realização deste ensaio foi previamente lavada com HCl 10 %, seguida de enxágüe (no mínimo 7 vezes com água deionizada) para a remoção total de traços de nutrientes.

Os ensaios foram realizados em frascos Erlenmeyers de 125 mL aos quais foram adicionados a amostra em diferentes diluições, meio A e uma quantidade definida de alga (10^6 cel . mL⁻¹, que corresponde a uma absorvância de 0,160 a 680 nm (máximo de absorção da clorofila a)). Os ensaios foram realizados em duplicata para cada diluição da amostra, sendo que o volume final em todos os frascos foi de 30,0 mL. Para cada diluição, amostras controle também foram incubadas com a mesma constituição no entanto, sem adição da alga. Um controle para comparação do crescimento da alga nas diluições, demonstradas na Tabela 5, também foi incubado em triplicata, sendo este constituído de 26 mL de água destilada, 3 ml do meio A e 1 mL de inóculo da alga.

As concentrações iniciais de alga em cada frasco Erlenmeyer foram determinadas logo após a preparação do inóculo. Os frascos foram posteriormente incubados à temperatura de 23°C e sob agitação constante (100 rpm).

Tabela 5. Esquema para a realização do ensaio de toxicidade com a alga *S. subspicatus*.

Diluição	Amostra problema (mL)	Água destilada para diluição (mL)	Meio de cultura (meio A) (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

A fonte luminosa (luz tipo branca universal) necessária ao crescimento da alga encontrava-se a aproximadamente 50 cm acima dos banhos termostatzados (Figura 4). As intensidades luminosas (aproximadamente 70 mmol m⁻²s⁻¹ da solução de K₂CrO₄ em relação a sua medida de fotoxidação) de cada lugar do banho termostatzado, foram

medidas com auxílio de um luxímetro na altura da lâmina d'água onde os Erlenmeyers permaneceram pelo período de realização do teste. Após 72, horas foi realizada novamente uma medida da concentração da alga na amostra controle e nas diferentes diluições da amostra.

Medida de concentração da alga:

As concentrações da alga em solução foram determinadas através da medida da fluorescência da clorofila a das culturas de alga, tanto na amostra controle quanto nas amostras diluídas. O comprimento de onda de excitação foi de 465 nm e a emissão determinada a 685 nm, utilizando-se um fluorímetro Aminco modelo SPF-500 C™.

A taxa de crescimento diário das algas (μ) foi determinada conforme a equação abaixo:

$$\mu / dia = \frac{[(\ln E_{72}) - (\ln E_0)] \times 24}{72}$$

onde:

μ/dia = 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

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

$$\%_{inibição} = 100 - \frac{\mu_a + 100}{\mu_c}$$

onde:

μ_a = taxa de crescimento diário da alga na amostra

μ_c = taxa de crescimento diário da alga no controle



Figura 4. Sistema utilizado no teste de toxicidade com a alga *Scenedesmus subspicatus*.

3.3.9.3. *Escherichia coli* ATCC 25922 (Moraes, 1995)

Cultura da bactéria

Como organismo indicador foi utilizada a bactéria *E. coli* (ATCC 25922), adquirida junto à coleção de culturas da Fundação Tropical André Tosello, localizada em Campinas - SP. A cultura liofilizada da bactéria foi transferida, sob condições estéreis, para um tubo de ensaio contendo o meio de cultura (Tabela 6). Esta cultura foi mantida a 37 °C por 24 horas. Após este período repicou-se a bactéria em placas com meio sólido (ágar-sangue), as placas foram colocadas em estufa por 48 horas. Estas placas foram armazenadas em refrigerador (tempo de meia-vida de 15 dias). Para a realização de cada experimento, após cultivo em meio sólido, *E. coli* foi inoculada em meio líquido (1 alça do cultivo de *E. coli* em meio sólido) e incubada a 37 °C por 24 h. Após este período, o meio de cultura apresentou-se turvo, denotando o crescimento bacteriano, o qual foi então utilizado como inóculo para o teste de toxicidade.

Tabela 6. Composição do meio para crescimento da bactéria *E. coli*

Reagentes	Concentração (g L ⁻¹)
K ₂ HPO ₄	7,0
KH ₂ PO ₄	3,0
Citrato de sódio	0,5
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,0
MgSO ₄ .H ₂ O	0,2
Glicose	20,0

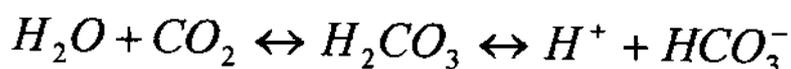
Preparação do meio de cultura

Todos os reagentes (com exceção da glicose) foram diluídos em aproximadamente 800 mL de água deionizada, o pH foi ajustado para 7,2 com KOH e o meio de cultura foi esterilizado. A glicose foi diluída em 200 mL de água deionizada e esta solução também foi esterilizada. Após resfriamento, as soluções foram misturadas em condições estéreis e guardadas sob refrigeração.

Monitoramento do CO₂ por AIF²-Condutimétrico Interfaceado

Primeiramente, foi preparado um volume de 100 mL de uma solução estoque de Na₂CO₃ 100 mmol L⁻¹ (previamente seco em estufa a 120 °C por 1 hora). Em seguida, preparou-se, a partir da solução estoque, 50 mL e soluções com concentrações de 0,25; 0,5 ; 1,0 ; 2,0 ; 3,0 mmol L⁻¹ de Na₂CO₃. Estas soluções foram injetadas no sistema AIF condutométrico para obtenção da curva de calibração.

Neste procedimento, um volume determinado de amostra (135 µL), contendo as espécies carbônicas (CO₂, HCO₃⁻ e CO₃⁻²), é injetado num fluxo carregador (água deionizada), o qual conflui com o fluxo de ácido sulfúrico diluído (0,5 %). O meio ácido desloca o equilíbrio no sentido da formação do CO₂, de acordo com a equação abaixo:



O CO₂ formado no meio ácido ao passar pela cela de difusão permeia por uma membrana de PTFE (Teflon®) e atinge um fluxo de água deionizada, deslocando o equilíbrio para a formação dos íons bicarbonato e carbonato. A condutividade deste fluido é então alterada devido ao CO₂ presente na amostra. A mudança na condutância é proporcional à concentração total de CO₂ presente na amostra.

Realização do ensaio

O meio de cultura foi inoculado com a bactéria *E. coli* (organismo teste) e a concentração de CO₂ produzido pela respiração microbiana foi monitorada até atingir 0,5 mmolL⁻¹. O frasco foi mantido em banho termostatizado a 37 °C. Aliquotas de 45 mL do meio contendo a bactéria, foram transferidas para Erlenmeyers de 125 mL e contaminadas com 5 mL da amostra (alíquotas retiradas dos diferentes tratamentos). O pH das alíquotas foi ajustado para 7,0. Foi feito um controle do crescimento bacteriano (adicionou-se 5 mL de água destilada ao invés da amostra). A concentração de CO₂ nos diversos frascos foi obtida pela interpolação dos dados na curva de calibração. As determinações foram feitas a cada 20 minutos, finalizando o experimento em 2 horas (Guimarães, 1990; Moraes, 1995).

² Sistema de Análise de Injeção em Fluxo (AIF)

Foi utilizada tetraciclina como padrão positivo do teste que apresenta uma inibição de aproximadamente 40% na respiração da bactéria em relação ao controle (Durán e col., 1998c).

3.3.10. Demanda Química de Oxigênio (DQO)

Para determinar a DQO, todas as amostras foram filtradas, e em cada tubo foi colocado 1 mL de amostra e 2,5 mL de água destilada. Adicionou-se 1,5 mL de solução digestora, 3,5 mL de solução catalítica (deve ser adicionada lentamente para formar duas fases), tampou-se os tubos e agitou-se até homogeneizar; os tubos foram colocados no aparelho de digestão a uma temperatura de 148°C, durante 2 horas. Após 2 horas os tubos foram retirados e deixou-se esfriar a temperatura ambiente, colocou-se então, 6 gotas de ferroína e titulou-se com solução SFA³.

Solução Digestora 0,0167 mol L⁻¹ :

Adicionou-se a 500 mL de água destilada 4,913 g de K₂Cr₂O₇, previamente seco a 103 °C durante 2 h. Colocou-se 167 mL de ácido sulfúrico concentrado e 33,3 g de HgSO₄. Após dissolver, deixou-se esfriar a temperatura ambiente e diluiu-se até 1L.

Solução Catalítica :

Adicionou-se Ag₂SO₄ a H₂SO₄ na proporção 5,5 g de Ag₂SO₄ / kg de H₂SO₄. Deixou-se 1 a 2 dias, com agitação constante, para dissolver o Ag₂SO₄ (o balão foi coberto com papel alumínio).

Solução de SFA:

Sulfato Ferroso Amoniacal 0,1 mol.L⁻¹: Foram dissolvidos 39,2 g de Fe(NH₄)(SO₄)₂.6H₂O em água destilada. Adicionaram-se 20 mL de ácido sulfúrico concentrado, esfriou-se e diluiu-se até 1 L (a qual foi guardada em frasco âmbar).

³ SFA Sulfato Ferroso de Amônio

Cálculo da concentração de SFA:

$$\text{Concentração do SFA (mol L}^{-1}\text{)} = \frac{[\text{vol de K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \times 0,1]}{\text{vol. do SFA}_{\text{gasto}}(\text{branco})}$$

$$\text{DQO (mgO}_2\text{.L}^{-1}\text{)} = \frac{(A - B) \times C \times 8.000}{\text{vol. da Amostra (mL)}}$$

onde,

A = volume gasto do branco (mL)

B = volume gasto da amostra (mL)

C = concentração do SFA (mol L⁻¹)

3.4. Estudo Cinético da Degradação de Corantes Isolados e do Efluente Têxtil

A cinética de degradação dos corantes foi acompanhada pela variação de absorvância em intervalos de tempo de 1, 5, 10 e 15 minutos para azul reativo 19, azul reativo 21 e vermelho reativo 251, e 5, 10, 20 e 40 minutos para o efluente têxtil.

3.4.1. Geração e medida de ozônio

O ozônio foi gerado a partir de oxigênio puro utilizando-se um ozonizador OZOCAV OEC - 0802x. Ozônio foi produzido numa vazão de 0,45g.L⁻¹ e determinado espectrofotometricamente fazendo-se passar a corrente gasosa que contém a mescla de oxigênio e ozônio por uma célula de fluxo a 258 nm (Chiou e col., 1995).

3.4.2. Fotodegradação de Corantes e Efluente Têxtil

O sistema utilizado para fotocatalise é composto por um reator de vidro Pyrex ou quartzo com sistema de refrigeração, uma fonte de luz (lâmpada a vapor de Hg com bulbo removido) e um agitador magnético. As amostras foram irradiadas em intervalos

de tempo variados, sob borbulhamento constante de oxigênio numa vazão de $\sim 200 \text{ mL min}^{-1}$ e agitação; as alíquotas (5 mL) foram retiradas do reator em tempos pré-determinados e filtradas em membrana Millipore de $0,2 \mu\text{m}$ de porosidade.

Para a fotodegradação do efluente têxtil, a quantidade do catalisador variou entre 30 mg ; 50 mg ; 100 mg e 150 mg; os semicondutores utilizados foram TiO_2 e ZnO , para volumes de 50 mL, 100 mL, 150 mL, 140 mL. Na fotodegradação dos corantes, utilizou-se 50 mg dos catalisadores num volume de 100 mL e 50 mL. O efluente têxtil bruto foi fotodegradado em diferentes pH: 2,0 ; 4,5 ; 7,5 e 9,5.

3.4.3. Estudo Cinético

A degradação do efluente e/ou corantes foi realizada através dos seguintes processos:

3.4.3.1. Ozonização

As soluções dos corantes foram ozonizadas a pH 11,0; em temperatura ambiente, num reator de quartzo de 200 mL. O volume da amostra ozonizada foi de 100 mL. Este reator é dotado de um dispersor de gás, confeccionado com vidro sinterizado, para aumentar a eficiência na transferência de massa. A quantidade de ozônio produzido e consumido foi determinada espectrofotometricamente.

3.4.3.2. Fotólise - Luz UV

No reator de quartzo colocou-se 100 mL de amostra e, antes de iniciar o experimento, a lâmpada foi aquecida (2 minutos). A lâmpada utilizada foi de Hg (vapor) com o bulbo removido (125 watts-HTP, $\lambda=254 \text{ nm}$, fluência de energia de 12 mW.cm^{-2}). O sistema montado no laboratório possui refrigeração contínua por ventilação. A distância da lâmpada até o reator foi de 15 cm.

3.4.3.3. Fotocatálise ($\text{O}_2/\text{UV}/\text{TiO}_2$) e ($\text{O}_2/\text{UV}/\text{ZnO}$)

No reator de quartzo colocou-se 100 mL de amostra e adicionou-se 50 mg de catalisador (TiO_2 - Degussa P25 $30 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ e/ou ZnO - Merck $< 1 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$) com borbulhamento de oxigênio. Após o término de cada tempo, as amostras foram filtradas em filtro Millipore® $0,22 \mu\text{m}$.

3.4.3.4. Combinado: Ozônio-Fotoquímica (O₃/UV)

No reator contendo 100 mL amostra, foi iniciada a irradiação (com a lâmpada a vapor de Hg pré-aquecida) no mesmo instante que foi gerado o ozônio.

3.4.3.5. Combinado: Ozônio-Fotocatálise (O₃/UV/TiO₂) e (O₃/UV/ZnO)

Procedeu-se da mesma maneira que no processo de fotocatalise só que neste caso o ozônio foi gerado.

3.5. Tratamento Fotocatalítico – Variação do pH

Foi adicionado 50 mg do catalisador (TiO₂ e/ou ZnO) e 100 mL de efluente têxtil no reator de quartzo, a lâmpada utilizada foi de Hg de 250 Watts, o tempo de fotocatalise foi de 5 horas, e os diferentes pH testados foram 2,0 ; 4,5 e 9,5.

3.6. Tratamento Fotocatalítico – TiO₂

Foram utilizadas as seguintes condições para os experimentos:

a) reator de vidro com camisa interna de quartzo, 100 mg de catalisador, 150 mL de efluente, pH 5,5;

b) reator de vidro com camisa interna de quartzo, 150 mg de catalisador, 150 mL de efluente, pH 7,0

3.7. Tratamento Fotocatalítico – ZnO

Foi utilizado o reator de vidro com camisa interna de quartzo, 50 mg de catalisador em 100 mL de efluente a pH 9,0.

Em todos os experimentos utilizando catalisador, as amostras foram centrifugadas a 5000 rpm por 10 minutos para posterior análises.

3.8. Tratamento Fotocatalítico utilizando TiO₂ e ZnO imobilizados em “anéis de Raschig”

Foi utilizado um reator de vidro com camisa interna de quartzo recheada com os “anéis de Raschig” com TiO₂ e/ou ZnO imobilizados, lâmpada a vapor Hg de 125 W (fluência de 113,40 J m² s⁻¹), 250 mL de efluente têxtil, tempo de tratamento foi de 2 horas. Borbulhou-se O₂ constantemente até o término do experimento numa vazão de 200 mL min⁻¹, pH do efluente 10,0.

3.9. Estudo da Utilização de Microrganismos

Microrganismos – Os fungos *Gloeophyllum trabeum*, *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium* e *Lentinus edodes* fazem parte da Coleção da Fundação Tropical André Tosello – Campinas, SP; o fungo *Trametes villosa* foi cedido pelo Departamento de Bioquímica (CCB) da Universidade Federal de Santa Catarina – Florianópolis, SC (a mesma cepa apresenta-se catalogada na Fundação Tropical como CCT 5567). A bactéria *Azotobacter vinelandii* (catalogada com o n° 1218) faz parte da Coleção da ESALQ – Escola Superior de Agricultura Luís de Queiróz – Piracicaba, SP; e a bactéria *Pseudomonas fluorescense* foi cedida pelo Instituto Biológico de São Paulo – São Paulo, SP.

3.9.1. Cultivo do fungo *Phanerochaete chrysosporium* (ATCC 24725) em meio sólido

O fungo foi inoculado em meio extrato de malte 20 % e incubado durante 5 dias a 37 °C.

3.9.2. Cultivo do fungo em meio líquido

Produção enzimática em frasco Erlenmeyer. O método utilizado consiste de um meio limitante de carbono. Este meio é composto por uma solução tampão de tartarato de amônio pH 4,5 (750 mL / 1,5 L), solução de glicose 10 %, solução de vitaminas (1,5

mL / 1,5 L) e água destilada. A solução de vitaminas foi preparada da seguinte maneira: Biotina (4mg / 100 mL), ácido fólico (4 mg / 100 mL), ácido thiótico (10 mg / 100 mL), ácido p-aminobenzóico (10 mg / 100 mL), riboflavina (10 mg / 100 mL), dicloreto de tiamina (100 mg / 100 mL), cianocobalamina B12 (0,2 mg / 100 mL), pirodotina B6 (20 mg / 100 mL), ácido nicótico (10 mg / 100 mL) e pantotinata de cálcio (10 mg / 100 mL). O tampão, a solução de glicose e a água destilada foram autoclavados a 120 °C e 1 atm por 20 minutos. A solução de vitaminas não foi autoclavada, sendo adicionada ao meio final. Preparou-se uma solução de esporos a partir do meio de cultura. As placas de Petri contendo o meio citado foram lavadas com 20 mL de água esterilizada; a solução resultante foi filtrada em funil contendo lã de vidro (também esterilizados). Retirou-se 1 mL da solução filtrada e completou-se a 5 mL medindo-se a absorbância em 650 nm. O número de esporos por mL é determinado pela seguinte relação (Linko e Zhong, 1986):

$$\text{no. de esporos / mL} = \frac{\text{abs} \times 5 \times 10^6}{0,1843}$$

Utilizaram-se frascos Erlenmeyers de 500 mL com o fungo imobilizado em 1,7 g de Nylon em 250 mL de meio. Os frascos foram mantidos em uma incubadora a 37 °C com dispositivo de agitação 150 rpm. A indução para produção de enzimas foi feita com álcool veratrílico 200 mM e tween 80 10%, após o consumo de glicose (normalmente após 4 dias) e a agitação foi reduzida para 60 rpm. A cada extração de caldo enzimático, oxigenava-se os Erlenmeyers por 15 min. As enzimas produzidas passaram por três processos diferentes para concentrar suas atividades: ultrafiltração, diálise e liofilização.

- Ultrafiltração - após o caldo ser filtrado em membrana Millipore® (0,45 µm), o mesmo foi ultrafiltrado em membrana de separação 10.000 MNHL polisulfona (Millipore®) em um aparelho Minitan System (Millipore®).
- Diálise - o material foi dialisado por um período de 24 horas.
- Liofilização - após filtração, ultrafiltração e diálise, o caldo foi liofilizado em um liofilizador L5KR (EDWARDS).

3.9.3. Determinação da atividade enzimática

A atividade de Lignina Peroxidase (LiP) foi determinada pela oxidação do álcool veratrílico. A mistura de reação foi composta de 0,5 mL de caldo filtrado, 0,05 mL de H_2O_2 10 mmol L^{-1} , 0,375 mL de tampão tartarato de sódio 0,33 mol L^{-1} (pH 3,0), 0,45 mL de água destilada e 0,125 mL de álcool veratrílico 4 mmol L^{-1} . O aparecimento do aldeído veratrílico foi determinado observando-se a velocidade da reação por 5 minutos a 310 nm. Uma unidade de LiP correspondeu à quantidade de enzima que oxidou 1,0 μmol de álcool veratrílico por minuto e por L do caldo de cultivo (Tien e Kirk, 1984).

A atividade de Manganês Peroxidase (MnP) foi determinada observando-se a oxidação do vermelho de fenol. A mistura de reação foi composta de 0,5 mL de caldo filtrado; 0,1 mL de lactato de sódio 0,25 mol L^{-1} ; 0,2 mL de albumina bovina 0,5%; 0,05 mL de MnSO_4 2,0 mmol L^{-1} ; 0,05 mL de uma solução de H_2O_2 2,0 mmol L^{-1} preparada em tampão succinato de sódio 0,2 mol L^{-1} (pH 4,5) e 0,1 mL de vermelho de fenol 0,1%. A mistura de reação foi incubada a 30 °C durante 5 minutos e a reação foi interrompida pela adição de 40 μL de NaOH 2,0 mol L^{-1} . Uma unidade de MnP foi definida como a quantidade de enzima que oxida 1,0 μmol de vermelho de fenol por Litro e por minuto (Kuwahara e col., 1984).

3.9.4. Imobilização enzimática

Colocou-se 3 g de resina IRA-400 (ativada) em um béquer e 50 mL do caldo enzimático com atividade conhecida. Nos testes com lignina peroxidase, o caldo apresentava uma atividade entre 94 e 214 U L^{-1} . O béquer foi mantido sob agitação durante 30 minutos a temperatura de 4 °C. Alíquotas foram retiradas em intervalos de 10 minutos e a atividade foi medida de acordo com a metodologia descrita anteriormente. Após esse intervalo de tempo, filtrou-se a amostra em funil de büchner e a atividade do filtrado foi medida. A seguir, lavou-se a amostra com água deionizada e deixou-se em dessecador sob vácuo para secar (48 horas). Na Tabela 7 são apresentadas as condições do ensaio realizado com o efluente têxtil. Mediram-se fenóis totais e redução de cor em diversos comprimentos de onda (400, 515 e 600 nm). A atividade da LiP foi de 150 U L^{-1} .

A ausência de enzima no béquer 2 visa determinar a influência do suporte (resina) no tratamento do efluente.

Tabela 7. Testes realizados com o efluente têxtil

Béquer 1	20 mL de efluente + 0,5 mL de H ₂ O ₂ 1 mM + 0,1 g de enzima imobilizada
Béquer 2	20 mL de efluente + 0,5 mL de H ₂ O ₂ 1 mM + 0,1 g de resina ativada

3.9.5. Tratamento Enzimático utilizando LiP e MnP

Após a obtenção das enzimas LiP e MnP, mediu-se a atividade e iniciou-se o tratamento enzimático com o efluente da indústria têxtil e os corantes azul reativo 19, laranja reativo 122, preto reativo 5 e vermelho reativo 251.

O procedimento para realização dos ensaios foi seguido conforme Olikka e col. (1993). Os valores de absorvâncias foram obtidos fazendo-se espectros de varredura entre 200 a 700 nm para verificar possíveis alterações na região do ultravioleta e do visível.

3.9.5.1. Efluente Têxtil:

A mistura de reação foi de 2,0 mL de tampão tartarato de sódio 0,33 M e pH 3,0; 2,0 mL de efluente; 1,0 mL de enzima; 1,0 mL de álcool veratrílico e para iniciar a reação foi adicionado 0,5 mL de peróxido de hidrogênio, sob agitação constante. As temperaturas utilizadas nos experimentos foram 20 e 27 °C.

3.9.5.2. Corantes:

Foi utilizado um volume de 360 µL de tampão tartarato de sódio 0,33 M e pH 3,0; 300 µL de corante (a concentração dos corantes testados foi a mesma); 100 µL de álcool veratrílico (0,4 mM); 200 µL de enzima (referente a 0,1 U L⁻¹) e 40µL de peróxido de hidrogênio (0,4 mM), sob agitação constante. A temperatura utilizada foi de 27°C. O tempo de reação foi variável para cada corante.

Cálculo da atividade enzimática em U.L⁻¹

$$\text{Atividade enzimática} = \text{Média da Velocidade} \times 537 \quad (\text{para a Lignina Peroxidase})$$

$$\text{Atividade enzimática} = \text{Abs.} \times 448/5 \text{ min} \quad (\text{para Manganês Peroxidase})$$

Determinação do valor do fator 537

considerando:

$$A = \varepsilon \times c \times b$$

Onde

A: absorvância

 ε : absortividade molarb: comprimento da cela (no caso $b=1$ cm)

c: concentração molar

com $b=1$, então

$$A = \varepsilon \times c$$

ou,

$$c = A/\varepsilon$$

como

$$A = \Delta_{\text{Abs}} / \Delta T$$

sendo $\varepsilon=9300$, valor da absortividade molar para o aldeído veratrílico;então a expressão em (iii) ficará igual a: $c = \Delta_{\text{Abs}} / 9300 \Delta T$ [mol L⁻¹ min⁻¹]

No experimento foi utilizada uma quantidade de enzima de 250 μL num volume final de 1.250 μL (5 vezes diluída); então calcula-se a atividade da seguinte maneira:

atividade U L⁻¹ = $\Delta_{\text{Abs}} / \Delta T$ ($5 \times 10^6 \times (1/9300)$); sendo que a expressão entre parentes é igual ao fator 537.

Lignina Peroxidase

Uma unidade enzimática foi definida como a quantidade de enzima capaz de oxidar 1 μmol de substrato/min/L de filtrado da cultura, de acordo com a fórmula:

$$\text{Atividade (UL}^{-1}\text{)} = \frac{\Delta A_{310} V_t}{\epsilon_{310} V_a dt}$$

onde:

ΔA_{310} : diferença na leitura da absorbância em 310 nm.

V_a : volume da amostra (mL)

V_t : volume total dos reagentes (mL)

ϵ_{310} : absorvidade molar para o aldeído veratrílico em 310 nm, $9300 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

d : caminho óptico (cm)

t : tempo de reação (min)

Manganês peroxidase

Uma unidade enzimática foi definida como a quantidade de enzima capaz de oxidar 1 μmol de vermelho fenol/min/L de filtrado da cultura, de acordo com a fórmula:

$$\text{Atividade (UL}^{-1}\text{)} = \frac{\Delta A_{610} V_t}{\epsilon_{610} V_a dt}$$

onde:

ΔA_{610} : diferença na leitura da absorbância em 610 nm.

V_a : volume da amostra (mL)

V_t : volume total dos reagentes (mL)

ϵ_{610} : coeficiente de extinção molar para o aldeído veratrílico em 610 nm, $9300 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

d : caminho óptico (cm)

t : tempo de reação (min)

3.9.6. Cultivo do fungo para produção de Lacase

Fungos utilizados: *Trametes versicolor* CCT 4521 e *Trametes villosa* CCT 5567

Procedimento 1 - Meio de cultura: 12,5 g de extrato de malte (OXOID), 1,0 g de ágar em 250 mL de água destilada. Temperatura de incubação de 28°C durante 10 dias. Inoculação dos fungos nas placas.

Procedimento 2 - Meio de cultura: 5% do meio pronto (3% de extrato de malte, 1,5% de ágar e 0,5% de peptona). Foi adicionada 0,1 mg de ácido Ferúlico. Tempo de incubação de 20 dias a 28°C.

Procedimento 3 - Meio de cultura líquido: Em um Erlenmeyer foi adicionado 1 L de água e colocado sabugo de milho em pedaços, deixando em aquecimento até a ebulição. O caldo obtido foi filtrado e adicionado 1,25% de extrato de malte; após esterilizou-se por 15 minutos. O pH do meio não foi ajustado, deixou-se o pH original (5,7). Em capela de fluxo laminar, separou-se em dois Erlenmeyers o meio esterilizado; num deles, foi inoculado o fungo *T. villosa* e no outro, *T. versicolor*. Colocou-se então o meio sob agitação a 150 rpm e 25°C durante 8 dias, após mediu-se a atividade da enzima produzida.

3.9.6.1. Medida da atividade da Lacase

A atividade de lacase foi determinada usando-se siringaldazina (algumas determinações foram feitas com a *o*-dianisidina) como substrato. A oxidação da siringaldazina foi conduzida numa mistura de reação contendo 0,6 mL do caldo filtrado, 0,3 mL de tampão citrato fosfato 50 mmol L⁻¹ pH 5,0 e 0,1 mL de siringaldazina 1,0 mmol L⁻¹. A reação teve início pela adição da siringaldazina e a velocidade de oxidação desta foi acompanhada por 5 minutos a 525 nm. Uma unidade de atividade de lacase

foi definida como a quantidade de enzima necessária para oxidar 1 μmol de substrato por minuto e por L do caldo de cultivo (Szklarz e col., 1989).

Cálculo da atividade em U.L⁻¹

Média da Velocidade \times 56,4 (*o-dianisidina*)

Média da Velocidade \times 25,5 (*siringaldazina*)

3.9.6.2.Imobilização da Enzima Lacase

Os suportes utilizados para a imobilização foram: resina IRA 400 (fortemente básica), resina ion-exchanger II da Merck (fracamente básica) e vitrocerâmica porosa (diferentes granulometrias). As resinas foram ativadas durante 1 hora sob agitação com solução de NaOH 1 mol L⁻¹. Um volume de 20 mL de enzima contendo aproximadamente 500 U L⁻¹ foi colocado em 3 béquers contendo 2 g de resina; no primeiro, foi a IRA 400; no segundo, a resina da Merck e no terceiro, a vitrocerâmica. Deixou-se agitando por 2 horas e alíquotas foram retiradas num intervalo de tempo de 30 minutos. O corante testado foi o azul reativo 19. Em um béquer foi adicionado um volume de 20 mL de corante e 2 g de resina IRA 400; deixou-se agitando por 2 h e alíquotas foram retiradas a cada 30 minutos para análise de espectrometria. Repetiu-se o procedimento para a resina da Merck e a vitrocerâmica (com granulometria variada). O comprimento de onda utilizado foi 592 nm.

3.9.6.3.Experimento de descoloração utilizando a enzima Lacase

Foram adicionadas em 2 mL de corante (azul reativo 19 e vermelho reativo 195 - com diferentes concentrações), 20 μL de enzima e 20 μL de HOBT (mediador da reação). Para o acompanhamento da cinética de descoloração foi utilizado um espectrofotômetro Hitachi-2000, os tempos de cinética foram variados.

Atividades Enzimáticas:

As enzimas foram extraídas do meio sólido com tampão citrato-fosfato 20 m mol L⁻¹, pH 5,0. Os caldos extracelulares foram filtrados por meio de uma membrana Millipore® (0,45 µm), e as atividades enzimáticas determinadas no filtrado das culturas.

3.10. Tratamento Biológico do Efluente Têxtil e de Corantes

3.10.1. Tratamento do efluente têxtil com *Phanerochaete chrysosporium*

Em 6 frascos Erlenmeyers de 250 mL (duplicata) contendo 1,7 g de Nylon foi adicionado um volume de 125 mL de efluente (pH 5,2), a indução do fungo para produzir enzimas foi feita no 5º dia com álcool veratrílico e tween 80. Foi determinada a atividade enzimática e a absorvância para o 4º, 6º e 7º dia após a indução.

3.10.2. Tratamento do efluente têxtil com fungos *Trametes versicolor*, *Lentinus edodes*, *Trametes villosa* e *Phanerochaete chrysosporium* em meio líquido

Para o tratamento foi utilizado 125 ml de efluente com pH 5,2 (não esterilizado) colocado em um frasco Erlenmeyer de 250 mL (duplicata). A 10 frascos Erlenmeyers foram adicionados 1,7 g de Nylon® como suporte para ser utilizado na imobilização dos fungos, e nos outros 10 frascos não foi adicionado o suporte. Os Erlenmeyers foram inoculados com uma quantidade de esporos equivalente a uma placa de Petri de aproximadamente 9 cm de diâmetro. Após 5 dias, o fungo *P. chrysosporium* foi induzido com álcool veratrílico e tween 80 para produção das enzimas lignina peroxidase e manganês peroxidase. O tempo de tratamento biológico foi de 15 dias. Foram determinadas as atividades enzimáticas e a descoloração.

3.10.3. Tratamento do efluente têxtil e de corantes com fungos (meio sólido)

Microrganismos:

Foram utilizados os fungos *Lentinus edodes*, *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium* e *Trametes villosa*.

Condições de Cultivo:

Os fungos foram cultivados em placas de Petri contendo o meio ágar-batata acrescido dos corantes individuais e do efluente (10 %). Foram testados os corantes azul reativo 19 (0,05 %), vermelho reativo 251 (0,025 %), amarelo reativo 145 (0,05 %) e preto reativo 5 (0,05 %). Os halos de crescimento e de descoloração foram medidos utilizando-se uma régua.

3.10.4. Tratamento do efluente têxtil com os fungos *T. versicolor*, *L. edodes*, *T. villosa*, *Gloeophyllum trabeum*, e com as bactérias *Azotobacter vinelandii* e *Pseudomonas fluorescence*

Manutenção das culturas dos microrganismos

Os fungos *T. versicolor*, *T. villosa* e *L. edodes* foram mantidos no meio ágar-extrato de malte e o fungo *G. trabeum* no meio ágar-dextrose-batata. A bactéria *P. fluorescence* foi mantida no meio ágar nutriente e a bactéria *A. vinelandii* foi mantida no meio contendo 10 g de manitol. Foram adicionados 0,5 g de K_2HPO_4 ; 0,3 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,3 g de NaCl; 3,0 g de $CaCO_3$; 15 g de ágar; para um volume final de 1000 mL de água deionizada. Os meios foram autoclavados a temperatura de 121 °C, sob pressão de 1 atm, durante 15 minutos.

Determinação da produção de sideróforos em meio sólido pelo método de Chrome Azurol S CAS

A produção de sideróforos foi determinada em placas de Petri contendo meio de cultura e 50% da solução de CAS (Schwyn e Neilands, 1986). O meio usado foi 20 g de sacarose, 2 g de bacto-casaminoácido, 1 g de K_2HPO_4 , 0,5 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ e 1000 mL de água deionizada. As placas foram incubadas à temperatura de 30°C.

Produção de sideróforos em meio líquido:

Os sideróforos foram produzidos pelos microrganismos em meio líquido contendo 20 g de sacarose, 2 g de bacto-casaminoácido, 1 g de K_2HPO_4 , 0,5 g de

MgSO₄·7H₂O, 100 mL de água deionizada, em Erlenmeyer de 125 mL com um volume de 50 mL deste meio de cultura, com um pH em torno de 7,1 e sob agitação de 120 rpm durante 6 dias para as bactérias e 15 dias para os fungos.

Tratamento do efluente:

Após a produção de sideróforos, 50 mL do caldo que contém o microrganismo e seus sideróforos foram adicionados em um Erlenmeyer de 250 mL, contendo 100 mL de efluente têxtil pH 3,0 e inoculou-se a 28 °C sob agitação de 180 rpm durante 15 dias.

Determinação de sideróforos:

Foi utilizada a solução do Chrome Azurol S (CAS) (Schwyn e Neilands, 1987). A determinação foi feita utilizando 0,5 mL de CAS e 0,5 mL da amostra, (caldo extraído com tampão acetato pH 4,0), deixando aproximadamente 24 h de reação; após, fez-se a leitura de absorvância em espectrofotômetro a 630 nm. O reagente CAS complexado com o Fe (III) na solução possui uma cor azul intensa com um $\epsilon_{630\text{ nm}} = 100.000\text{ mmol L}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ e, após reagir com o sideróforo, passa a ter uma cor alaranjada, acompanhado de uma diminuição na absorvância em 630 nm. Como controle, utilizou-se o meio não inoculado para detectar possíveis interferências no método.

As unidades percentuais de sideróforos foram definidas pela seguinte fórmula (Cox, 1994):

$$\% \text{ de unidades de CAS} = \frac{Ab - Aa}{Ab} \times 100\%$$

onde:

Ab = Absorvância do controle

Aa = Absorvância da amostra

3.11. Tratamento Combinado

3.11.1. Tratamento Fotocatalítico Combinado com Biológico

Em 100 mL de efluente (pH 5,5), foram adicionadas 100 mg de catalisador (ZnO e/ou TiO₂), num tempo de irradiação de 13 minutos. As amostras foram centrifugadas e tiveram um ajuste de pH para 5,0 (pH para crescimento dos fungos) e foram colocadas em Erlenmeyers de 250 mL contendo 1,7 g de Nylon como suporte (o experimento foi feito com o fungo livre e imobilizado). Os fungos utilizados foram : *Trametes versicolor*, *Lentinus edodes*, *Trametes villosa* e *Phanerochaete chrysosporium*. A quantidade de esporos adicionada é equivalente a uma placa de Petri de aproximadamente 9 cm de diâmetro (essa placa é raspada para dentro do Erlenmeyer). Após a inoculação dos fungos, os Erlenmeyers foram colocados em uma incubadora com dispositivo de agitação e temperatura constantes durante 7 dias de tratamento biológico. Para os fungos *T. villosa*, *T. versicolor* e *L. edodes*, a 28 °C e 110 rpm. Para o *P. chrysosporium* 37°C e 100 rpm.

3.11.2. – Tratamento Fotocatalítico Combinado com Ozônio

Em 100 mL de efluente em pH inicial de 10,5, foram adicionados 200 mg de catalisador TiO₂. Foi utilizado um reator de quartzo, a distância da lâmpada até o reator foi de 12 cm. A lâmpada foi pré aquecida e a irradiação iniciou simultaneamente com a ozonização, durante 15 minutos. O sistema foi refrigerado por ventilação.

3.11.3. - Tratamento Foto-Ozônio Combinado com Biológico

Em 100 mL de efluente em pH 11,0 foram adicionados 100 mg de catalisador (ZnO e/ou TiO₂) e o tempo de irradiação/ozonização foi de 15 minutos. As amostras foram centrifugadas e tiveram ajuste do pH para 5,0 (pH para crescimento dos fungos), foram colocadas em frascos Erlenmeyers de 250 mL. Os fungos utilizados foram: *T. versicolor*, *L. edodes*, *T. villosa* e *P. chrysosporium*. Todo experimento biológico

(inoculação do fungo) foi feito em uma capela de fluxo laminar. Após a inoculação dos fungos (½ placa de Petri) os Erlenmeyers foram identificados com o nome de cada fungo e colocados em uma incubadora com agitação e temperatura constantes durante 5 dias. Para os fungos *T. villosa*, *T. versicolor* e *L. edodes*, 28°C e 180 rpm. Para o *P. chrysosporium*, 37°C e 140 rpm.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Tratamento Fotocatalítico do Efluente Têxtil

Vários são os fatores que afetam a velocidade de reação em processos fotocatalíticos: (a) a presença de oxigênio ou outros agentes oxidantes, como H_2O_2 (eficiente seqüestrador de elétrons na banda de condução), (b) o aumento da intensidade luminosa, (c) o pH da solução (tamanho da partícula, cargas na superfície e posição das bandas são fortemente influenciadas pelo pH), (d) a massa do semicondutor (a disponibilidade de sítios ativos aumenta, mas a penetração de luz na suspensão diminui devido a problemas de espalhamento), e ainda, (e) os produtos característicos da reação (como por exemplo a formação de ácidos) são considerados inibidores de reação (Moraes, 1995).

A Figura 5 mostra a degradação/descoloração do efluente têxtil obtida pelo processo fotocatalítico durante os experimentos de otimização da massa do catalisador e do pH. Para o catalisador TiO_2 , a melhor condição encontrada foi utilizando a menor massa (30 mg) em pH 4,5 como mostra a Figura 5c. Quando utilizou-se o catalisador ZnO a eficiência máxima foi obtida em pH 7,5 e maior massa (50 mg) do catalisador, esses resultados são apresentados na Figura 5g.

A Figura 6 apresenta os resultados de toxicidade (% de inibição em função do tempo de fotocatalise) do efluente têxtil fotodegradado com 30 mg de TiO_2 em pH 4,5. O branco corresponde ao efluente têxtil sem tratamento. O pH das amostras, retirados a diferentes tempos de degradação, foi ajustado para 7,2 (pH ideal para o crescimento da bactéria *Escherichia coli*).

Pode-se observar através desta figura que a inibição do crescimento bacteriano diminuiu com o tempo de fotocatalise em aproximadamente 50%, confirmando a eficiência do processo.

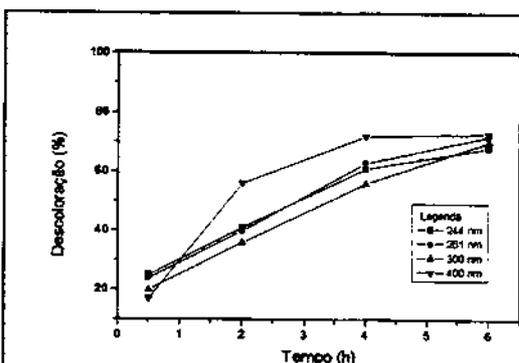


Figura 5a. Efluente têxtil fotodegradado em pH 4,5 com 50 mg de TiO₂

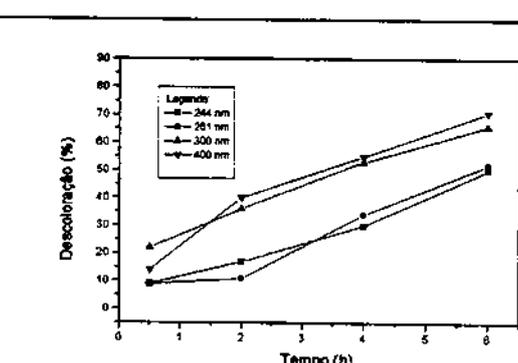


Figura 5b. Efluente têxtil fotodegradado em pH 4,5 com 50 mg de ZnO

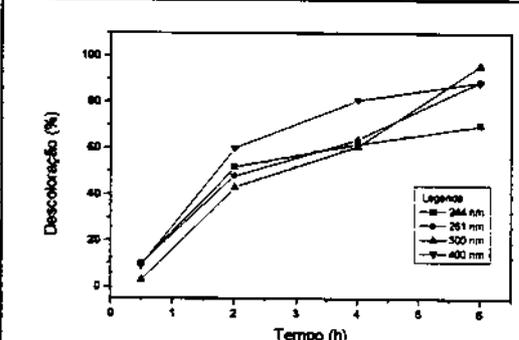


Figura 5c. Efluente têxtil fotodegradado em pH 4,5 com 30 mg de TiO₂

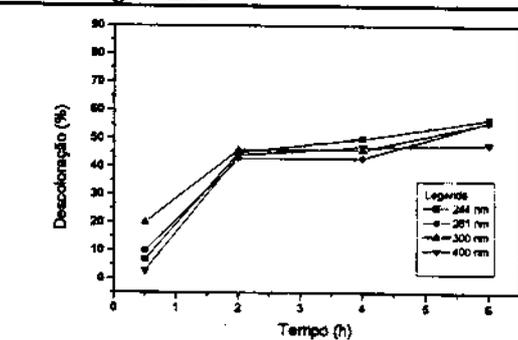


Figura 5d. Efluente têxtil fotodegradado em pH 4,5 com 30 mg de ZnO

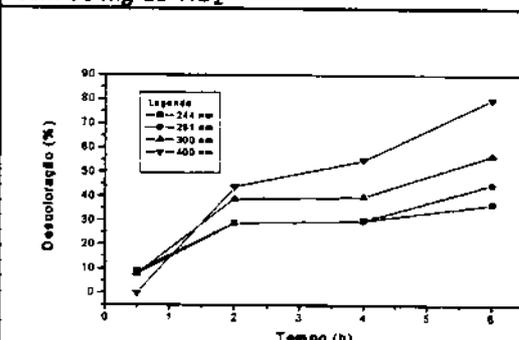


Figura 5e. Efluente têxtil fotodegradado em pH 7,5 com 30 mg de TiO₂

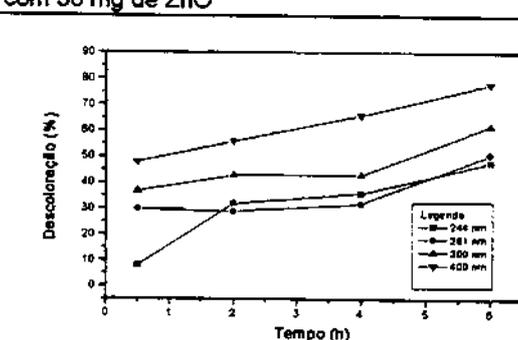


Figura 5f. Efluente têxtil fotodegradado em pH 7,5 com 30 mg de ZnO

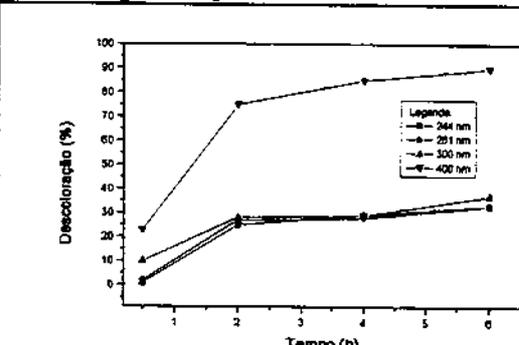


Figura 5g. Efluente têxtil fotodegradado em pH 7,5 com 50 mg de TiO₂

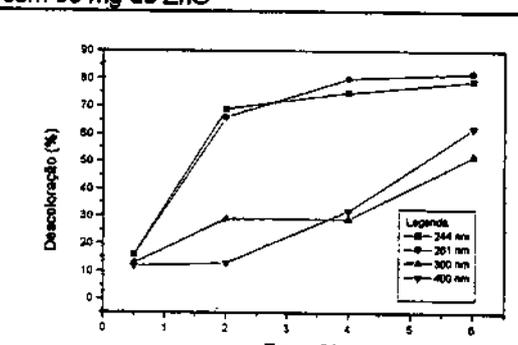


Figura 5h. Efluente têxtil fotodegradado em pH 7,5 com 50 mg de ZnO

Figura 5. Descoloração do efluente têxtil empregando o processo fotocatalítico.

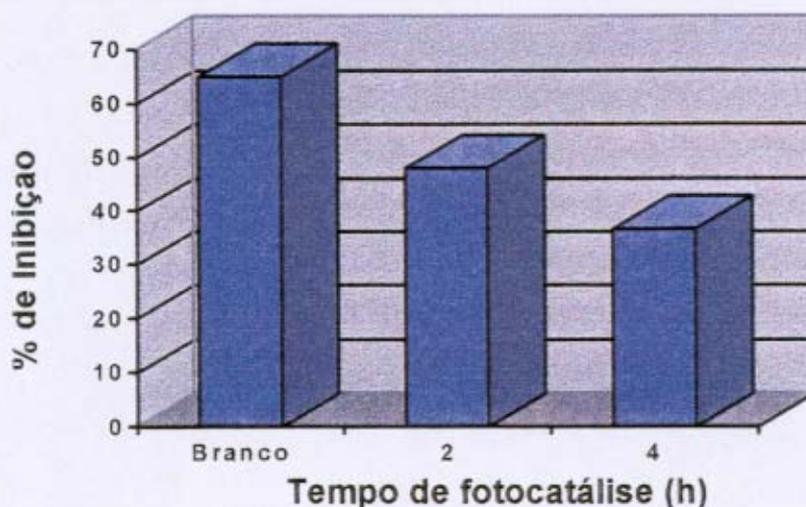


Figura 6. Ensaio de toxicidade frente a bactéria *E. coli* (ATCC 25922). Porcentagem de inibição do crescimento bacteriano em função do tempo de fotodegradação do efluente têxtil. Branco = efluente sem tratamento.

4.2. Influência do pH do efluente têxtil na fotodegradação

Resultados obtidos nos experimentos iniciais com o efluente têxtil mostraram uma diminuição de carbono orgânico total em aproximadamente 30%. Para aumentar a eficiência do processo foram feitos vários experimentos, variando-se o pH e a quantidade de catalisador.

Um estudo de degradação (mineralização) do efluente mostrou a significativa importância do pH. Os valores relativos de C/C_0 , que correspondem à relação entre a concentração do composto mãe num tempo t qualquer, e a sua concentração inicial, foram obtidos a partir dos resultados da análise de COT (carbono orgânico total).

Devido à dificuldade em baixar o teor de COT da amostra durante a fotodegradação, fez-se um estudo verificando a influência do pH da amostra, empregando-se pH 2,0 ; 4,5 e 9,0. Observou-se que, em pH 4,5 o TiO_2 apresentou uma eficiência de 41% na diminuição de COT, enquanto que para o pH 9,0 esta diminuição foi de apenas 10%. Já para o ZnO nenhuma mudança significativa foi observada em função do pH.

Na Figura 7, está representada a redução de COT durante a fotodegradação do efluente em diferentes pH. Observou-se que a maior redução de COT ocorreu quando o catalisador TiO_2 foi utilizado e o pH do efluente foi ajustado para 4,5. Os resultados não foram satisfatórios quando utilizou-se o catalisador ZnO , somente em pH 9,0 o resultado para o catalisador ZnO foi superior ao do TiO_2 .

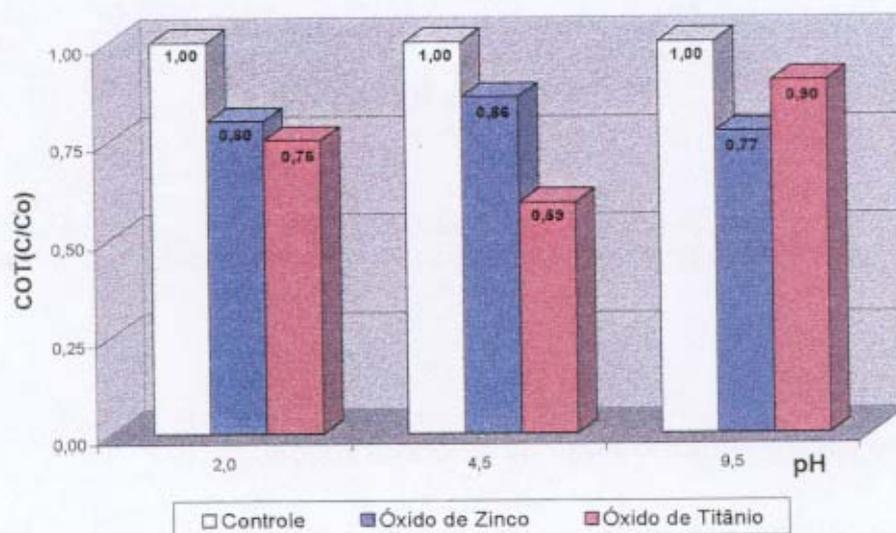


Figura 7. Redução de Carbono Orgânico Total (COT) durante a fotodegradação do efluente têxtil empregando diferentes pH. Tempo de tratamento = 5 h de irradiação

4.3. Determinação de Fenóis Totais

Os resultados referentes a determinação de Fenóis Totais do efluente variaram muito em função do pH. Nos experimentos feitos em pH 4,5 os dados obtidos não foram satisfatórios, pois com o tempo de fotodegradação houve um aumento na concentração de fenol (de $6,3 \text{ mg L}^{-1}$ para $9,5 \text{ mg L}^{-1}$). O método de Follin apresenta algumas limitações, por exemplo, transformando-se um fenol em catecol a resposta obtida será quase o dobro. Provavelmente, algum intermediário com grupo OH, como um catecol, deve ter sido formado durante o tratamento fotocatalítico. Já para o efluente num pH 7,5 a redução de fenóis foi de aproximadamente 30% em 5 horas de tratamento, mas

também foi observado um aumento na concentração após 2 horas. A quantidade de fenol encontrada inicialmente no efluente foi de $6,3 \text{ mg L}^{-1}$.

4.4. Desenvolvimento de novos métodos

O interesse destes estudos também visou aumentar a eficiência da fotodegradação, para chegar até a mineralização do efluente. A variação das características do efluente a cada coleta, fez com que novas condições experimentais fossem sugeridas. Em uma outra tentativa para diminuir o COT, foi feito um tratamento fotocatalítico utilizando um reator de vidro com camisa interna onde a lâmpada a vapor de mercúrio foi introduzida, e maior massa de catalisador (100 mg) de TiO_2 para um volume de efluente de 150 mL a pH 5,5. Os resultados de descoloração apresentaram uma eficiência de até 80% em 550 nm. Na Figura 8, são apresentados os valores de absorvância em diferentes comprimentos de onda, em função do tempo de tratamento.

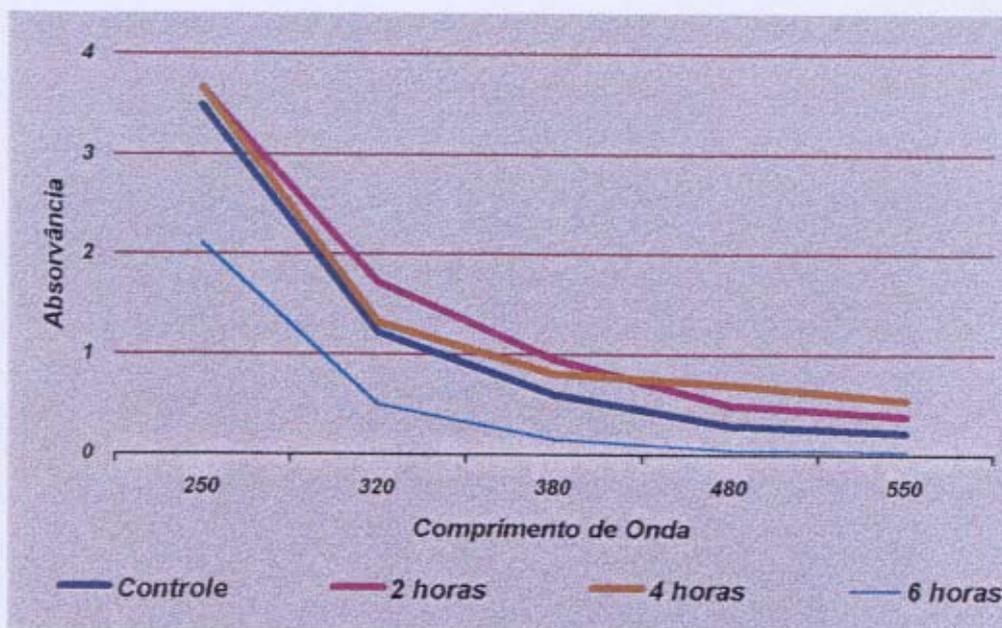


Figura 8. Variação da absorvância durante o tratamento fotocatalítico do efluente têxtil a pH 5,5 e 100 mg de catalisador TiO_2 .

Observou-se durante o tratamento que após 4 horas, houve um aumento nos valores de absorvância, tanto na região do ultravioleta como na região do visível. Isto

também foi observado após 2 horas de tratamento (dependendo do comprimento de onda). Somente em 6 horas de tratamento, houve diminuição significativa nos valores de absorvância.

Os resultados de toxicidade frente a bactéria *E. coli* mostraram uma redução em 56,7% em 6 horas de tratamento fotocatalítico. Nos experimentos de toxicidade com a alga *S. subspicatus* os resultados encontrados mostraram que não houve nenhuma redução da toxicidade durante o tratamento, contrariando os resultados obtidos com a bactéria *E. coli*. No ensaio com a alga, mesmo para a amostra de maior diluição, não foi observada nenhuma redução de toxicidade, provavelmente, devido a alguma contaminação durante o experimento, como a presença do catalisador mesmo após centrifugado, ou devido ao material de vidraria não ter sido lavado corretamente. Mesmo sendo organismos diferentes esperava-se uma resposta positiva em relação à diminuição da toxicidade.

Quanto à redução de COT, os resultados obtidos ainda foram insatisfatórios como pode ser observado na Figura 9. Obteve-se apenas uma redução de 29% em 6 horas de fotocatalise utilizando o catalisador TiO_2 .

Um novo tratamento foi feito empregando-se maior massa de catalisador. Neste caso, onde a eficiência na redução de COT foi satisfatória utilizou-se o catalisador (p/v) em 150 mL de efluente a pH 7,0. A redução da cor foi maior que 90% em menos tempo de tratamento (4 h), como mostra a Figura 10.

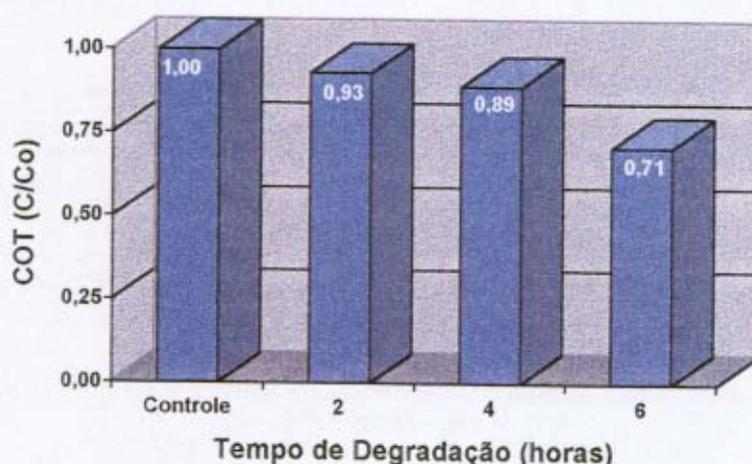


Figura 9. Redução de Carbono Orgânico Total (COT) durante o tratamento fotocatalítico do efluente. Tempo de tratamento = 6 horas, massa do catalisador TiO_2 = 100 mg e pH = 5,5

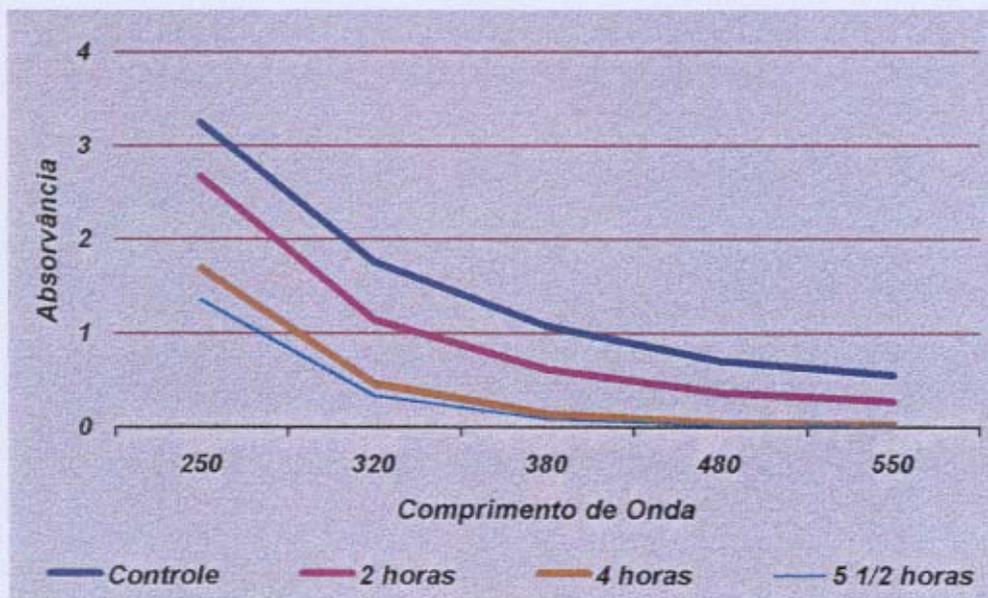


Figura 10. Variação da absorvância durante o tratamento fotocatalítico do efluente têxtil a pH 7,0 e 150mg de catalisador TiO_2 .

A eficiência na redução de COT chegou a 56 % e está representada na Figura 11.



Figura 11. Redução de Carbono Orgânico Total (COT) durante a fotodegradação do efluente têxtil.

Os resultados do teste de toxicidade frente a bactéria *E. coli* mostraram uma redução de até 86 % em 5 ½ horas de fotocatalise. Na Figura 12, são apresentados os resultados de toxicidade utilizando a alga *S. subispicatus*. Observou-se que o efluente, após o tratamento, apresentou uma redução na toxicidade. Após 2 horas foi observado um aumento da toxicidade, indicando espécies intermediárias formadas na degradação, com a continuidade do tratamento, houve uma provável destruição dessas espécies.

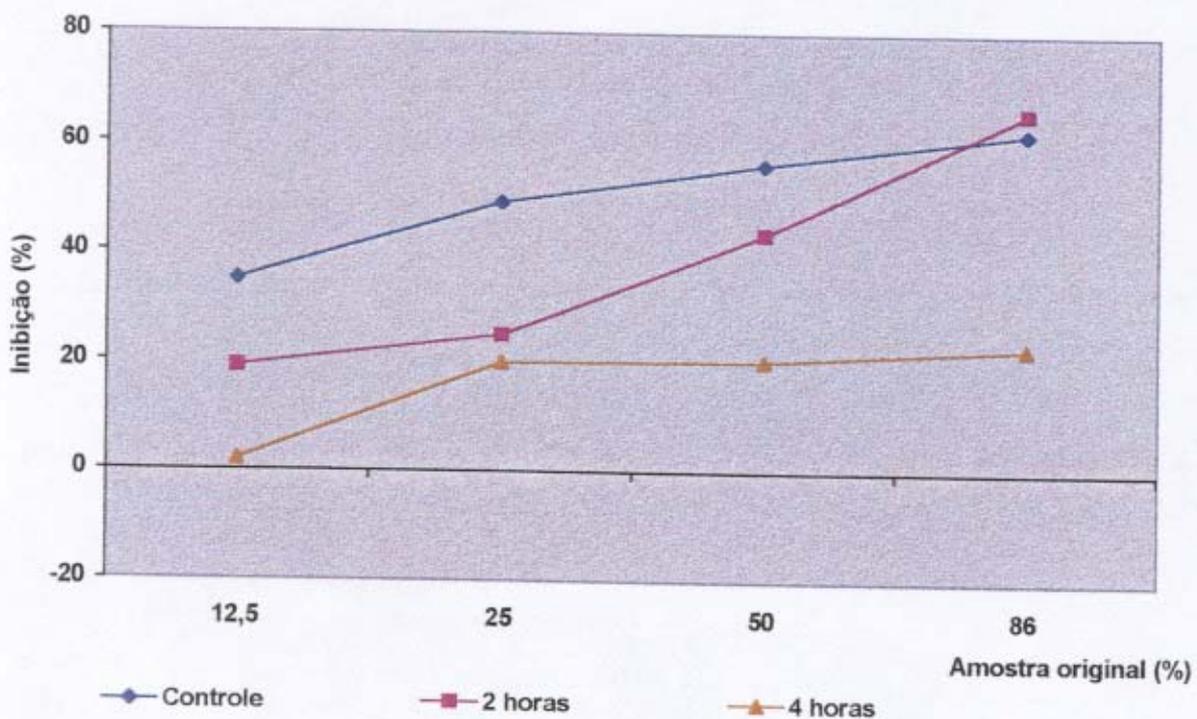


Figura 12. Porcentagem de inibição do efluente têxtil após tratamento fotocatalítico frente a alga *S. subispicatus*.

O processo fotocatalítico utilizando o reator com camisa interna e com catalisador ZnO (50 mg) em 100 mL de efluente a pH 9,0 apresentou eficiência na degradação como pode ser observado na Figura 13.

Quanto à redução de COT, o resultado obtido não foi satisfatório, tendo uma diminuição de 20 % na concentração de carbono orgânico (Figura 14).

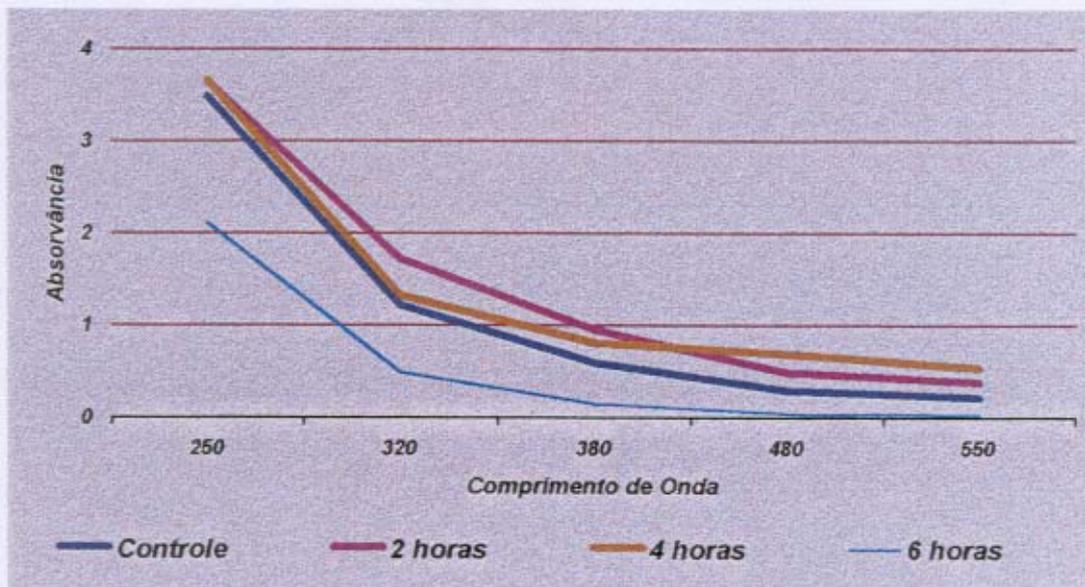


Figura 13. Variação da absorvância durante o tratamento fotocatalítico do efluente têxtil utilizando ZnO. Massa do catalisador = 50 mg, pH = 9,0 e tempo de tratamento = 6 horas.

Quanto à redução de COT, o resultado obtido não foi satisfatório, tendo uma diminuição de 20 % na concentração de carbono orgânico (Figura 14).



Figura 14. Variação de Carbono Orgânico Total (COT) durante a fotocatalise com ZnO.

O teste de toxicidade com a bactéria *E. coli* mostrou uma redução de 38 % da toxicidade, após 4 horas de tratamento. No teste de toxicidade feito com a alga *S. subspicatus* resultados, semelhantes foram encontrados (Figura 15).

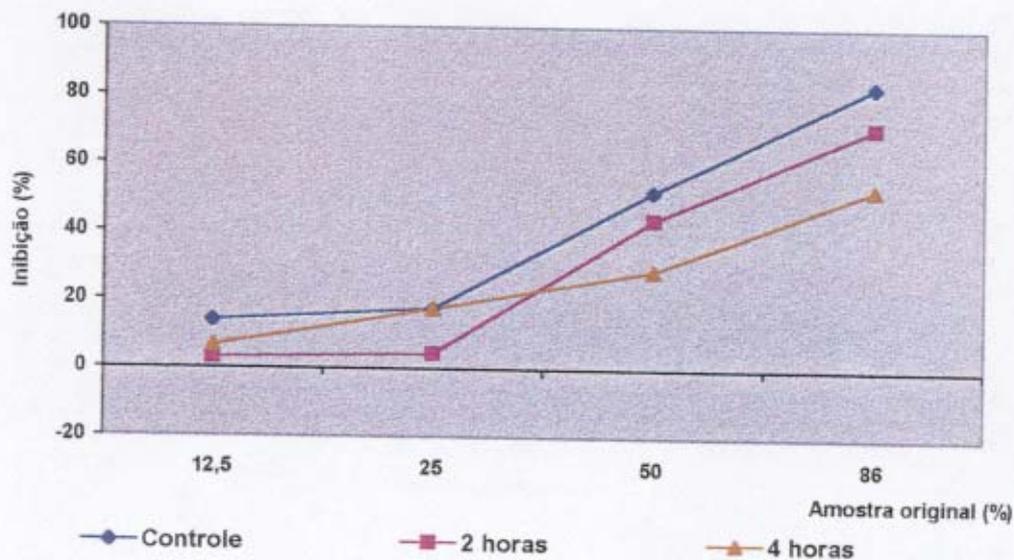


Figura 15. Porcentagem de inibição do efluente têxtil após tratamento fotocatalítico frente a alga *S. subspicatus*.

4.5. Tratamento Fotocatalítico utilizando TiO_2 e ZnO em reator com camisa interna de quartzo

Utilizando este tipo de reator onde a lâmpada é introduzida numa camisa interna de quartzo, a eficiência aumentou consideravelmente quando comparada com o reator de vidro. Em função desta nova metodologia, foi possível empregar uma menor quantidade de catalisador (50 mg). Na Tabela 8 são apresentados os resultados da cinética de descoloração e de COT. A toxicidade do efluente diminuiu em torno de 30%, em 2 horas de tratamento utilizando o catalisador ZnO e 27 % com o catalisador TiO_2 . Utilizando este reator, o tempo de tratamento diminuiu em aproximadamente 3 horas quando comparado com o reator de vidro. O problema da cor do efluente têxtil foi solucionado em apenas 20 minutos de tratamento. Obteve-se uma redução de aproximadamente 40 % de COT em 120 min de tratamento.

Comparando com o tempo necessário para os experimentos anteriores em que o reator de vidro foi utilizado, pode-se afirmar que houve um aumento na eficiência do tratamento tanto para a descoloração como para a redução de COT.

Tabela 8. Cinética de descoloração do efluente têxtil utilizando-se os catalisadores TiO_2 e ZnO

Tempo [min]	% Descoloração		COT [C/C_0]	
	TiO_2	ZnO	TiO_2	ZnO
0	0	0,	1	1
5	11,8	69,0	0,87	0,74
20	48,2	97,7	0,81	0,66
40	87,0	99,0	0,80	0,66
60	89,5	100,0	0,79	0,65
120	94,0	100,0	0,77	0,61

4.6. Tratamento Fotocatalítico utilizando TiO_2 e ZnO imobilizados em “anéis de Raschig”

Os resultados obtidos no tratamento do efluente têxtil utilizando um reator recheado com estes “anéis de Raschig” (tubos de vidro com 6 mm de comprimento e 3 mm de diâmetro) imobilizados com o catalisador, foram surpreendentes.

No tratamento do efluente têxtil os resultados comprovaram a eficiência da utilização do catalisador imobilizado. A Figura 16 apresenta os resultados relativos (C/C_0) de descoloração obtidos durante o tratamento, onde C é a absorvância obtida e C_0 é a absorvância inicial. Na Figura 17 encontram-se os dados de COT para o efluente têxtil, onde C é o COT obtido e C_0 é o COT inicial.

Para efeito de comparação da eficiência, na Tabela 9 encontram-se os dados do tratamento fotocatalítico utilizando o catalisador TiO_2 livre e imobilizado.

Segundo os dados obtidos para o efluente têxtil, o tratamento poderia ter sido interrompido em 60 minutos, pois neste tempo, tanto a descoloração como o COT apresentaram bons resultados de redução.

Os resultados de toxicidade frente a bactéria *E. coli* mostram uma redução significativa da toxicidade do efluente após o tratamento. A toxicidade inicial do efluente foi de 48 % e, após 60 minutos de fotocatalise com TiO_2 imobilizado, foi de 12,8 %, apresentando uma redução da toxicidade de 73 %. Com o catalisador em suspensão, a toxicidade reduziu em apenas 28 %, após 60 minutos.

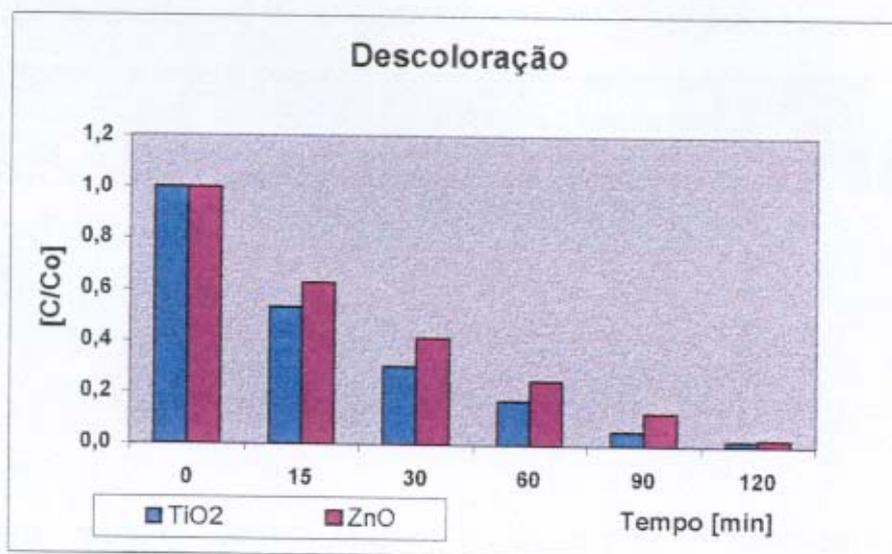


Figura 16. Descoloração do efluente têxtil utilizando TiO₂ e ZnO imobilizados, em função do tempo de tratamento

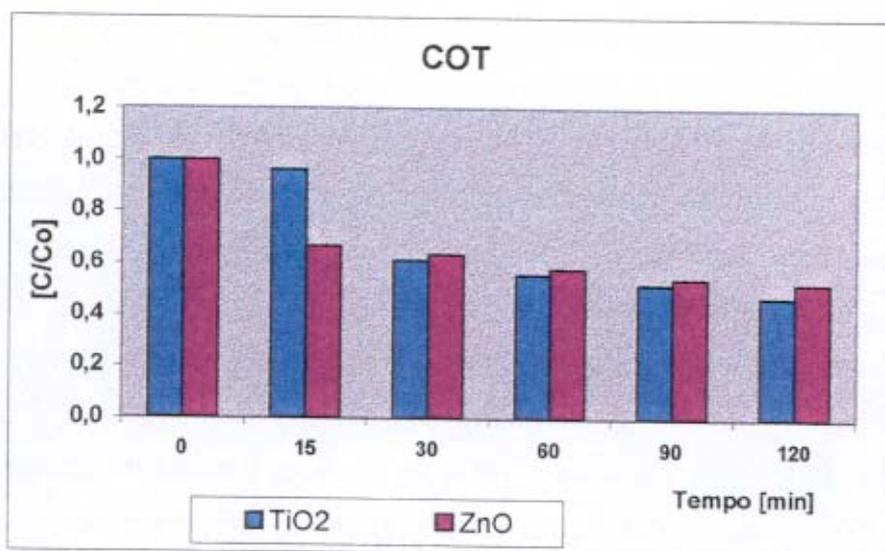


Figura 17. Redução de Carbono Orgânico Total (COT) em função do o tratamento fotocatalítico

A utilização do semicondutor imobilizado torna o processo economicamente viável pelo fato de eliminar etapas como a filtração e pode-se reutilizar os "Racshig rings" para posteriores tratamentos, sem desperdiçar o catalisador. A diminuição do tempo de tratamento é outro fator importante com conseqüente redução no gasto de energia. Para obter uma redução de 50 % foi preciso estender o tempo de degradação

em 6 horas quando utilizou-se o catalisador em suspensão. Além disso, a quantidade de catalisador impregnado é inferior à utilizada quando o mesmo encontra-se em suspensão.

Tabela 9. Resultados obtidos utilizando catalisador na forma imobilizada e livre

Tratamento	Tempo (min)	PH	Descoloração (%) $\lambda=515$ nm	COT (C/C ₀)
Fotocatálise TiO ₂ imobilizado	0	10,0	0	1
	30	7,5	69	0,60
	60	7,5	83	0,55
	120	7,3	98	0,47
Fotocatálise TiO ₂ livre	0	10,0	0	1
	30	7,5	53	0,81
	60	7,5	89	0,80
	120	7,3	94	0,77

Os resultados obtidos até agora, mostraram que a eficiência no tratamento do efluente têxtil em termos de redução de COT, cor e toxicidade, só foi alcançada quando utilizou-se o catalisador imobilizado. Mesmo aumentando a massa do catalisador, não foi possível obter melhores resultados, provavelmente devido a um fator limitante que é intensidade de penetração da luz durante o tratamento.

4.7. Estudo da fotodegradação de corantes

Alguns estudos foram feitos utilizando os corantes provenientes da indústria têxtil, pois os mesmos são empregados nas etapas de tingimento e estão presentes no efluente. A variação do efluente em função dos corantes e a baixa redução de COT obtida quando o efluente é fotodegradado foi motivo que despertou uma investigação mais criteriosa para determinar os parâmetros que influenciam a sua composição.

Na Tabela 10, são apresentados os resultados de redução de cor dos corantes após 1 hora de tratamento. Todos os corantes foram ajustados a pH 7,5 e utilizou-se a mesma massa de catalisador (50 mg), variando entre o TiO_2 e o ZnO (foram selecionados os melhores resultados obtidos para os diferentes catalisadores). A concentração dos corantes utilizados nos experimentos foi: preto reativo 5 = 125 mg L^{-1} , azul marinho = $12,0\text{ mg L}^{-1}$, vermelho reativo 251 = $10,0\text{ mg L}^{-1}$, azul reativo 19 = $12,0\text{ mg L}^{-1}$, amarelo reativo 145 = $13,0\text{ mg L}^{-1}$.

Tabela 10. Percentual de descoloração dos corantes utilizando TiO_2 e ZnO

Corantes	λ nm	% descoloração	Catalisador
Amarelo r. 145	415	87	TiO_2
Azul r. 19	580	95	ZnO
Preto r. 5	600	85	TiO_2
Azul Marinho	515	97	ZnO
Vermelho r. 251	545	80	ZnO

Na Figura 18, encontram-se os resultados referentes à redução de COT dos corantes fotodegradados com TiO_2 e ZnO . O branco é referente a cada um dos corantes sem nenhum tratamento, o tempo final de irradiação foi de 4 horas.

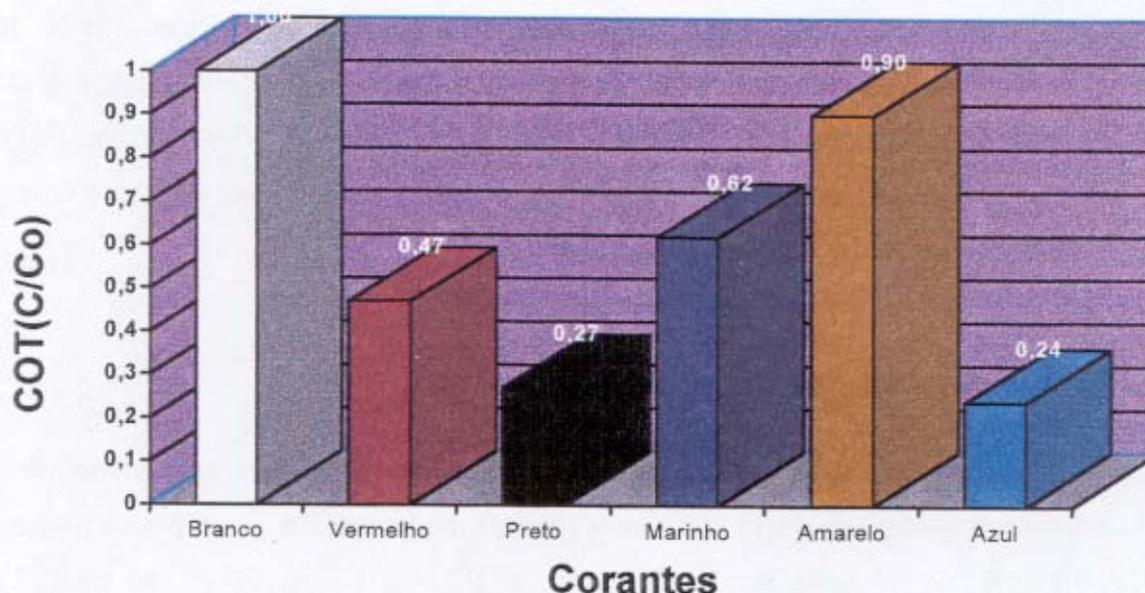


Figura 18. Redução de Carbono Orgânico Total (COT) durante a fotodegradação dos corantes utilizando TiO_2 e ZnO . Tempo de tratamento = 4 horas, massa de catalisador = 50 mg, pH = 9,5.

Para os corantes preto reativo 5, vermelho reativo 251 e azul reativo 19, a redução de COT foi superior a 50 %, já para os corantes amarelo reativo 145 e marinho reativo, o tempo de degradação deve ser estendido para um tempo maior (5 a 6 horas), pois a redução de COT foi inferior a 50 %.

4.8. Estudo de Otimização para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Após obtido os resultados do estudo de otimização para cromatografia líquida concluiu-se que os corantes apresentaram baixa resolução e difícil separação dos picos correspondentes.

Quando utilizou-se o sistema de gradiente, a separação não foi eficiente devido, provavelmente, ao fato dos corantes serem compostos sintetizados e apresentarem uma mistura de compostos orgânicos e cargas adicionadas durante a sua síntese. O sistema isocrático mostrou ser mais eficiente apresentando melhor resolução e separação dos picos. Alguns autores sugerem a utilização de eletroforese capilar, uma técnica cromatográfica emergente, apresentando um potencial de aplicação promissor na separação de corantes (Tapley, 1995; Lord e col., 1995; Oxpring e col., 1995).

Os cromatogramas dos corantes obtidos pelo sistema de gradiente apresentaram um número muito grande de picos durante os 40 minutos de análise, sendo difícil de caracterizar quais eram os picos correspondentes ao corante e quais os correspondentes aos outros compostos utilizados para a síntese.

Utilizando o sistema isocrático obteve-se melhores resultados de separação. As Figuras 19 e 20 mostram os cromatogramas do corante azul reativo 19 demonstrando a eficiência do processo fotocatalítico utilizando TiO_2 (Figura 19) e ZnO (Figura 20) em diferentes tempos de degradação. Pode-se observar que há uma diminuição da altura dos picos em função do tempo quando o catalisador ZnO foi empregado. Nos cromatogramas referentes ao tratamento com TiO_2 pode ser observado com clareza as alterações durante a reação fotocatalítica e o surgimento de espécies intermediárias, no decorrer do tempo de degradação ocorre a diminuição de alguns picos e o aumento de outros, não foi satisfatório o tratamento do corante azul reativo 19 com este catalisador mesmo após 6 horas de tratamento. Utilizando o catalisador ZnO , observou-se após 2

horas de tratamento, um aumento do pico em tempo de retenção 1,35 min, quando comparado ao branco, houve também uma redução dos picos nos tempos de retenção entre 3 e 5 minutos. Já em 4 e 6 horas de tratamento, pode-se observar uma acentuada diminuição dos picos.

Na Figura 21, são apresentados os cromatogramas do corante amarelo reativo 145. Observa-se que não houve o aparecimento de novos picos, o que indica que durante a fotodegradação não foi formada nenhuma espécie intermediária persistente. Obteve-se acentuada redução na altura dos picos após 2 horas de tratamento utilizando o catalisador ZnO, quando utilizou-se o catalisador TiO₂ os resultados obtidos foram similares.

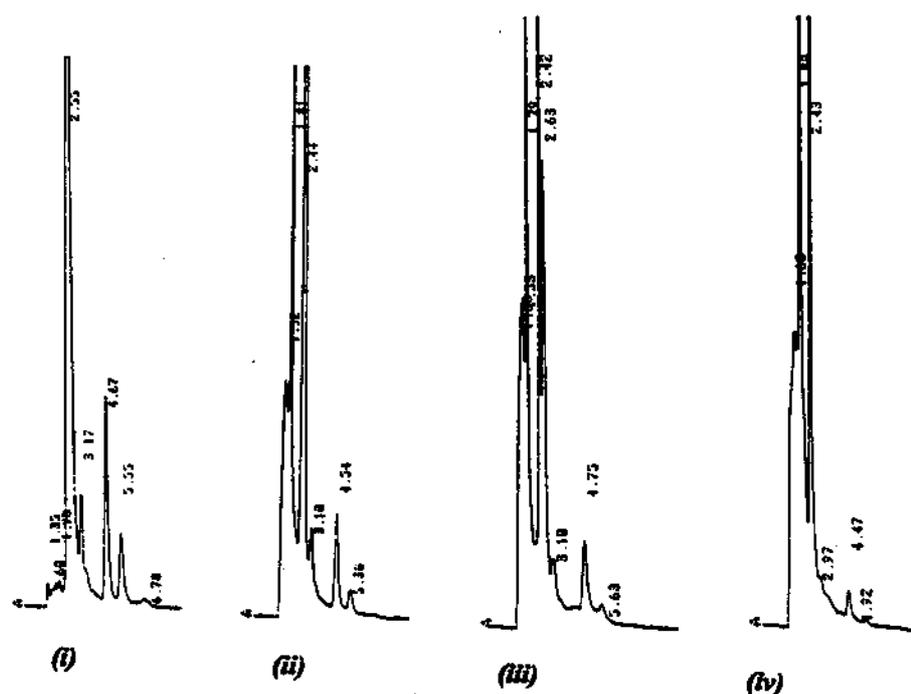


Figura 19. Cromatogramas do corante azul reativo 19. Condições: fluxo de 0,5 mL.min⁻¹, eluente: Metanol/H₂SO₄ 5x10⁻⁴ mol.L⁻¹(10/90), λ = 254 nm, (i) branco, (ii) TiO₂ / 2h, (iii) TiO₂ / 4h, (iv) TiO₂ / 6h

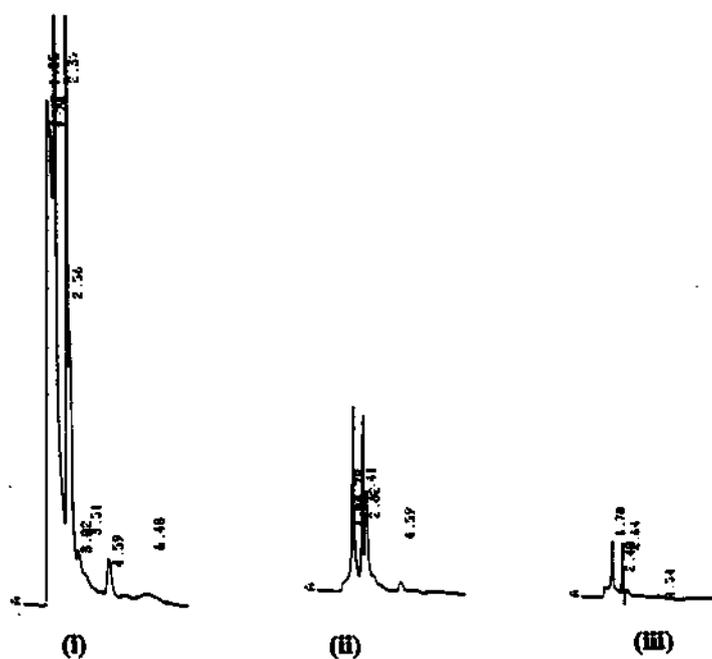


Figura 20. Cromatogramas do corante azul reativo T9. Condições: fluxo de $0,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, eluente: Metanol/ H_2SO_4 $5 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (10/90), $\lambda = 254 \text{ nm}$, (i) ZnO / 2h, (ii) ZnO / 4h, (iii) ZnO / 6h.

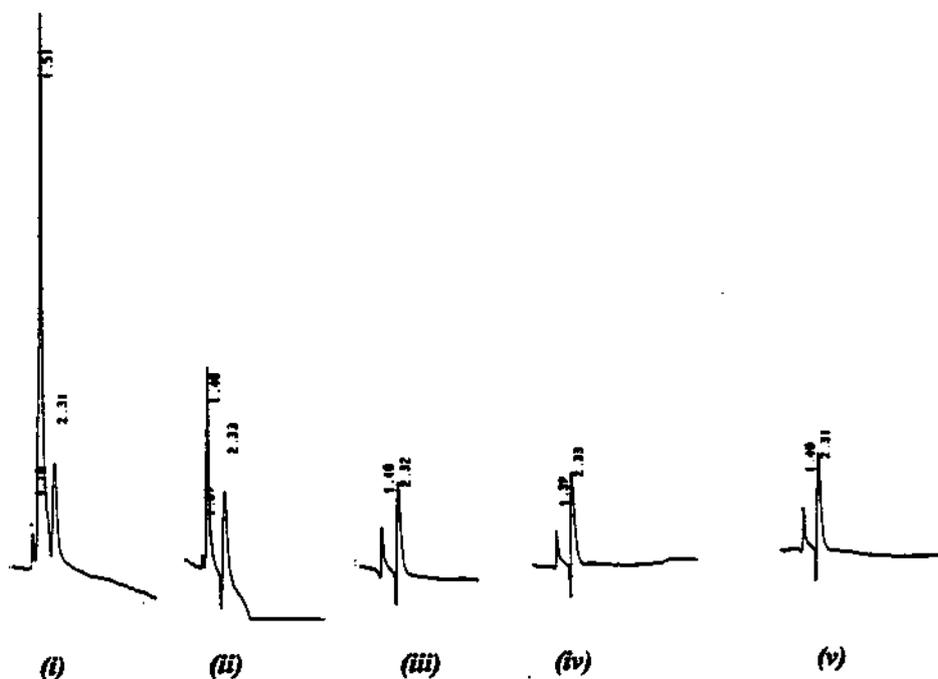


Figura 21. Cromatogramas do corante amarelo reativo 145. Condições: fluxo de $0,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, eluente: Metanol/ H_2SO_4 $5 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (80/20), $\lambda = 309 \text{ nm}$. (i) branco, (ii) ZnO/1h, (iii) ZnO/2h, (iv) ZnO/4h, (v) ZnO/5h.

Para o corante vermelho reativo 251, observou-se o aparecimento de novos picos em diferentes tempos de retenção, estes devem estar relacionados com o surgimento de espécies intermediárias durante o tratamento fotocatalítico. Essas espécies são transientes e desaparecem com o tratamento fotocatalítico, os picos característicos do corante decrescem após 6 horas de tratamento mas não desaparecem totalmente durante o processo de degradação.

Também observou-se para o corante preto reativo 5, o aparecimento de novos picos caracterizando a formação de espécies intermediárias. Os cromatogramas referentes ao tratamento fotocatalítico utilizando TiO_2 e ZnO são apresentados no Anexo I. No Anexo II encontram-se os cromatogramas dos corantes (branco) referente ao sistema de gradiente utilizado durante a otimização.

4.9. Estudo cinético dos corantes e efluente

Os resultados obtidos através da utilização de diferentes processos (O_3 , UV, O_3/UV , $\text{O}_3/\text{UV}/\text{TiO}_2$, $\text{O}_3/\text{UV}/\text{ZnO}$, $\text{O}_2/\text{UV}/\text{TiO}_2$ e $\text{O}_2/\text{UV}/\text{ZnO}$), principalmente quando utilizados na forma combinada, foram muito satisfatórios chegando em alguns casos, a 100% de descoloração e 100% de redução da demanda química de oxigênio (DQO). Estudou-se 3 corantes utilizados no processamento da indústria têxtil e o efluente. O corante azul reativo 19 é um corante antraquinona e o azul reativo 21 é um corante ftalocianina, as estruturas destes dois corantes são apresentadas na Figura 22. A estrutura do corante vermelho reativo 251 não foi encontrada na literatura e não se sabe a que classe pertence.

Os ensaios de toxicidade Microtox foram realizados com o objetivo de verificar se os processos utilizados para degradar os corantes estavam produzindo espécies intermediárias mais tóxicas que o composto de partida. Vários estudos envolvendo a toxicidade dos produtos de ozonização têm sido desenvolvidos, principalmente para tratamento de água potável, observando-se em muitos casos produtos de reação mais tóxicos que os produtos de partida (Langlais, 1992).

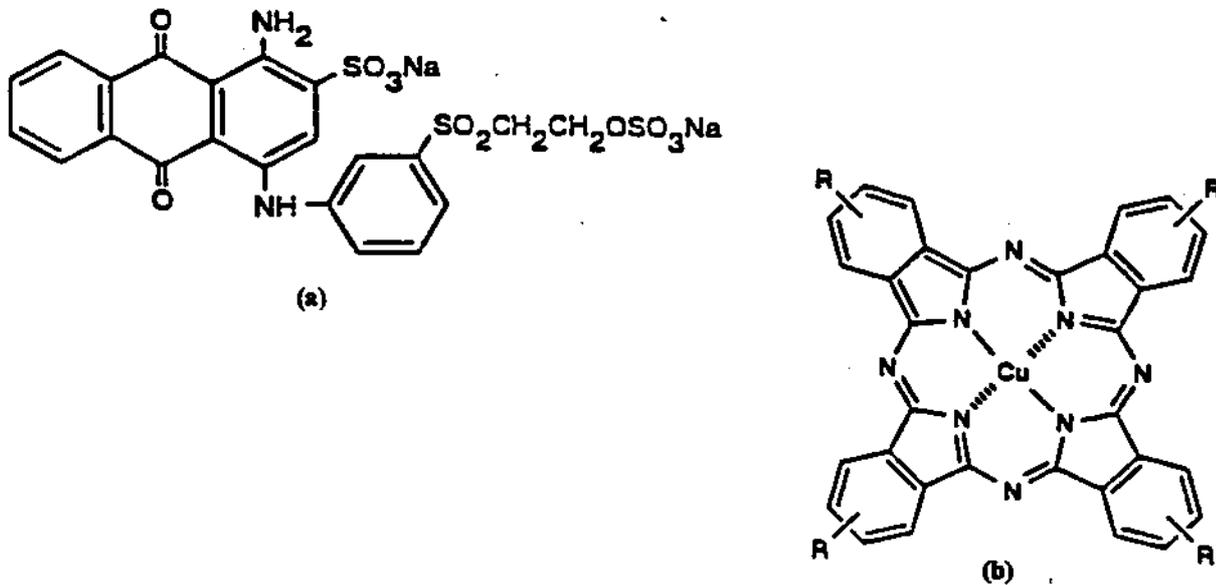


Figura 22. Estruturas dos corantes utilizados, (a) azul reativo 19 e (b) azul reativo 21.

Os corantes cuja toxicidade foi avaliada foram o vermelho reativo 251 e o azul reativo 21. As amostras para o teste de toxicidade foram as dos tratamentos O_3 , O_3/UV , $\text{O}_3/\text{UV}/\text{TiO}_2$ e $\text{O}_3/\text{UV}/\text{ZnO}$. Os resultados do teste Microtox são avaliados da seguinte maneira: quanto maior a porcentagem de EC50, menor é a toxicidade, isto significa que um EC50 1,92 % (como o resultado obtido para o branco do corante azul reativo 21) é aproximadamente 100 % tóxico. Verificou-se, após os tratamentos, que a toxicidade do corante diminuiu significativamente quando foi empregado O_3/UV , chegando a 58,22 %. Costuma-se utilizar UT ou seja, Unidade de Toxicidade, para representar os valores de toxicidade obtidos com Microtox. $\text{UT} = 100/\text{EC50}$. Os valores acima de 1,0 são considerados tóxicos e abaixo de 1,0 não são tóxicos. Então, o branco do corante azul reativo 21 apresenta um valor de toxicidade de 52 UT e após o tratamento com O_3/UV o valor encontrado foi de 1,7 UT, com uma diminuição de toxicidade após 15 minutos de tratamento. Não foi encontrada toxicidade após 15 minutos de tratamento com $\text{O}_3/\text{UV}/\text{TiO}_2$.

Para o corante vermelho reativo 251, o valor de EC50 encontrado para o branco foi de 43,0 %, quando tratado por $\text{O}_3/\text{UV}/\text{TiO}_2$ o valor obtido de EC50 foi 37,5 %, ou seja, houve um pequeno aumento da toxicidade com o tratamento. O valor em termos

de UT para o branco do corante vermelho reativo 251 foi de 2,3 UT e após 15 min de tratamento com $O_3/UV/TiO_2$ foi de 2,7 UT. Com $O_3/UV/ZnO$ o EC50 encontrado foi 86 % e em unidades de toxicidade foi 1,2 UT, significa que a toxicidade diminuiu quando utilizou-se este tratamento. Utilizando o tratamento só com ozônio, obteve-se um EC50 de 11 %, em unidades de toxicidade o valor foi de 9,09 UT, mostrando claramente que após 15 minutos de tratamento a toxicidade aumentou acentuadamente. Após 15 minutos de tratamento com O_3/UV o EC50 encontrado foi de 86 % ou 1,2 UT, mais uma vez observa-se uma acentuada diminuição da toxicidade.

Para que o tratamento fosse totalmente eficiente deveria aumentar o tempo de degradação, com constante monitoração usando testes de toxicidade para avaliar a eficiência do processo.

O efeito bactericida de filmes finos de TiO_2 com e sem modificação, para determinar quais espécies ativas do oxigênio são responsáveis e o possível mecanismo, foi estudado por Kikuchi e col (1997). Eles confirmaram que ambas as espécies oxidativas e redutivas contribuem, e correspondem a produção de OH^\cdot e O_2^- respectivamente. É proposto que o agente letal seja o H_2O_2 , subseqüentemente produzido de OH^\cdot e O_2^- . A concentração de H_2O_2 produzida fotocataliticamente é baixa e então um efeito cooperativo com outras espécies é postulado.

Os resultados obtidos através da técnica de absorção atômica mostram que inicialmente, o corante azul reativo 19 apresentou um teor de cobre ($0,01 \text{ g L}^{-1}$), níquel ($0,0042 \text{ g L}^{-1}$) e ferro ($0,0058 \text{ g L}^{-1}$), para o corante azul reativo 21 também foi determinado cobre ($1,59 \text{ g L}^{-1}$), níquel ($0,027 \text{ g L}^{-1}$) e ferro ($0,049 \text{ g L}^{-1}$), já para o corante vermelho reativo 251 não foi detectado cobre, mas, níquel ($0,12 \text{ g L}^{-1}$) e ferro ($0,059 \text{ g L}^{-1}$) foram encontrados. Na amostra do efluente têxtil analisada, encontrou-se somente níquel ($0,36 \text{ g/kg}$) e ferro ($1,4 \text{ g/kg}$).

Após o tratamento de fotocatalise com TiO_2 não foi encontrada uma concentração dentro do limite quantificável do aparelho para cobre, zinco, titânio, níquel e cromo em nenhum dos corantes. Utilizando o catalisador ZnO , foi encontrado na amostra do corante azul reativo 19 e vermelho reativo 251 somente zinco ($2,44 \text{ mg L}^{-1}$) e ($3,76 \text{ mg L}^{-1}$), respectivamente. Na amostra do corante azul reativo 21 foi encontrado zinco ($5,35 \text{ mg L}^{-1}$) e cobre ($0,23 \text{ mg L}^{-1}$).

Quando foi feito o tratamento do corante azul reativo 21 com $O_3/UV/TiO_2$, obteve-se através da análise da amostra, após 15 minutos de tratamento, cobre ($0,11 \text{ mg L}^{-1}$) e titânio ($0,60 \text{ mg L}^{-1}$), para o corante vermelho reativo 251 foi encontrado zinco ($16,0 \text{ mg L}^{-1}$) e cobre ($0,034 \text{ mg L}^{-1}$).

Pode-se concluir, através dos resultados obtidos pelas análises de absorção atômica, que após o tratamento, alguns metais podem ficar biodisponíveis em solução e, não só a formação de espécies intermediárias podem ser responsáveis pela toxicidade como também estes metais.

As determinações de DQO foram realizadas com o intuito de verificar a eficiência dos tratamentos quanto a mineralização dos corantes e do efluente.

Embora a ozonização apresente uma rápida descoloração dos corantes, a redução de DQO não é completa. Estes dados concordam com os dados encontrados na literatura, demonstrando que o ozônio não se apresenta muito eficiente na remoção de DQO, sendo necessário uma combinação com outros processos (Perkowski e col. 1996 e Mansilla e col. 1997). O mesmo não ocorre com o processo fotocatalítico onde os resultados de DQO apresentam uma redução de aproximadamente 80-90%. Utilizando o ozônio combinado com luz e catalisador, a eficiência aumentou significativamente. Nas Figuras 23, 24 e 25 são mostrados os resultados das análises de DQO para os corantes e respectivos tratamentos.

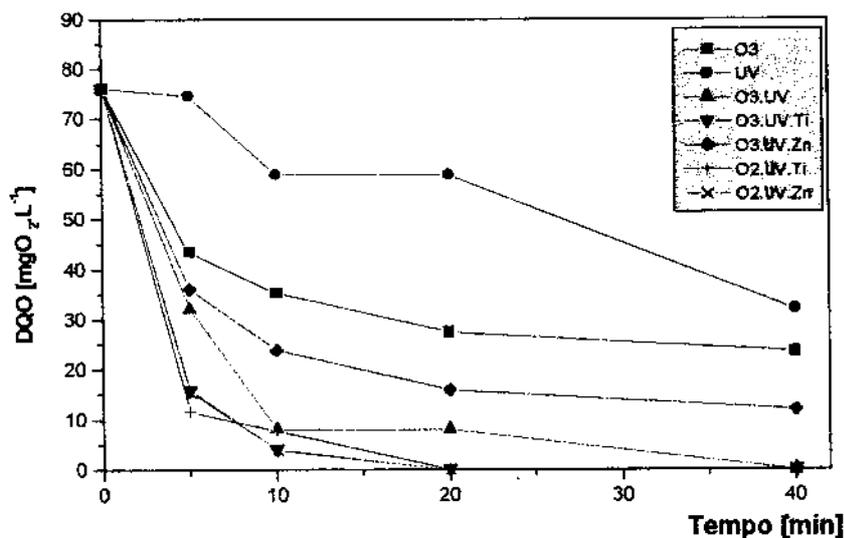


Figura 23. Eficiência dos diferentes processos de tratamento na redução de DQO para o Corante Vermelho Reativo 251

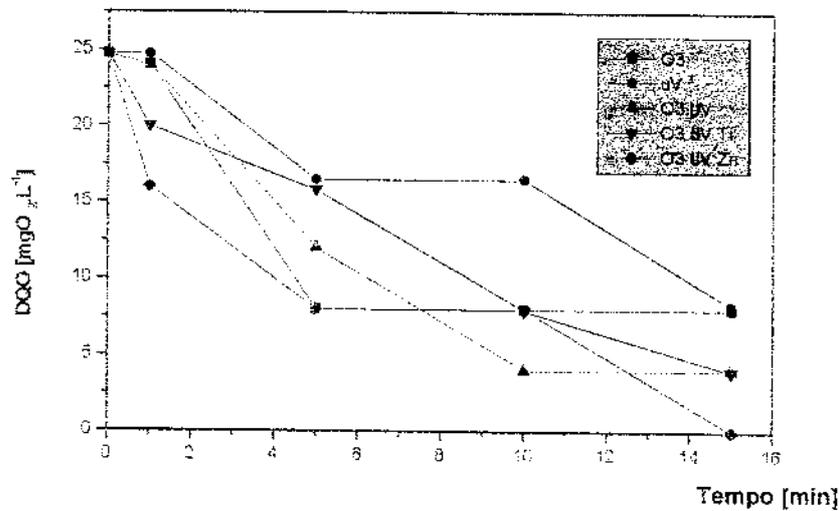


Figura 24. Eficiência dos diferentes processos de tratamento na redução de DQO para o Corante Azul Reativo 21

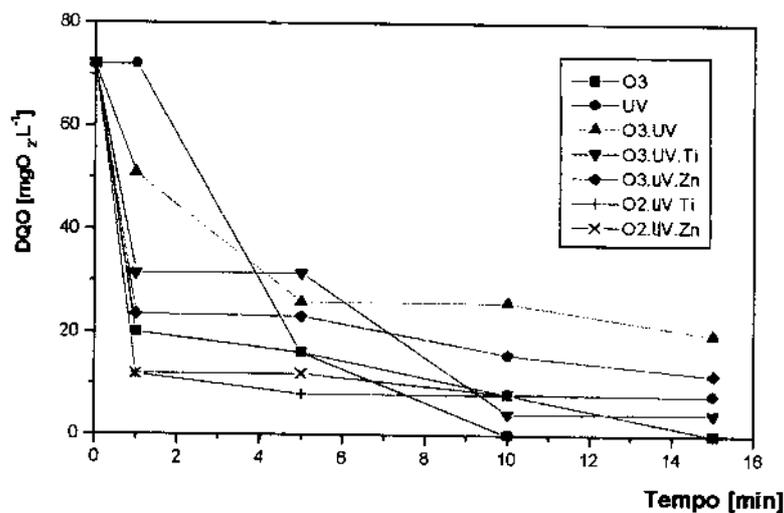


Figura 25. Eficiência dos diferentes processos de tratamento na redução de DQO para o Corante Azul Reativo 19

O efluente da indústria têxtil apresenta muito material particulado (matéria orgânica aglomerada) o que dificultou o tratamento pelos vários processos e também nas análises para determinação de DQO, toxicidade por Microtox e espectrofotometria UV-Vis. O efluente, como não foi filtrado antes dos tratamentos, apresentou um aumento significativo de DQO após 20 min de tratamento, principalmente quando o mesmo sofreu o processo de ozonização, como pode ser observado mais detalhadamente pelo gráfico representado na Figura 26.

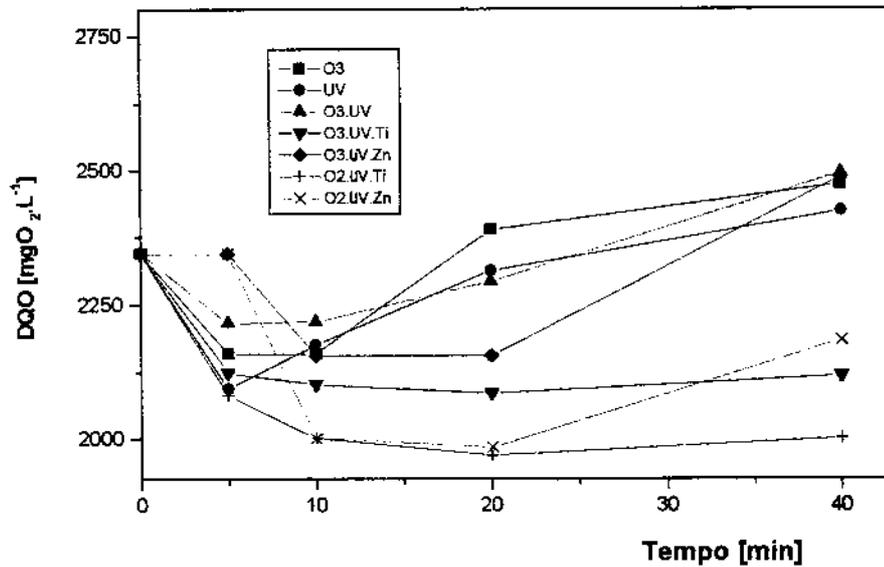


Figura 26. Resultados dos diferentes processos de tratamento do efluente com variações de DQO

Estes aumentos devem-se a destruição das partículas em suspensão que estão presentes no efluente e liberam alguns compostos (como por exemplo o amido). Durante os experimentos, foi monitorada a variação de pH de cada amostra retirada dos diferentes tratamentos. Nas figuras 27, 28 e 29, são apresentados os gráficos mostrando a mudança de pH para os diferentes corantes. O corante vermelho reativo 251 foi o que sofreu maior variação durante os tratamentos.

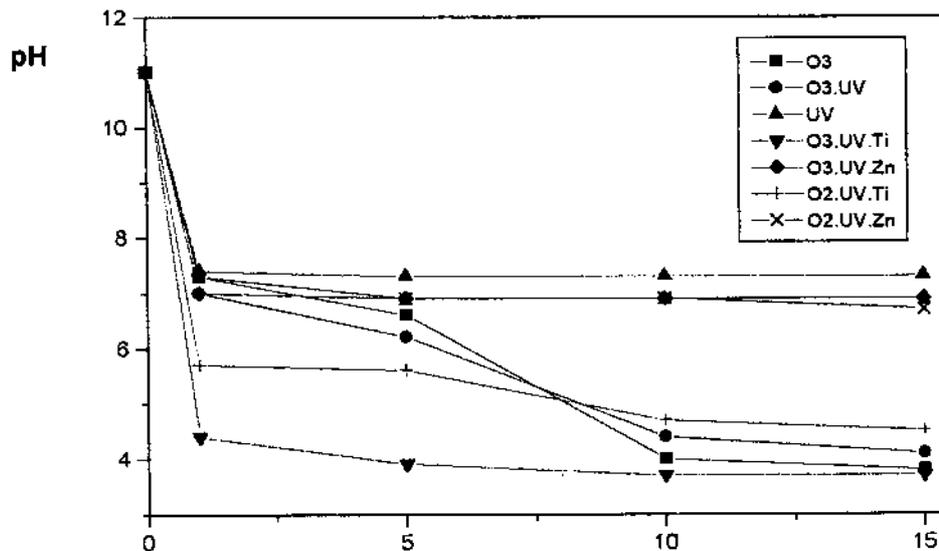


Figura 27. Variação de pH para o Corante Vermelho Reativo 251

Para o corante azul reativo 21, durante o tratamento fotocatalítico (5 e 15 min) houve uma variação de pH de 11,0 para 6,5 com TiO_2 e 7,2 com ZnO .

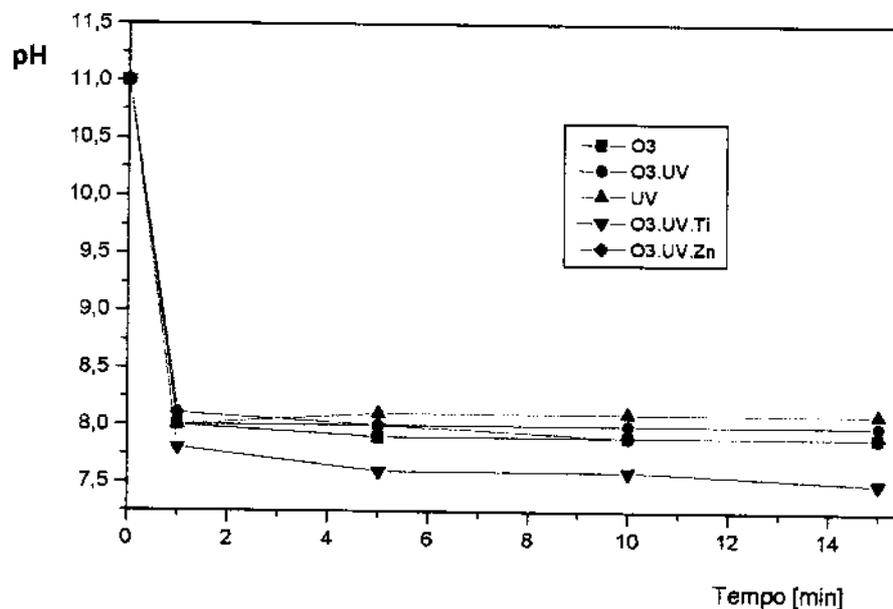


Figura 28. Variação de pH para o Corante Azul Reativo 21

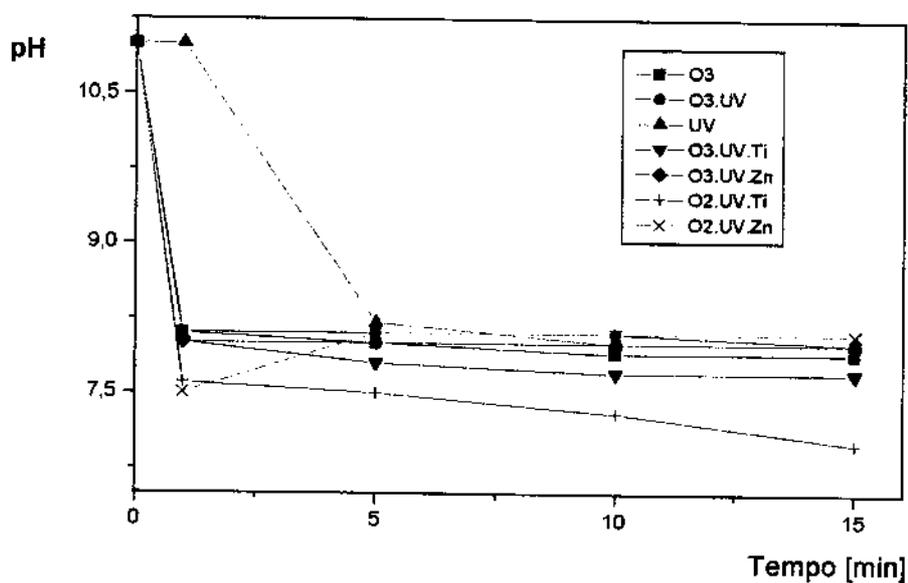


Figura 29. Variação de pH para o Corante Azul Reativo 19

Para o efluente têxtil, foi determinada uma variação de 3 unidades, pH 11 para pH 8.

As medidas do consumo de O_3 nos experimentos foram avaliadas espectrofotometricamente. Os resultados são mostrados nos gráficos das figuras 30, 31 e 32. Observou-se que a tendência de consumo é a mesma para os corantes.

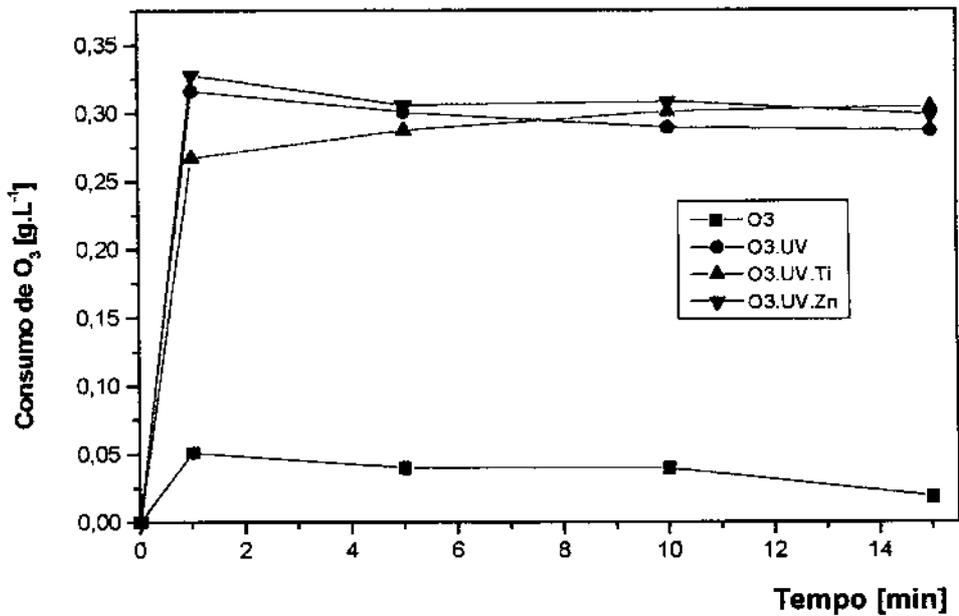


Figura 30. Consumo de ozônio para o Corante Vermelho Reativo 251

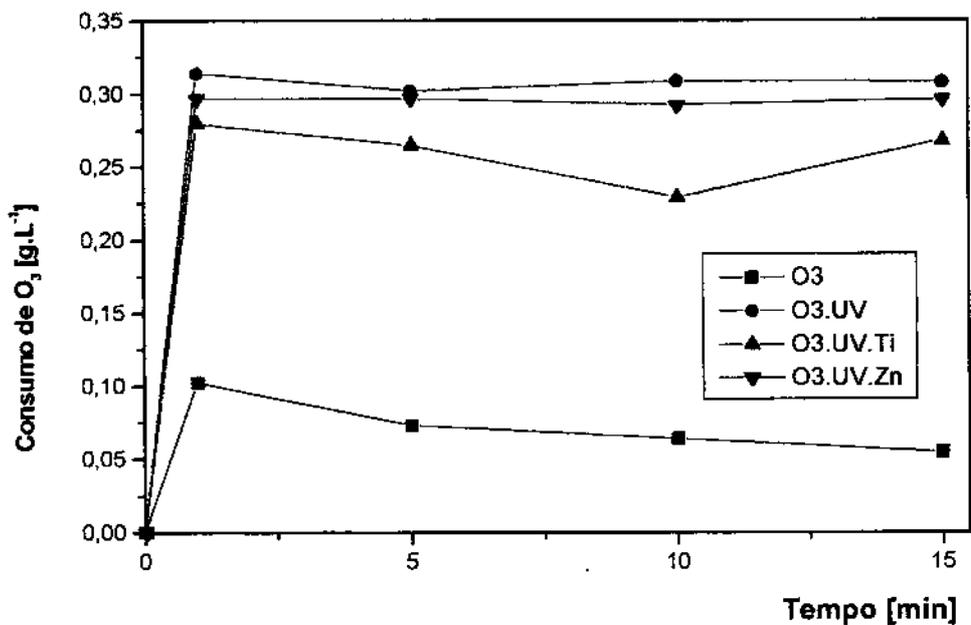


Figura 31. Consumo de ozônio para o Corante Azul Reativo 21

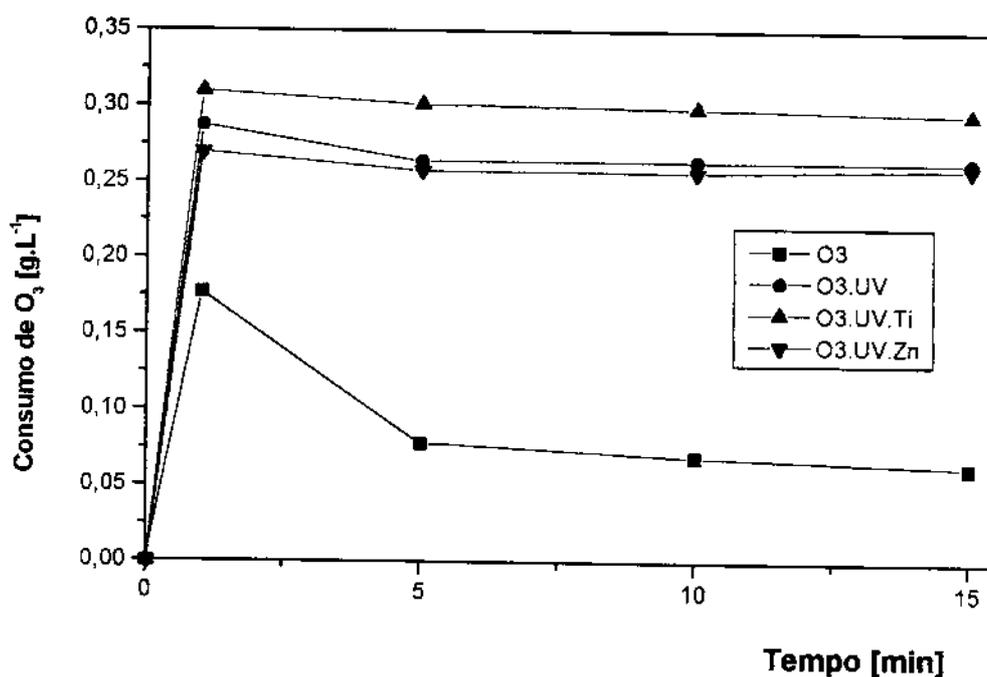


Figura 32. Consumo de ozônio para o Corante Azul Reativo 19

Os resultados obtidos para a variação da unidade de cor nos mostram que o tratamento menos eficiente foi a fotólise (as amostras são irradiadas com luz UV). A Tabela 11 apresenta os valores de unidade de cor para os corantes nos diferentes tempos de tratamento.

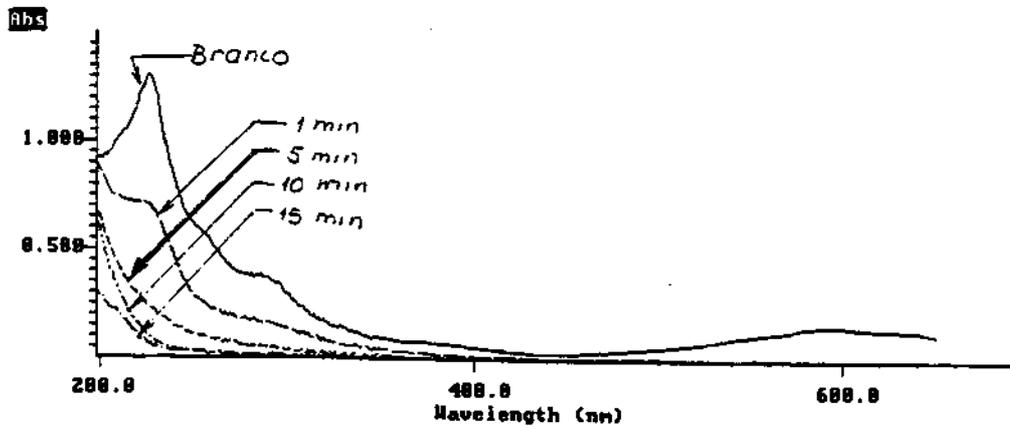
Observa-se que, para o corante azul reativo 21, houve um aumento no valor da unidade de cor quando utiliza-se os tratamentos em que envolveram o ozônio. Provavelmente, alguns intermediários foram formados, sendo absorvidos com maior intensidade em 465 nm.

As Figuras 33, 34 e 35 apresentam os espectrogramas UV-VIS referentes aos diferentes tratamentos do corante azul reativo 19. As Figuras 36, 37 e 38 apresentam os espectrogramas UV-VIS referentes aos diferentes tratamentos do corante azul reativo 21. Nas Figuras 39, 40 e 41 são apresentados os espectrogramas do corante vermelho reativo 251. Através desta análise, observam-se modificações nos espectros, tanto para a região do ultravioleta como para a região do visível.

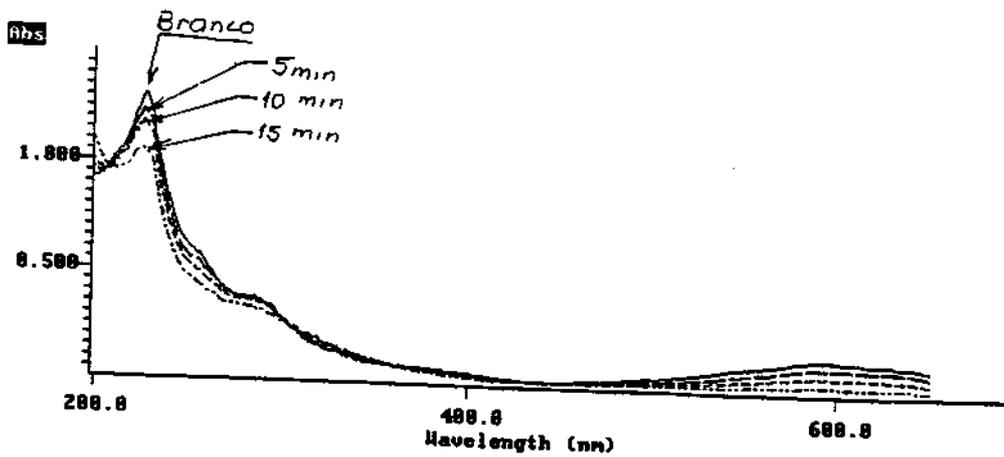
Tabela 11. Unidade de Cor para os Corantes

Tratamento	Tempo (min)	Vermelho 251 *	Azul R. 21*	Azul R. 19*
		mg.L ⁻¹ Pt	mg.L ⁻¹ Pt	mg.L ⁻¹ Pt
O ₃	0	2305,0	74,4	139,0
	1	1623,9	148,0	27,5
	5	270,7	43,6	0
UV	0	2305,0	75,4	139,0
	5	2250,5	66,3	116,3
	10	2223,4	66,3	111,7
	15	2196,0	70,8	107,2
O ₃ /UV	0	2305,0	75,4	139,0
	1	1596,7	143,5	61,8
	5	202,6	39,1	0
O ₃ /UV/Ti	0	2305,0	75,4	139,0
	1	179,6	179,9	30,1
	5	0	11,9	16,4
O ₃ /UV/Zn	0	2305,0	75,41	139,0
	1	888,9	188,9	16,4
	5	0	0	0
O ₃ /UV/Ti	0	2305,0	75,4	139,0
	1	0		75,4
	5		0	39,1
	10			30,1
	15			11,9
O ₃ /UV/Zn	0	2305,0	75,41	139,0
	1	123,1		125,4
	5	0	80,8	16,39
	10		0	0

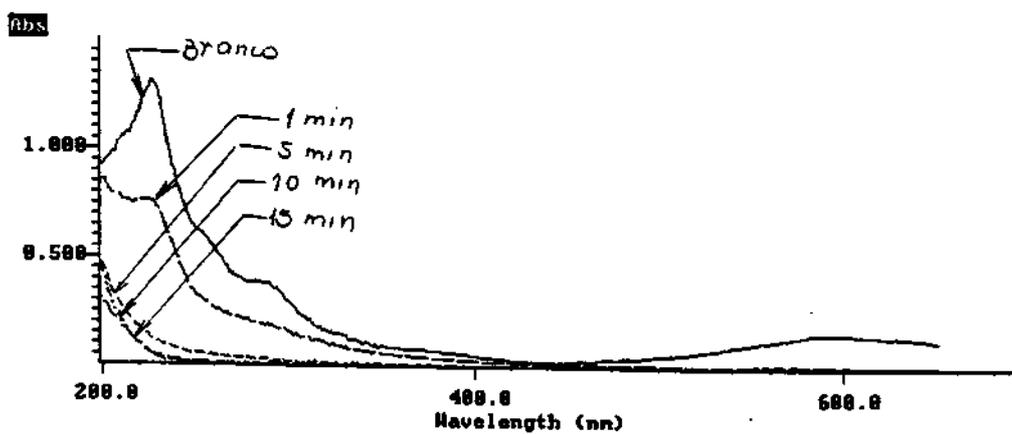
* Unidade de Cor (mg/L Pt)



(a) Tratamento com Ozônio

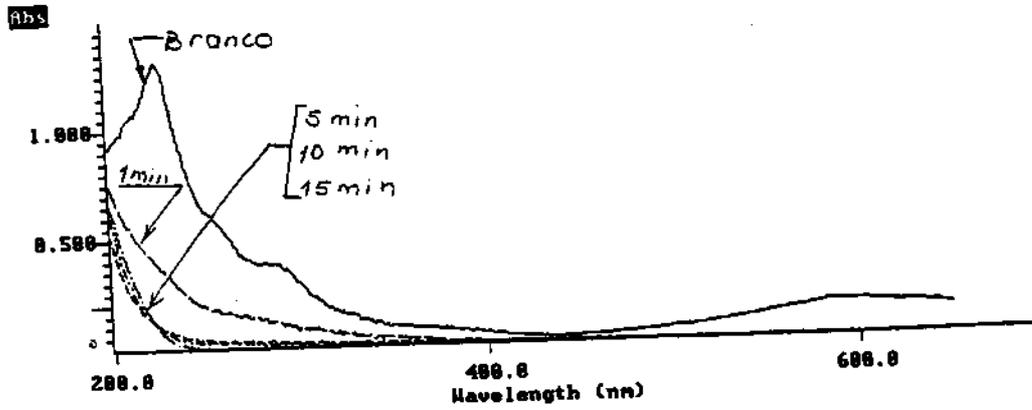


(b) Tratamento com UV

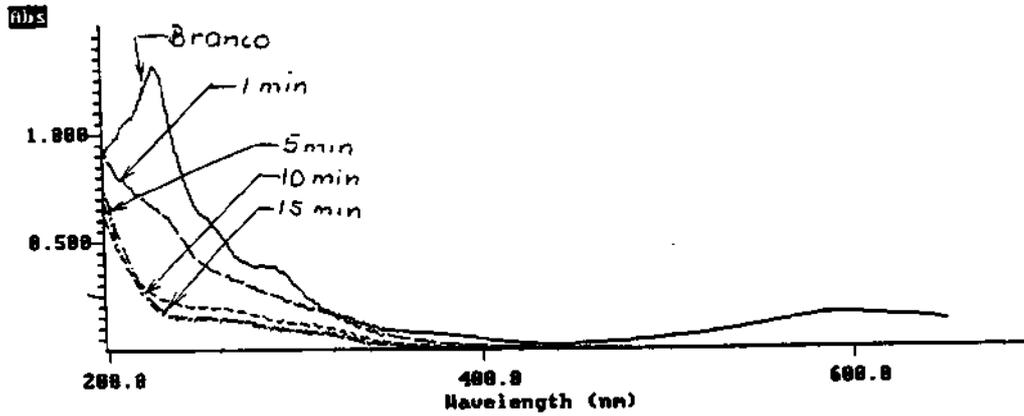


(c) Tratamento combinado Ozônio/UV

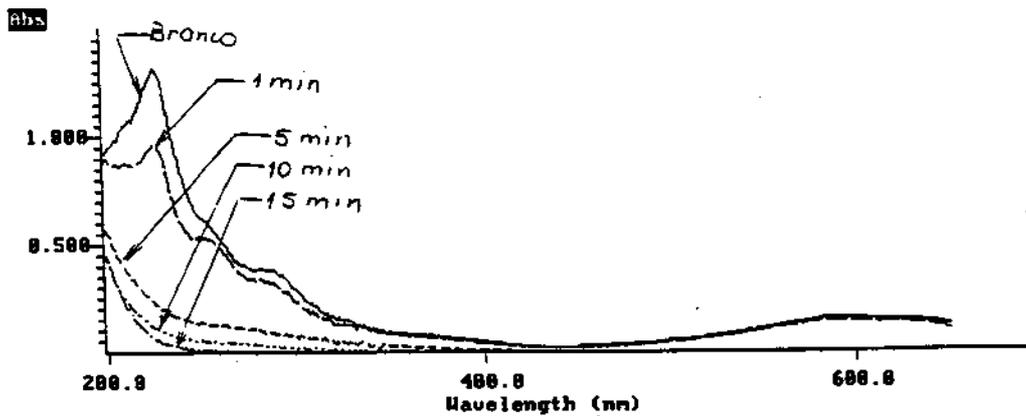
Figura 33. Espectros UV-VIS do Corante Azul Reativo 19 referente aos tratamentos.



(a) Tratamento combinado Ozônio/UV/ZnO



(b) Tratamento combinado OzônioUV/TiO₂



(c) Tratamento combinado Oxigênio/UV/ZnO

Figura 34. Espectros UV-VIS do Corante Azul Reativo 19 referente aos tratamentos.

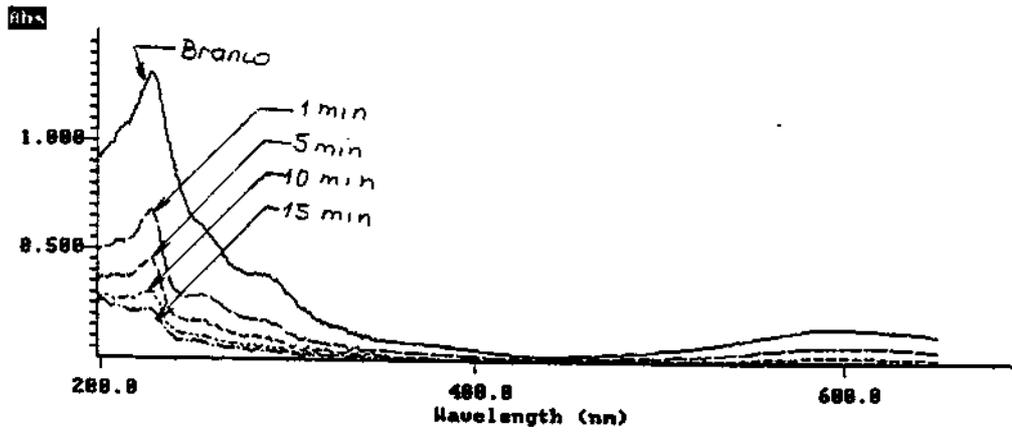
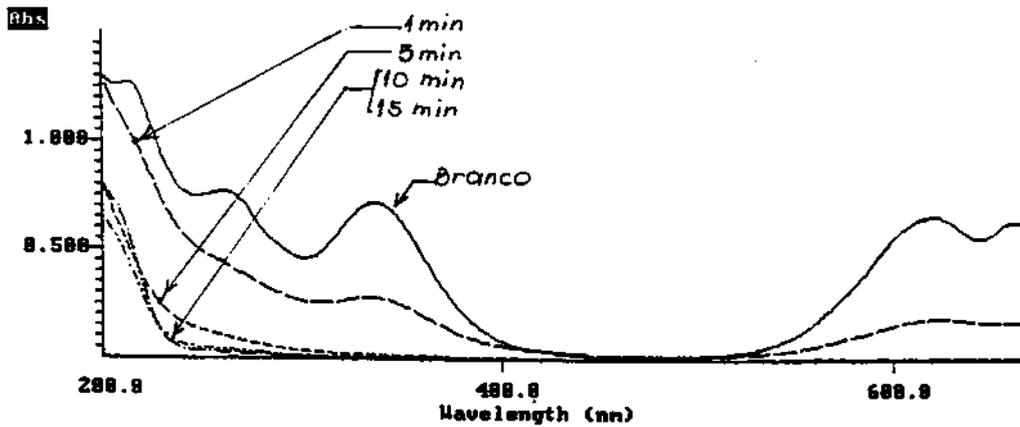
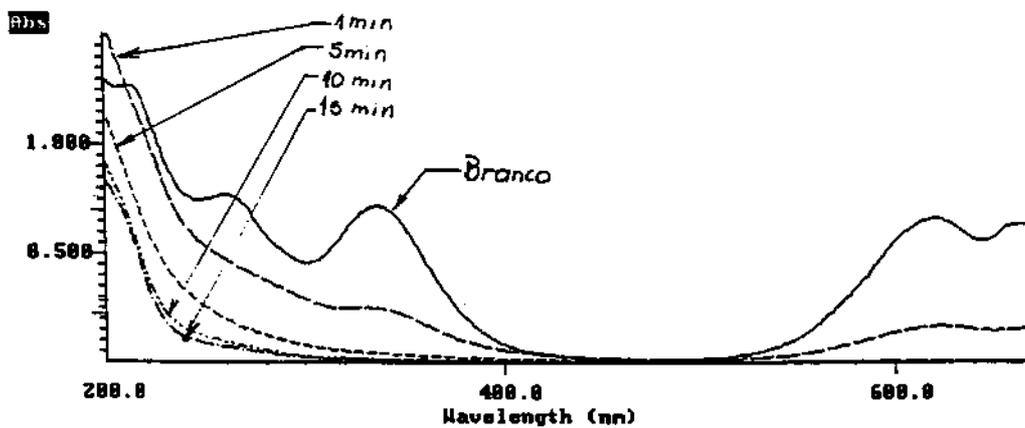


Figura 35. Espectros UV-VIS do Corante Azul Reativo 19 referente ao tratamento Oxigênio/UV/TiO₂

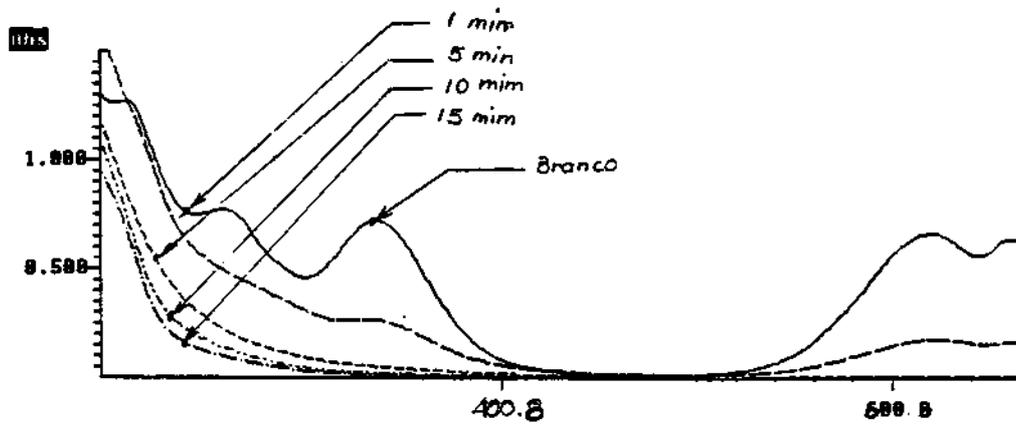


(a) Tratamento combinado Ozônio/UV/ZnO

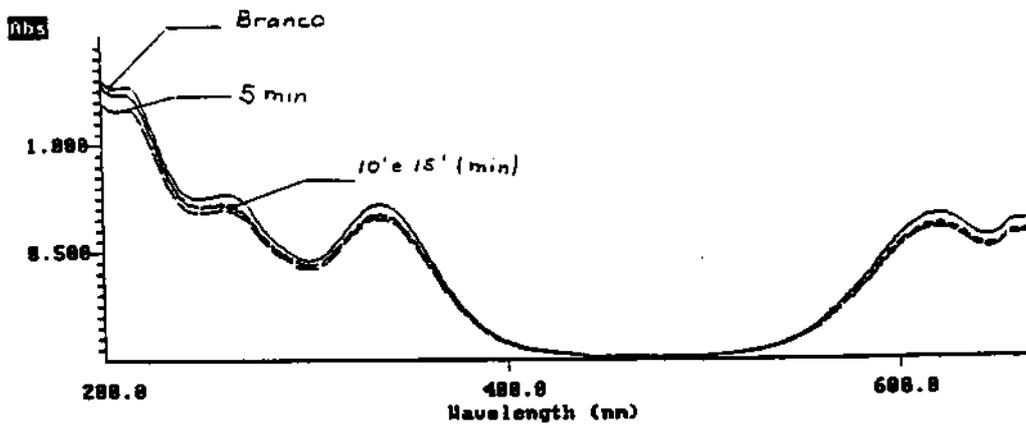


(b) Tratamento combinado Ozônio/UV/TiO₂

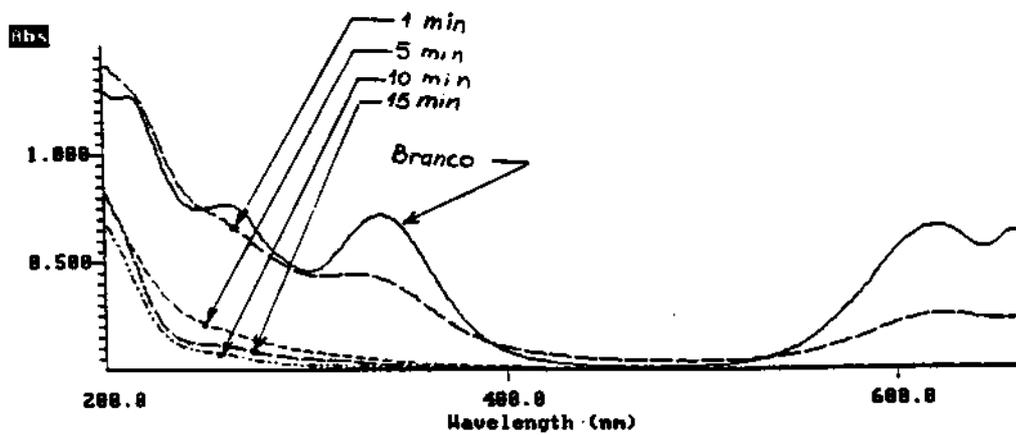
Figura 36. Espectros UV-VIS do Corante Azul Reativo 21 referente aos respectivos tratamentos



(a) Tratamento com Ozônio

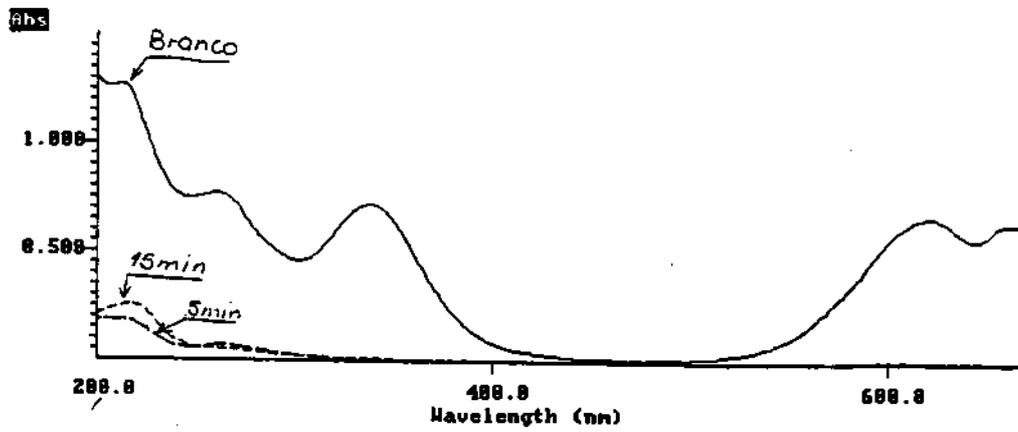


(b) Tratamento com UV

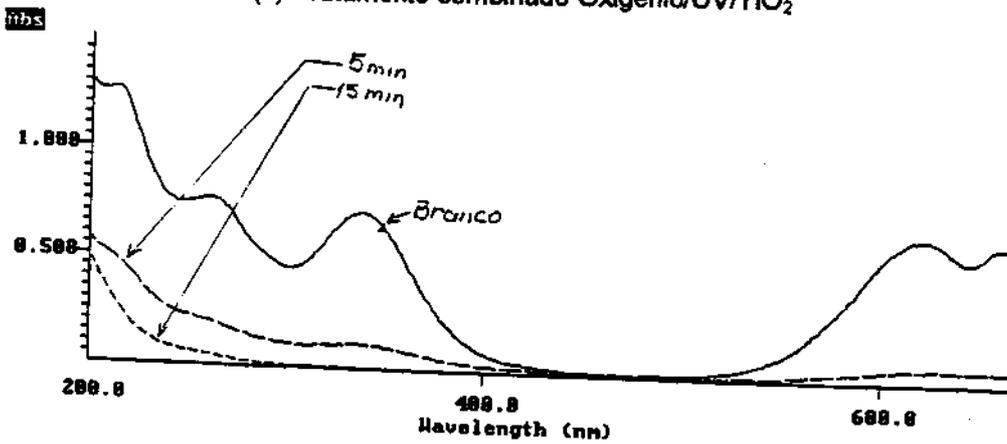


(c) Tratamento combinado Ozônio/UV

Figura 37. Espectros UV-VIS do Corante Azul Reativo 21 referente aos respectivos tratamentos



(a) Tratamento combinado Oxigênio/UV/TiO₂



(b) Tratamento combinado Oxigênio/UV/ZnO

Figura 38. Espectros UV-VIS do Corante Azul Reativo 21 referente aos tratamentos

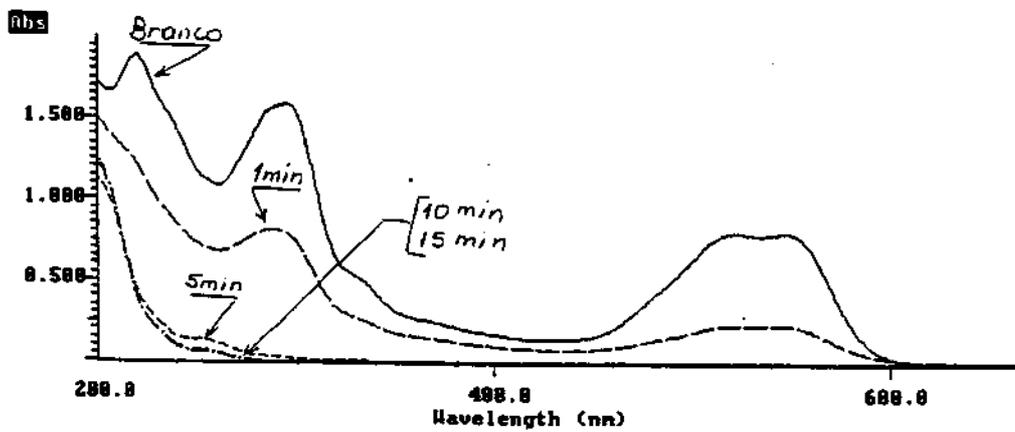
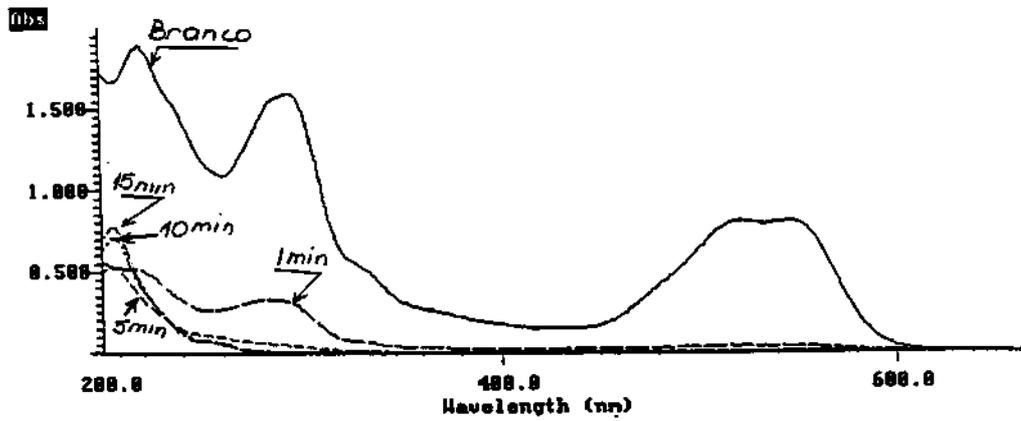
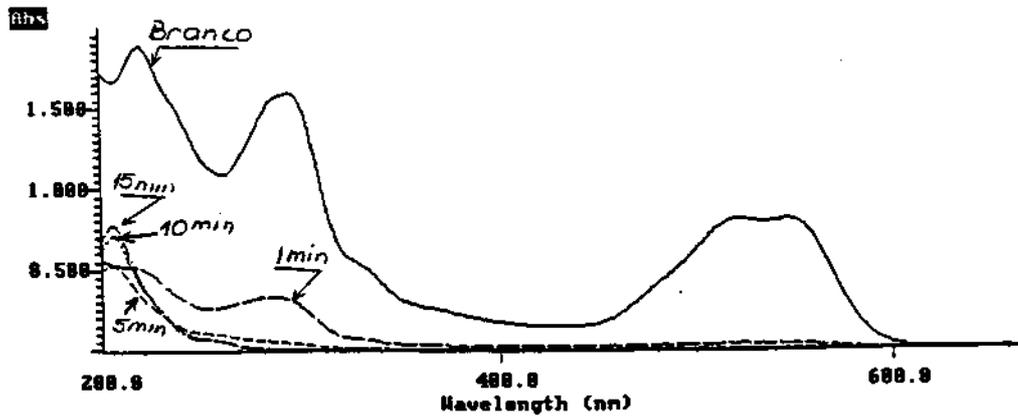


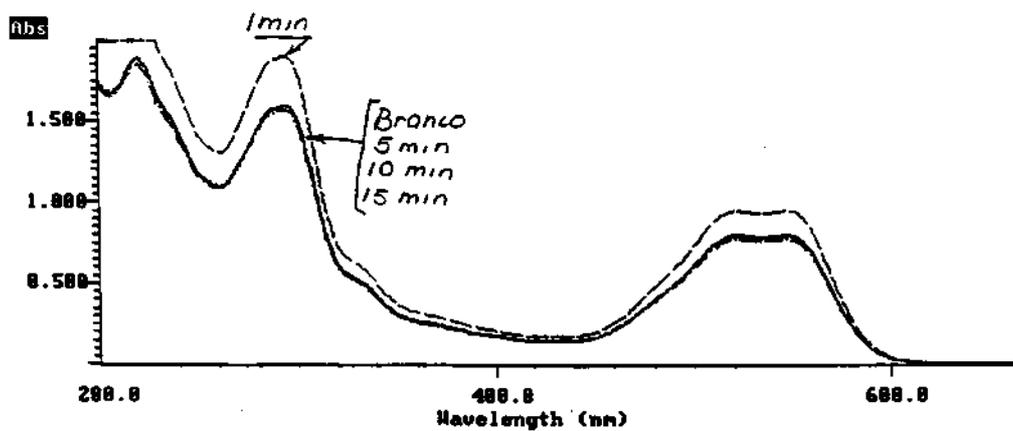
Figura 39. Espectros UV-VIS do Corante Vermelho Reativo 251 referente ao tratamento Ozônio/UV/ZnO



(a) Tratamento combinado Ozônio/UV/TiO₂

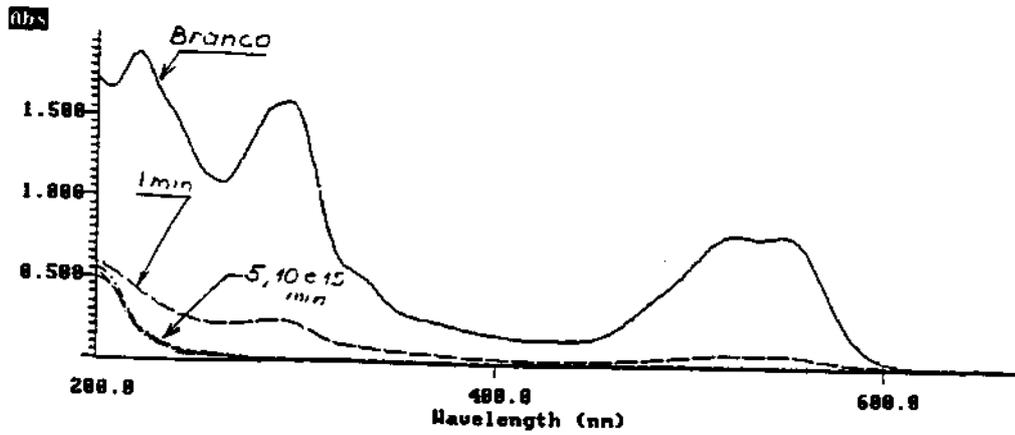


(b) Tratamento com Ozônio

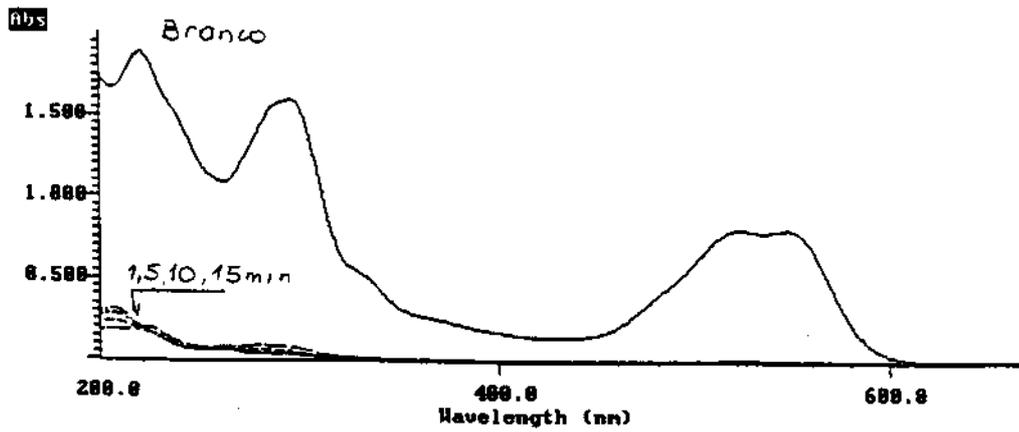


(c) Tratamento com UV

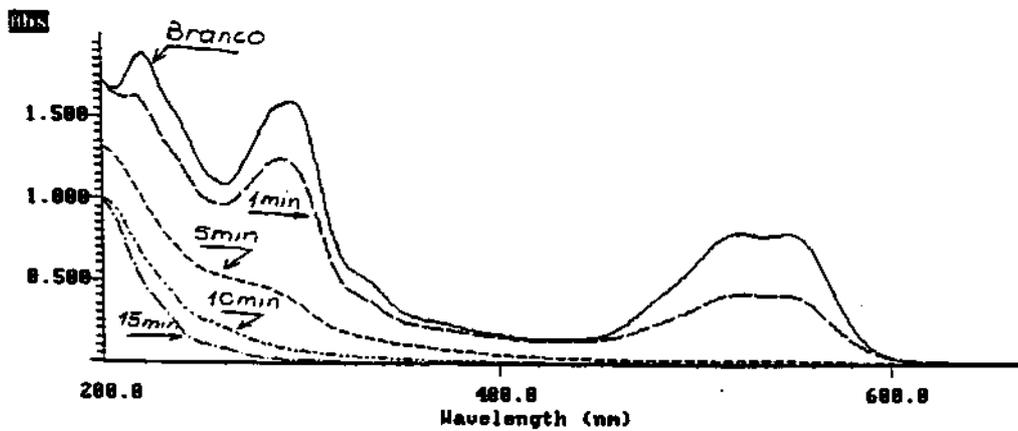
Figura 40. Espectros UV-VIS do Corante Vermelho Reativo 251 referentes aos tratamentos



(a) Tratamento combinado Oxigênio/UV/TiO₂



(b) Tratamento combinado Oxigênio/UV/ZnO



(c) Tratamentos combinado Ozônio/UV

Figura 41. Espectros UV-VIS do Corante Vermelho Reativo 251 referente aos tratamentos

Os espectros de UV/Vis mostram a eficiência dos processos utilizados para o tratamento dos corantes. O processo menos eficiente foi utilizando somente a irradiação UV. A cinética de descoloração dos corantes é muito rápida e em 15 minutos de tratamento a cor desaparece totalmente.

As análises por CLAE apresentaram certa dificuldade na separação dos corantes e variaram conforme o tipo de tratamento que foi feito. Os cromatogramas do corante vermelho reativo 251 foram de difícil resolução. No tratamento com O_3 (5, 10 e 15 minutos) houve o aparecimento de compostos em tempos de retenção diferentes do branco, sendo que estes compostos diminuíram com o tempo, mas não desapareceram totalmente. Utilizando o tratamento por UV não observou-se nenhuma diminuição dos compostos como também os de tempos de retenção diferentes, somente houve um aumento de intensidade após o tratamento. Os tratamentos combinados $O_3/UV/TiO_2$ e $O_3/UV/ZnO$ apresentaram um aumento significativo dos compostos existentes em 5 minutos de tratamento, já com 15 minutos a intensidade destes diminuiu e alguns desaparecem completamente. Quando utilizou-se o tratamento fotocatalítico $O_2/UV/TiO_2$ não houve o aparecimento de novos compostos e ocorreu uma significativa diminuição dos já existentes. Mas, quando o catalisador é o ZnO ocorreu o aparecimento de novos compostos que não desaparecem após 15 minutos de tratamento.

O corante azul reativo 21 apresentou resultados muito semelhantes ao corante vermelho reativo 251 para os tratamentos onde foi utilizado o processo de ozonização isolado e combinado com outros processos.

Os melhores resultados foram obtidos com o corante azul reativo 19. Nas análises dos cromatogramas obtidos para este corante observou-se uma diminuição acentuada dos compostos quando foi utilizado o tratamento combinado. Alguns cromatogramas dos corantes são apresentados nas Figura 42 e 43, 44 e 45.

Alguns autores obtiveram resultados bastante promissores na separação de misturas de corantes têxteis com muito boa resolução dos cromatogramas, utilizando a técnica de eletroforese capilar (Lord e col. 1995; Oxpring e col. 1995), algumas análises do efluente têxtil foram feitas mas, os resultados obtidos por eletroforese capilar não foram satisfatórios, obtendo pouca resolução.

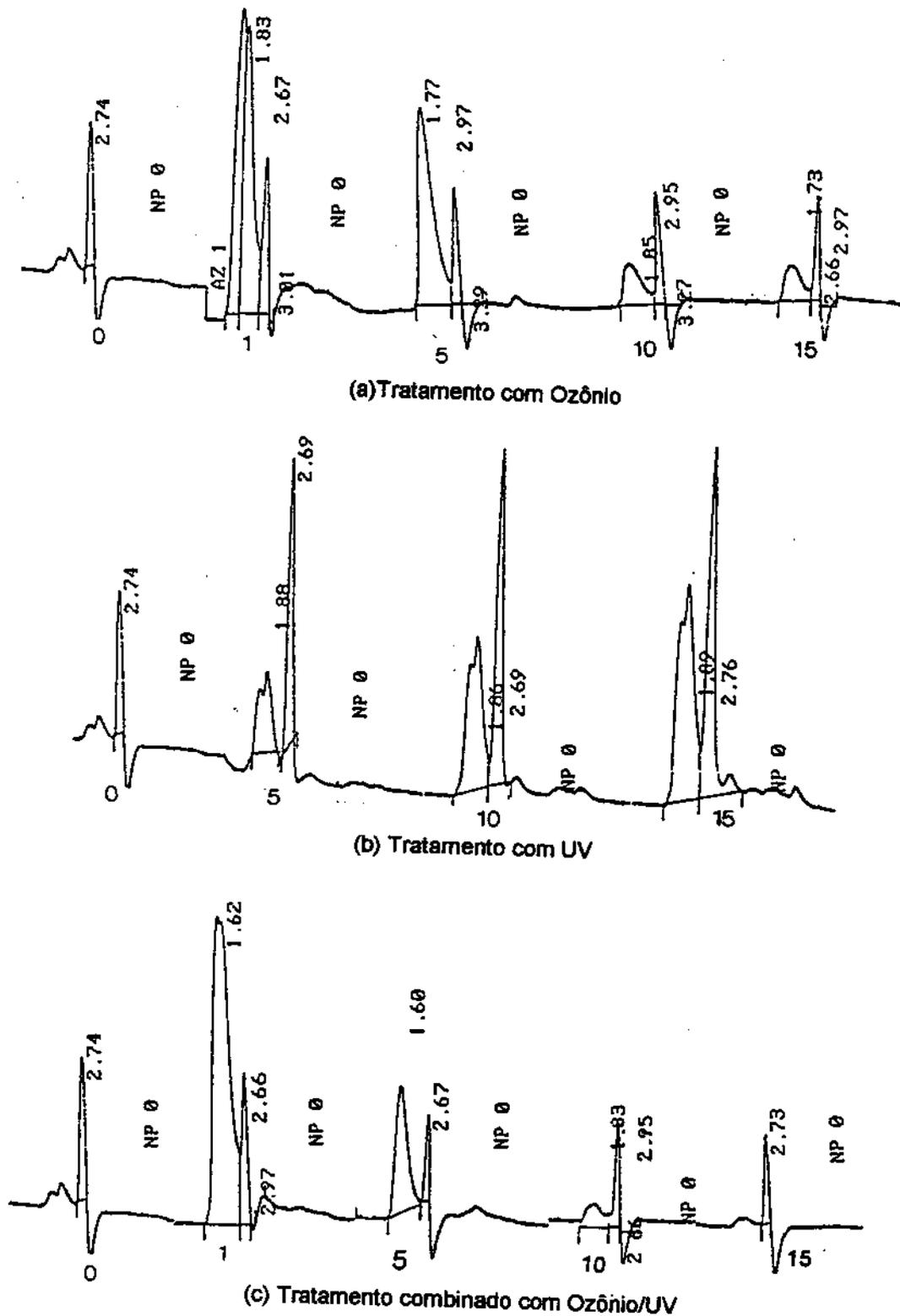
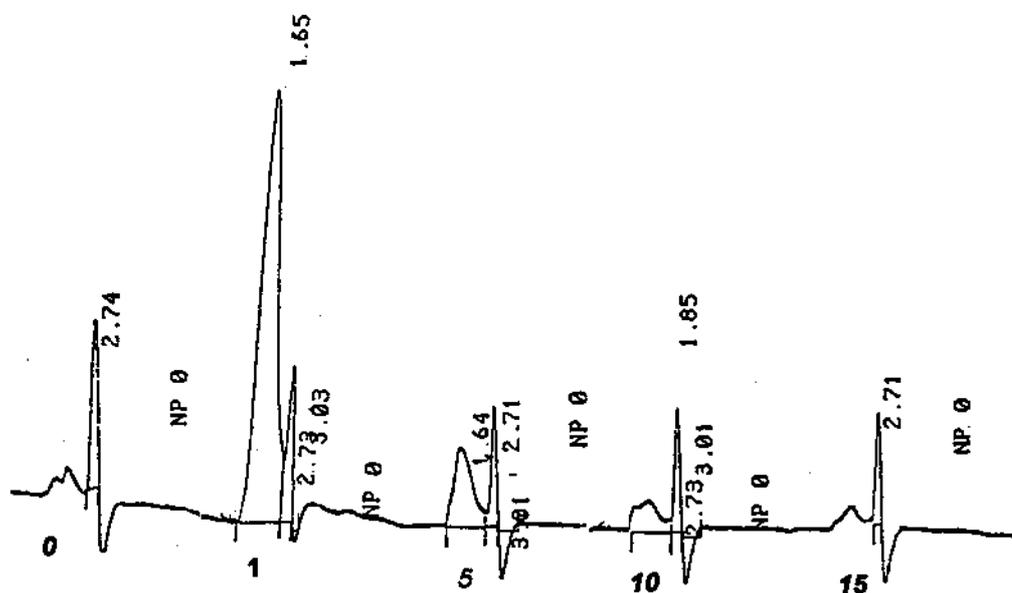
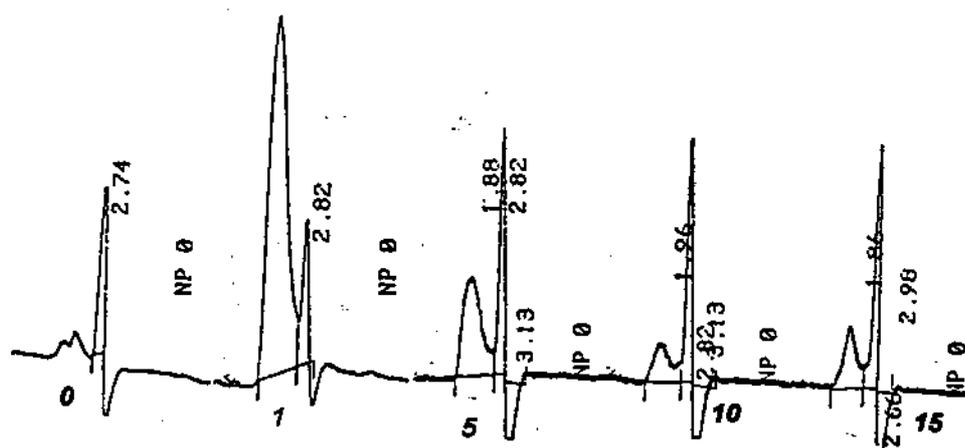
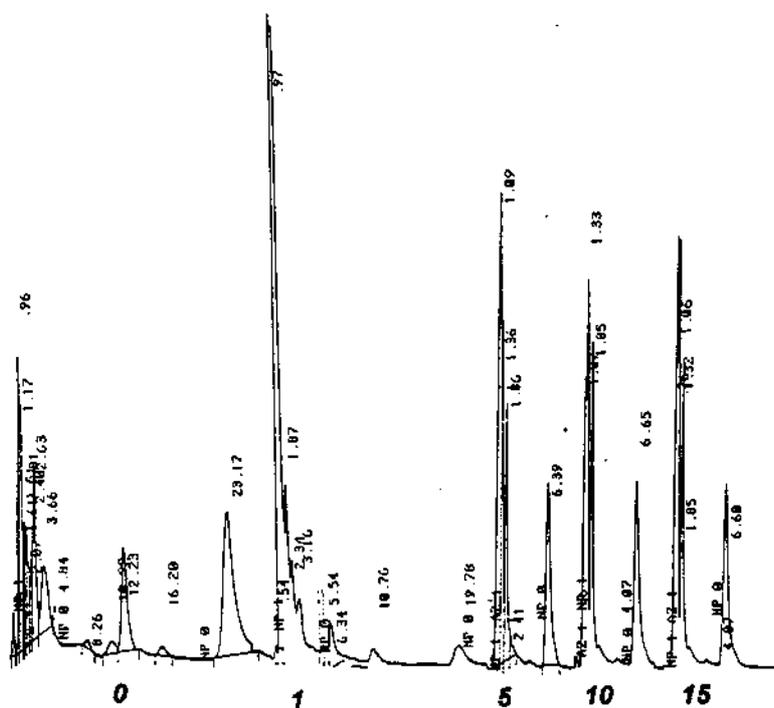


Figura 42. Cromatogramas do corante azul reativo 19. Condições: fluxos $0,7 \text{ mL min}^{-1}$; eluente metanol/ H_2SO_4 $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (5/95); comprimento de onda 244 nm ; tempo de tratamento 0, 1, 5, 10 e 15 minutos.

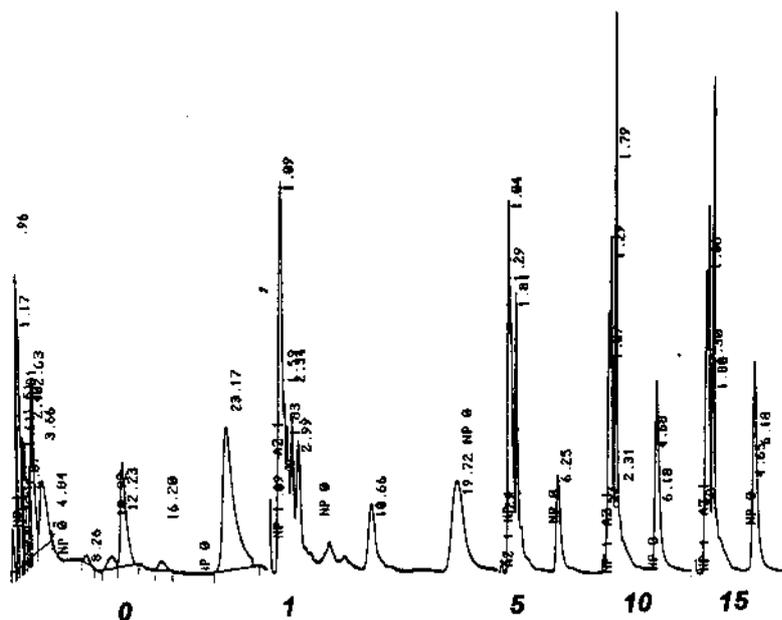
(a) Tratamento combinado com Oxigênio/UV/TiO₂

(b) Tratamento combinado com Oxigênio/UV/ZnO

Figura 44. Cromatogramas do corante azul reativo 19. Condições: fluxos 0,7 mL min⁻¹; eluente metanol/H₂SO₄ 5x10⁻⁴ mol L⁻¹ (5/95); comprimento de onda 244 nm; tempo de tratamento 0, 1, 5, 10 e 15 minutos.



(a) Tratamento combinado com Ozônio/UV



(b) Tratamento combinado com Ozônio/UV/ZnO

Figura 45. Cromatogramas do corante vermelho reativo 251. Condições: fluxos $0,7 \text{ mL min}^{-1}$; eluente metanol/ H_2SO_4 $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (5/95); comprimento de onda 244 nm ; tempo de tratamento 0, 1, 5, 10 e 15 minutos.

4.10. Tratamento Biológico utilizando enzimas

Após o experimento para produção das enzimas lignina peroxidase e manganês peroxidase, foi feita a determinação enzimática, e verificou-se que o máximo da atividade ocorreu após o quarto dia de indução (118,7 U/L). Esse caldo foi então semi-purificado através da ultrafiltração, diálise e liofilização a fim de se obter um incremento ainda maior de sua atividade. A Tabela 12 resume os valores de atividade obtidos após o emprego destas técnicas.

Tabela 12. Técnicas empregadas para concentrar a atividade enzimática

Técnicas	LiP (UL ⁻¹)	MnP (UL ⁻¹)
Ultrafiltração	214,0	86,0
Diálise e Liofilização	540,0	200,0

A enzima imobilizada em diferentes suportes foi testada para degradar o efluente têxtil, mas o resultado obtido foi 32 % de descoloração num comprimento de onda de 400 nm. Optou-se então em testar num outro tipo de efluente industrial onde resultados satisfatórios foram obtidos, o efluente testado foi da indústria papelreira (Kraft E1 e Licor Negro) (Peralta-Zamora e col., 1998c).

4.11. Teste enzimático

A descoloração do efluente têxtil com as enzimas LiP e MnP (produzidas pelo fungo *P. chrysosporium*) é mostrada no gráfico da Figura 46. Observou-se que, em 30 minutos de reação, houve um decréscimo no valor das absorvâncias na região de 300 a 700 nm. Em 60 minutos de reação, observou-se um pequeno aumento nos valores de absorvâncias. A análise de COT (carbono orgânico total) na amostra retirada em 30 minutos apresenta uma redução de aproximadamente 20 %, e para 60 minutos a porcentagem de redução foi a mesma. Fez-se um branco com a enzima na mesma diluição do experimento. Adicionando a enzima, provavelmente, também está sendo adicionado algum tipo de substrato que contém carbono orgânico alterando a quantidade real.

Os corantes comerciais apresentam uma grande variedade de cores e estruturas contendo substituintes nitro, grupos sulfônico, grupamento N=N, etc. Esta diferença estrutural faz com que ocorram diferentes velocidades de degradação. Na reação enzimática com os corantes, a descoloração procedeu-se com cinéticas diferentes, dependendo do corante estudado. Através das figuras a seguir, pode-se observar o decréscimo nos valores das absorvâncias obtidos na descoloração de diferentes corantes utilizados pela indústria têxtil. Olikka e col. (1993) também obtiveram bons resultados na descoloração de 10 diferentes tipos de corantes utilizando a enzima LiP bruta. Na Figura 46 apresenta-se os resultados da diminuição da absorvância para o efluente têxtil utilizando $0,1 \text{ UL}^{-1}$ de enzima.

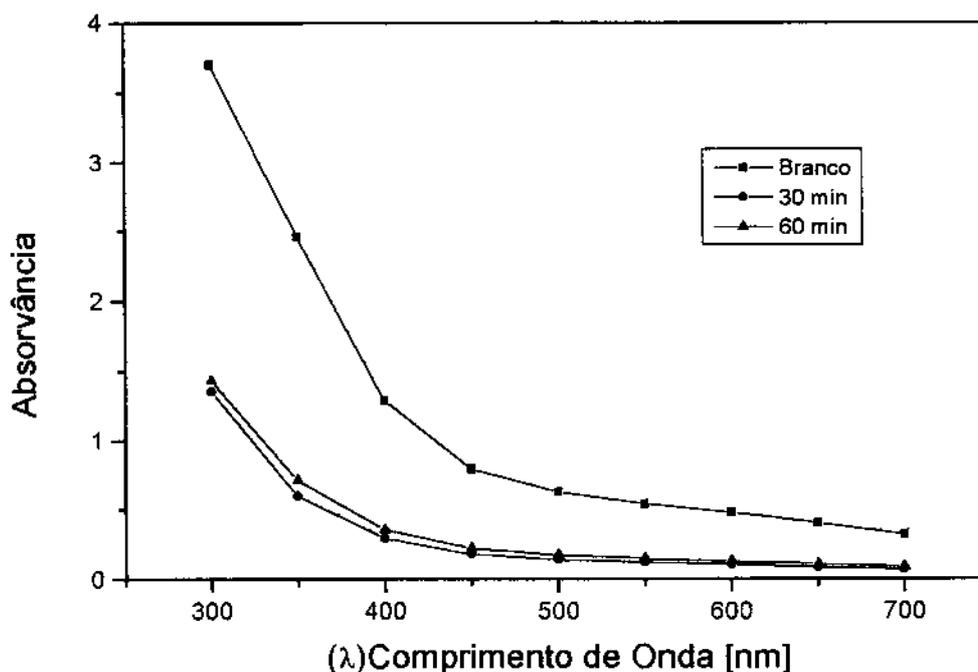


Figura 46. Reação enzimática do efluente têxtil a 27°C , com adição de $1,0 \text{ mL}$ de enzima (LiP e MnP)

Na Figura 47(a) é apresentado o decaimento das absorvâncias para o corante vermelho reativo 251 numa concentração de $0,0272 \text{ g}$ em 50 mL ($0,544 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) onde a descoloração foi aproximadamente 28 %. Na Figura 47(b) são mostrados os resultados obtidos quando utilizou-se uma solução do corante apresentando metade da concentração utilizada anteriormente, observou-se uma descoloração de 46 %.

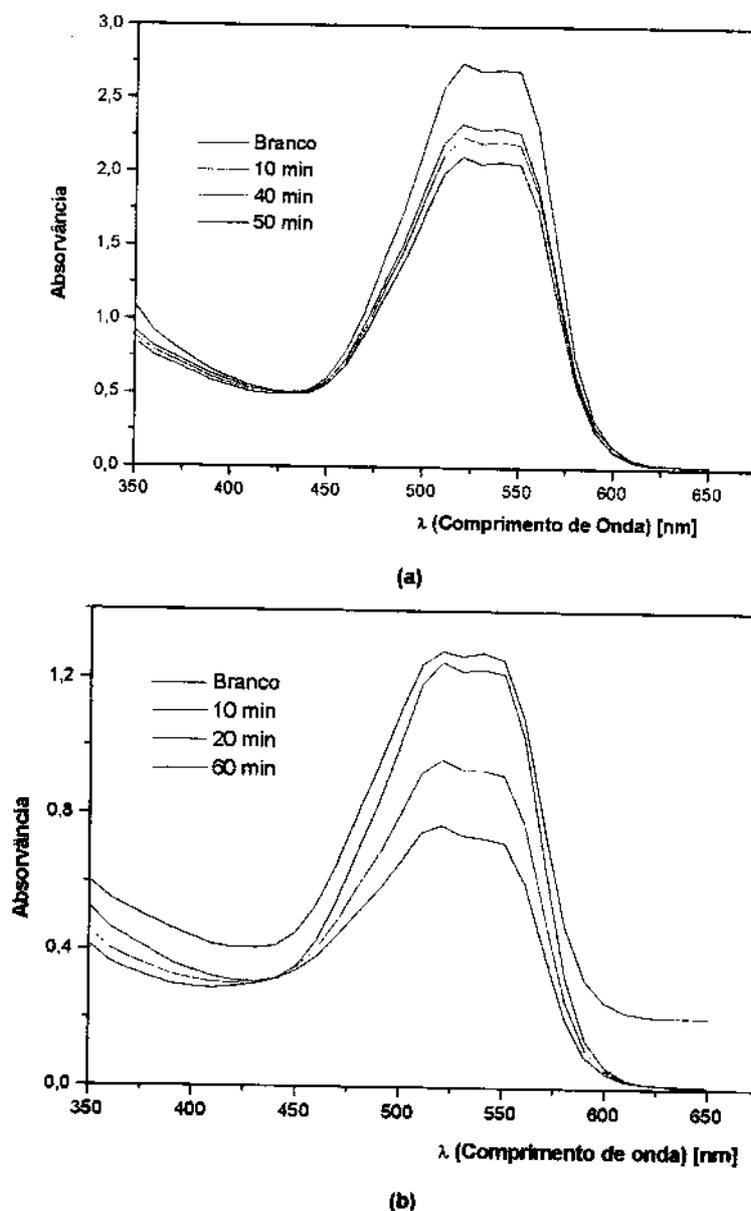
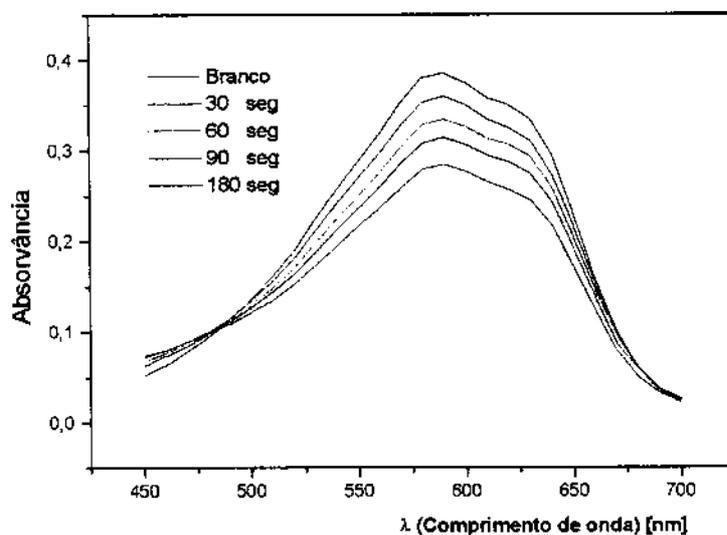
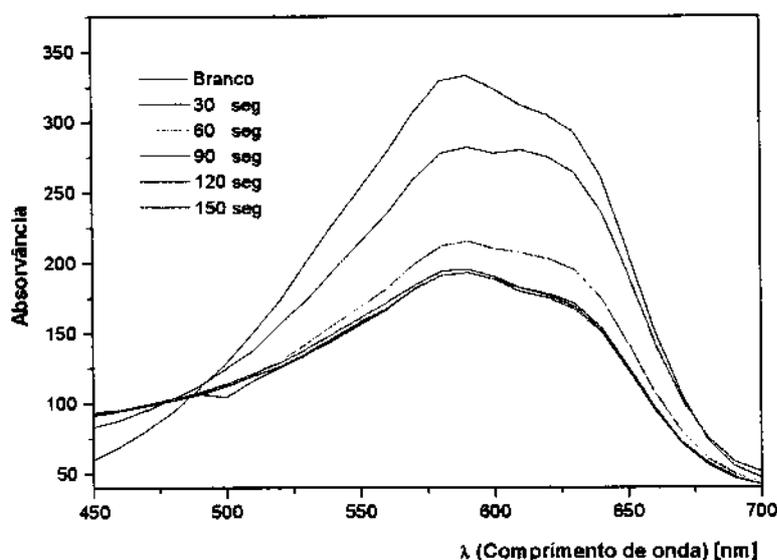


Figura 47. (a) Reação enzimática utilizando LiP e MnP, do Corante Vermelho. 251 (b) Corante Verm. 251 diluído 1:1

Os resultados obtidos na reação enzimática para o corante azul reativo 19 mostram que a quantidade de enzima adicionada segundo procedimentos já descritos na literatura (Olikka e col., 1993), pode não ser suficiente para completar a reação. Na Figura 48 são apresentados dois experimentos de descoloração enzimática: em (a) obteve-se 25 % de degradação e em (b) 46 %. Uma maior quantidade de enzima faz com que a reação ocorra mais rápida e eficiente.



(a)

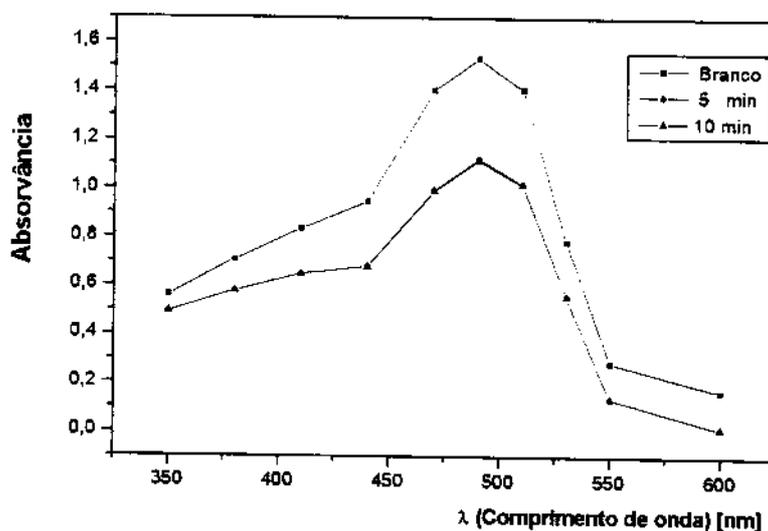


(b)

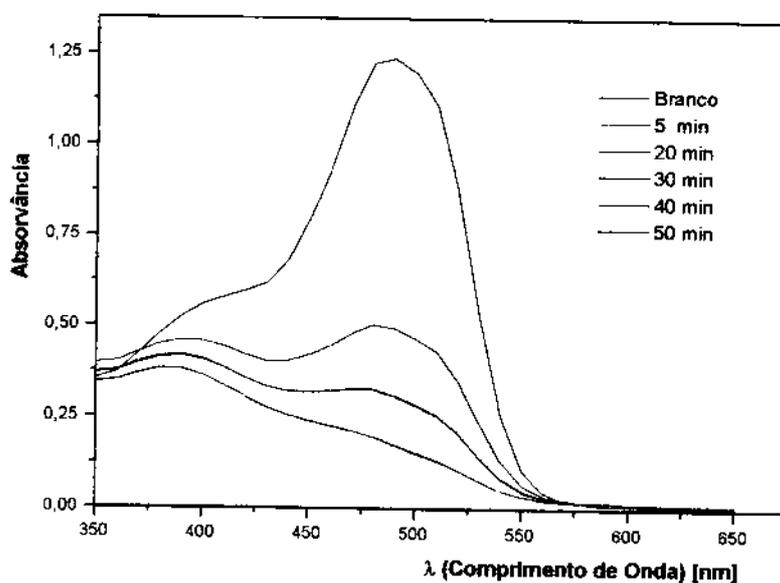
Figura 48. (a) Descoloração do Corante Azul Reativo 19 ($0,112\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) utilizando $200\mu\text{L}$ de enzima e (b) $400\mu\text{L}$ de enzima.

Para o corante laranja reativo 122 ($0,552\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) observou-se que a reação enzimática no primeiro ensaio (Figura 49(a)), levou a 27 % de degradação em 5 minutos, entretanto, em 10 minutos não houve nenhuma mudança nos valores de absorvância. A temperatura do ensaio foi de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Já na Figura 49(b) pode ser

observado uma redução maior (90 %) entre o branco e 5 minutos e também que a reação prosseguiu até que se obtivesse uma total descoloração do corante. A temperatura neste ensaio foi de 27 °C.



(a)



(b)

Figura 49. Reação enzimática (LiP e MnP) do Corante Laranja 122 (a) temperatura de 20 °C, (b) temperatura de 27 °C.

Para o corante preto reativo 5, também obteve-se bons resultados na reação de descoloração, a redução de cor foi de 75 % para o λ em 550 nm. Na Figura 50, são

apresentados os espectros de absorção onde foi utilizada uma atividade de $0,1 \text{ UL}^{-1}$ da enzima. Este corante tem elevada coloração, a amostra foi diluída 100 vezes.

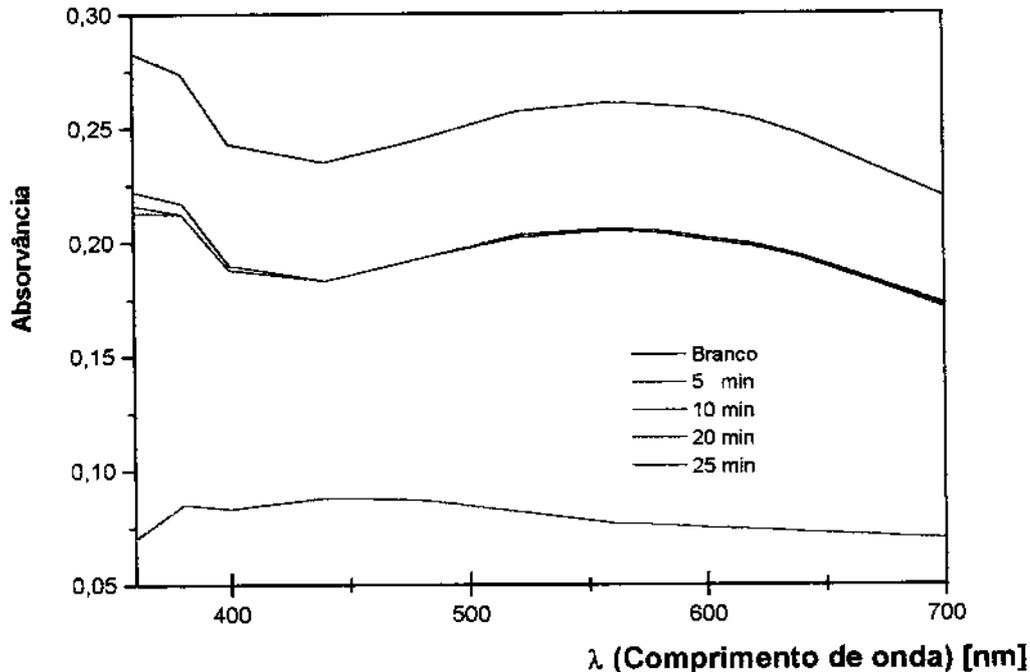


Figura 50. Reação enzimática do Corante Preto Reativo 5.

Após a produção de lacase foram feitos os testes com esta enzima obtendo resultados satisfatórios, tanto para descolorir o efluente como alguns dos corantes. Ao iniciar a reação enzimática para o tratamento do efluente têxtil, observou-se logo nos primeiros minutos uma mudança de cor da solução, inicialmente o efluente tinha uma coloração escura e, logo após a adição da enzima, passou para uma coloração rosa-forte e depois amarela. Deixou-se 15 minutos e a cor amarela permaneceu, finalizou-se então o experimento. O mesmo ocorreu nas duas vezes em que foi repetido o experimento, os resultados obtidos mostram uma descoloração de 70 % quando medida a absorvância em 515 nm.

Para o corante azul reativo 19 também ocorreu variação da cor azul para rosa, após 10 minutos observou-se uma coloração amarelo suave que permaneceu até o final do experimento (30 minutos), com uma descoloração de 87%. Para ambos os testes adicionou-se ABTS (indutor para lacase).

Foi obtida com o fungo *T. versicolor*, uma elevada atividade enzimática para lacase (400 U.L^{-1}) quando utilizou-se o meio extrato de malte comercial, adicionado a

uma pequena quantidade (0,1 mg) de ácido ferúlico (indutor). No meio que continha o caldo e o sabugo do milho a atividade encontrada foi de 158 U.L^{-1} para o fungo *L. edodes*. Em ambos os ensaios, utilizando o meio comercial e o caldo do milho, o fungo *T. villosa* produziu reduzida atividade enzimática (menor que 20 U.L^{-1}).

Na Figura 51, são apresentados os resultados de descoloração do corante azul reativo 19 numa concentração de 50 mg L^{-1} em função do tempo de reação utilizando a enzima livre.

A cinética de descoloração utilizando a lacase, para degradar os corantes utilizados na indústria têxtil, foi dependente da concentração dos mesmos. A Figura 52 mostra a diminuição da absorvância do corante azul reativo 19 em função da concentração. Foi observada total descoloração para o corante azul reativo 19, para as concentrações de 50 e 25 mg L^{-1} .

O corante vermelho reativo 251, também apresentou uma cinética de descoloração rápida.

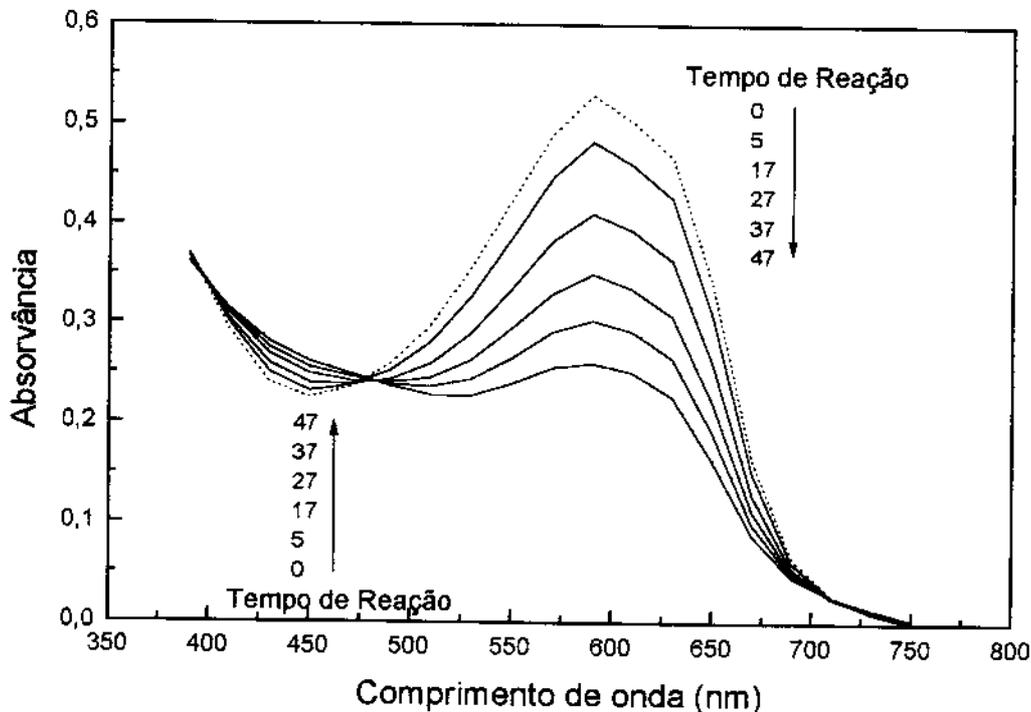


Figura 51. Descoloração do corante azul reativo 19 utilizando a lacase em diferentes tempos de reação.

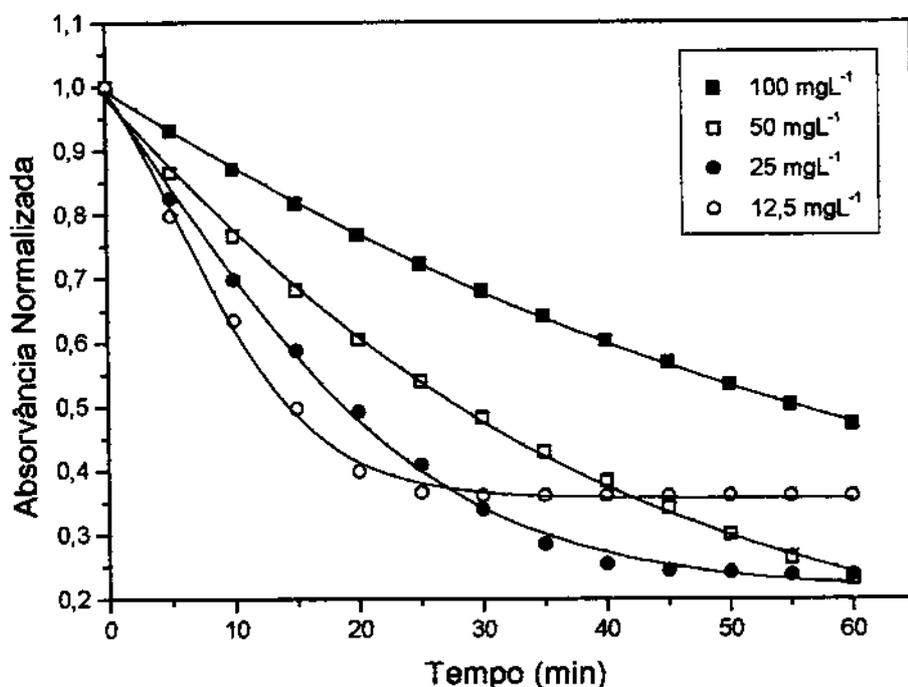


Figura 52. Cinética de descoloração com lacase em função da concentração do corante azul reativo 19

Pode-se observar na Figura 53 que a quantidade inicial de lacase adicionada não foi suficiente para descolorir o corante vermelho reativo 251, optou-se então, em aumentar a quantidade tanto da enzima como do mediador. Com esta adição o resultado obtido foi satisfatório. Este corante aparenta ser mais recalcitrante que o corante azul, apenas numa concentração (25 mg) obteve-se a descoloração.

Foram feitos testes de imobilização da enzima lacase em diferentes tipos de suportes. Lacase imobilizada na resina IRA – 400 foi testada para degradar/descolorir o corante azul reativo 19, entretanto, observou-se que após 30 minutos de tratamento, o corante estava integralmente adsorvido no suporte, não havendo degradação. Foi verificada a atividade de lacase, mas o resultado indicou perda da atividade após suportada. Nos demais materiais o resultado foi o mesmo.

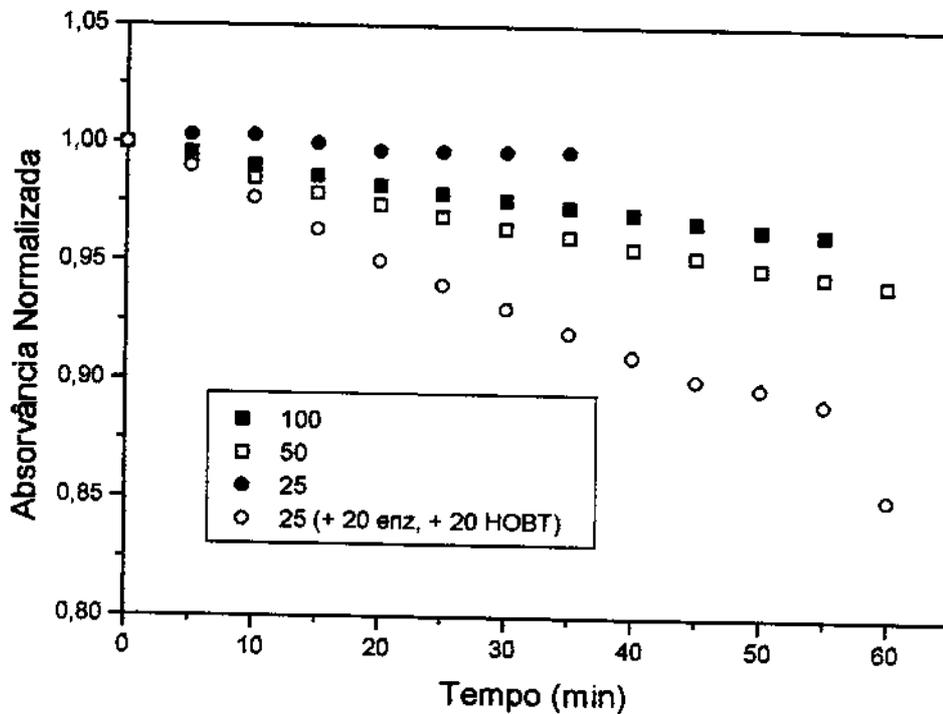


Figura 53. Cinética de descoloração com lacase em função da concentração do corante.

4.12. Tratamento Biológico com Fungos

Os resultados obtidos nos experimentos de descoloração do efluente têxtil utilizando processo biológico foram satisfatórios. Os fungos *T. villosa* e *P. chrysosporium* (imobilizados em Nylon ou livres) foram mais eficientes que os fungos *L. edodes* e *T. versicolor*, apresentando boa descoloração após 9 dias de incubação (Figura 54). No 12º dia (Figura 55) observou-se um aumento nos valores de absorvância, ou seja, o escurecimento da amostra devido a várias possibilidades, como por exemplo, a liberação de algum substrato ou mediador pelos fungos, ou uma polimerização.

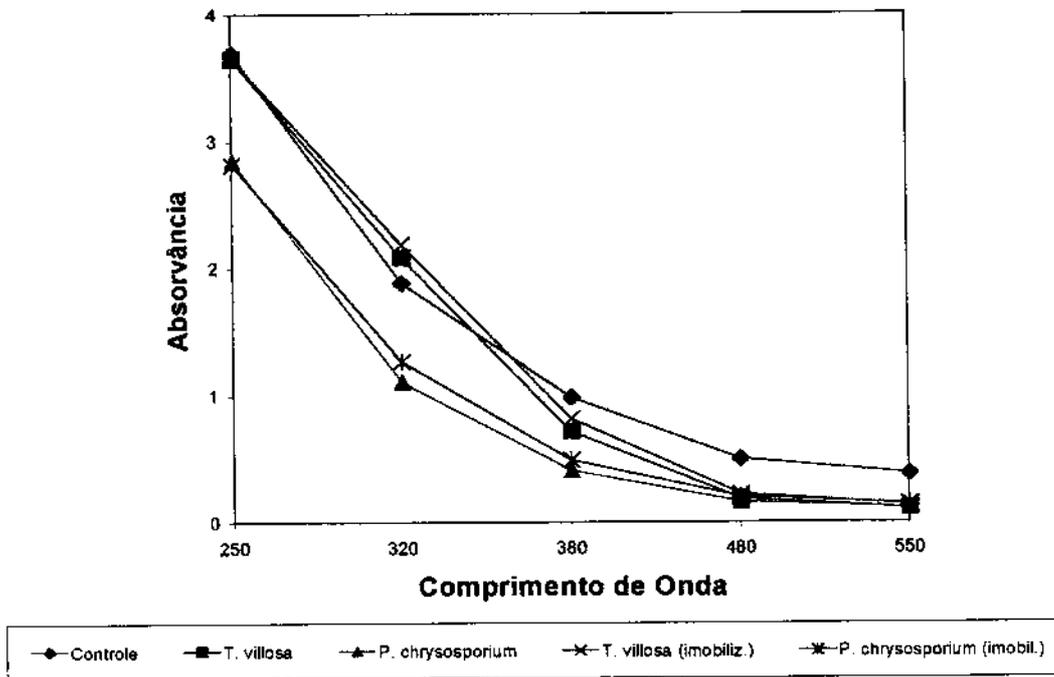


Figura 54. Tratamento biológico do efluente durante 9 dias.

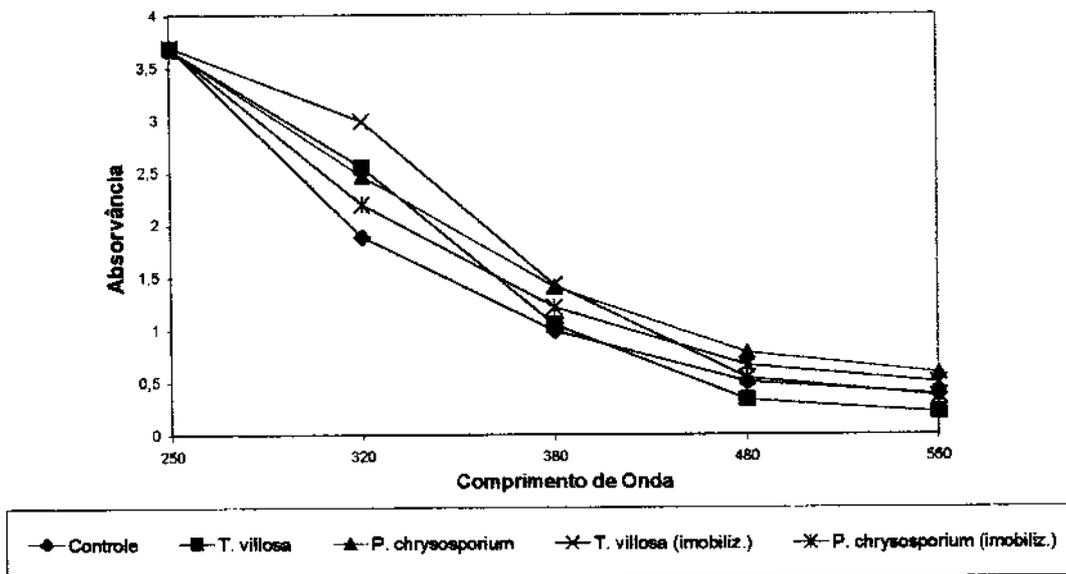


Figura 55. Tratamento biológico do efluente durante 12 dias

Nas Figura 56 e Figura 57, são apresentados os resultados de descoloração obtidos em 9 e 12 dias de tratamento biológico com o fungo *L. edodes*.

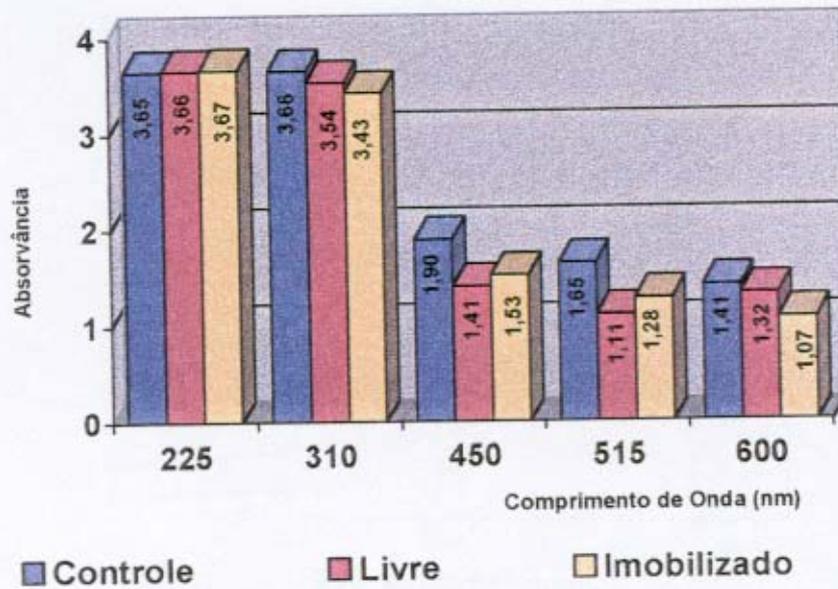


Figura 56. Tratamento biológico do efluente durante 9 dias

Também houve escurecimento do efluente pelo fungo, na forma livre, em 12 dias de tratamento como pode ser observado na Figura 57.

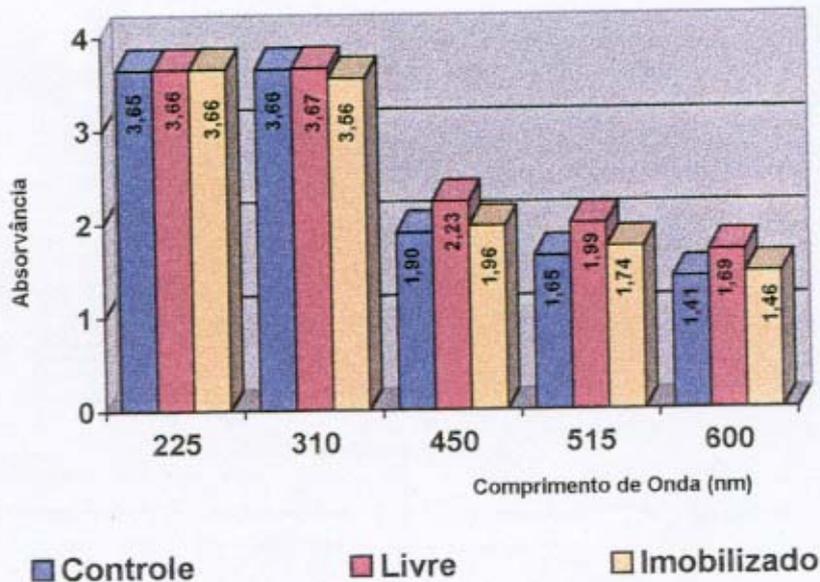


Figura 57. Tratamento biológico do efluente durante 12 dias

Na Figura 58 e Figura 59, encontram-se os resultados obtidos com o fungo *T. versicolor* (forma livre e imobilizada) para 9 e 12 dias de tratamento, respectivamente.

O tratamento biológico com o fungo *T. versicolor* (na forma imobilizada) resultou em 50 % de descoloração, já para o fungo *L. edodes* a descoloração foi menor que 30 %.

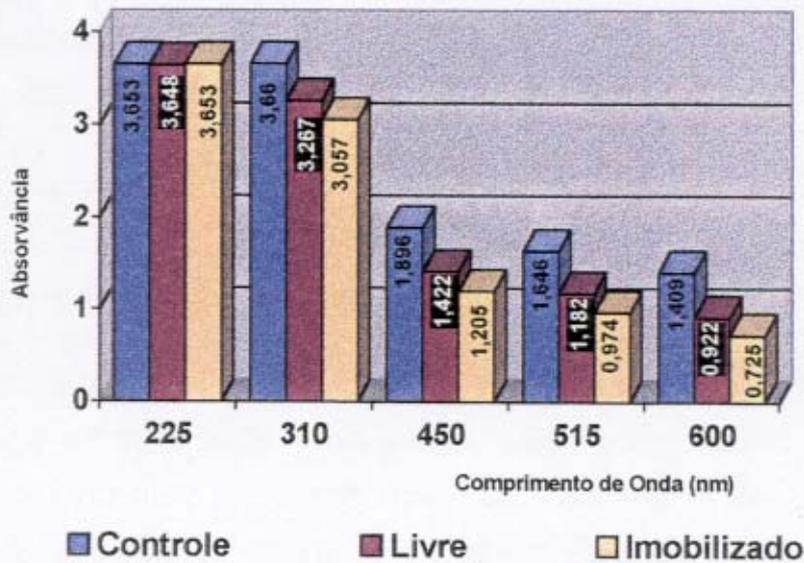


Figura 58. Tratamento biológico do efluente durante 9 dias

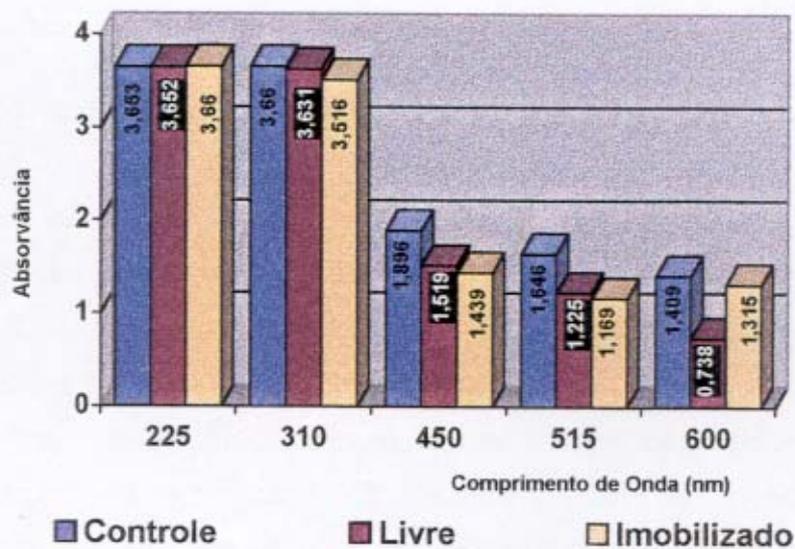


Figura 59. Tratamento biológico do efluente durante 12 dias

Na Tabela 13 são apresentadas as atividades enzimáticas obtidas durante o tratamento.

Tabela 13. Atividades enzimáticas encontradas durante o tratamento biológico

Dias	Lacase U L ⁻¹						Lignina Peroxidase U L ⁻¹	
	<i>T. villosa</i>		<i>L. edodes</i>		<i>T. versicolor</i>		<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	
	L	I	L	I	L	I	Livre	Imobilizado
9	6,9	1,5	0,2	-	1,1	-	11,8	25,4
12	5,5	1,3	1,4	0,6	0,6	0,5	20,4	ND

Nota: L = Livre, I = Imobilizado.

4.13. Biodescoloração de corantes e efluente têxtil com fungos em meio sólido

Neste experimento utilizou-se o meio sólido ágar-batata devido ao meio ágar extrato de malte ser muito escuro. Os corantes e o efluente foram adicionados em diferentes porcentagens. Foram utilizadas placas de mesmo diâmetro. Os resultados de descoloração obtidos neste experimento foram muito satisfatórios. A cinética de descoloração dos fungos para degradar os corantes e o efluente seguiu a seguinte ordem crescente:

$$T. villosa < P. chrysosporium < T. versicolor < L. edodes$$

A Figura 60 apresenta algumas fotos dos fungos utilizados nos testes de descoloração em placas.

Na Figura 61, observa-se que o corante preto reativo 5 foi o mais recalcitrante na descoloração, mas foi observado o crescimento do fungo na placa inteira (foto c). Foi observada total descoloração pelo fungo *L. edodes* dos corantes azul reativo 19 e vermelho reativo 251 em 6 dias de tratamento. O corante amarelo reativo 145 apresentou boa descoloração em 7 dias. Observaram-se atividades enzimáticas para lacase com os fungos *L. edodes*, *T. villosa* e *T. versicolor*, 0,33 ; 21,6 e 34,8 UL⁻¹, respectivamente, após 8 dias de cultivo na presença do corante azul reativo 19. Não foram encontradas atividades para LiP e MnP. A descoloração do efluente têxtil iniciou-se após 12 dias para os fungos *L. edodes* e *T. versicolor*, não sendo observada para os demais fungos. A foto (a) apresenta as placas com os quatro corantes e o início do crescimento do fungo *T. villosa*. Na foto (b) é apresentado o crescimento do fungo *T. versicolor* nas placas com os quatro corantes.

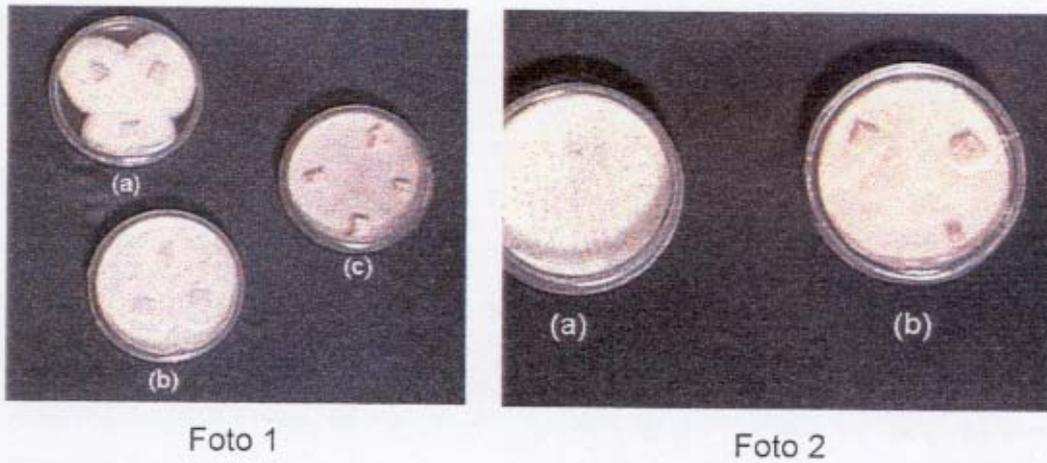


Figura 60. Fotos dos fungos após 8 dias de incubação : Foto 1= (a) *T. versicolor*, (b) *L. edodes*, (c) *T. villosa*. Foto 2 = (a) *P. chrysosporium* e (b) *L. edodes*

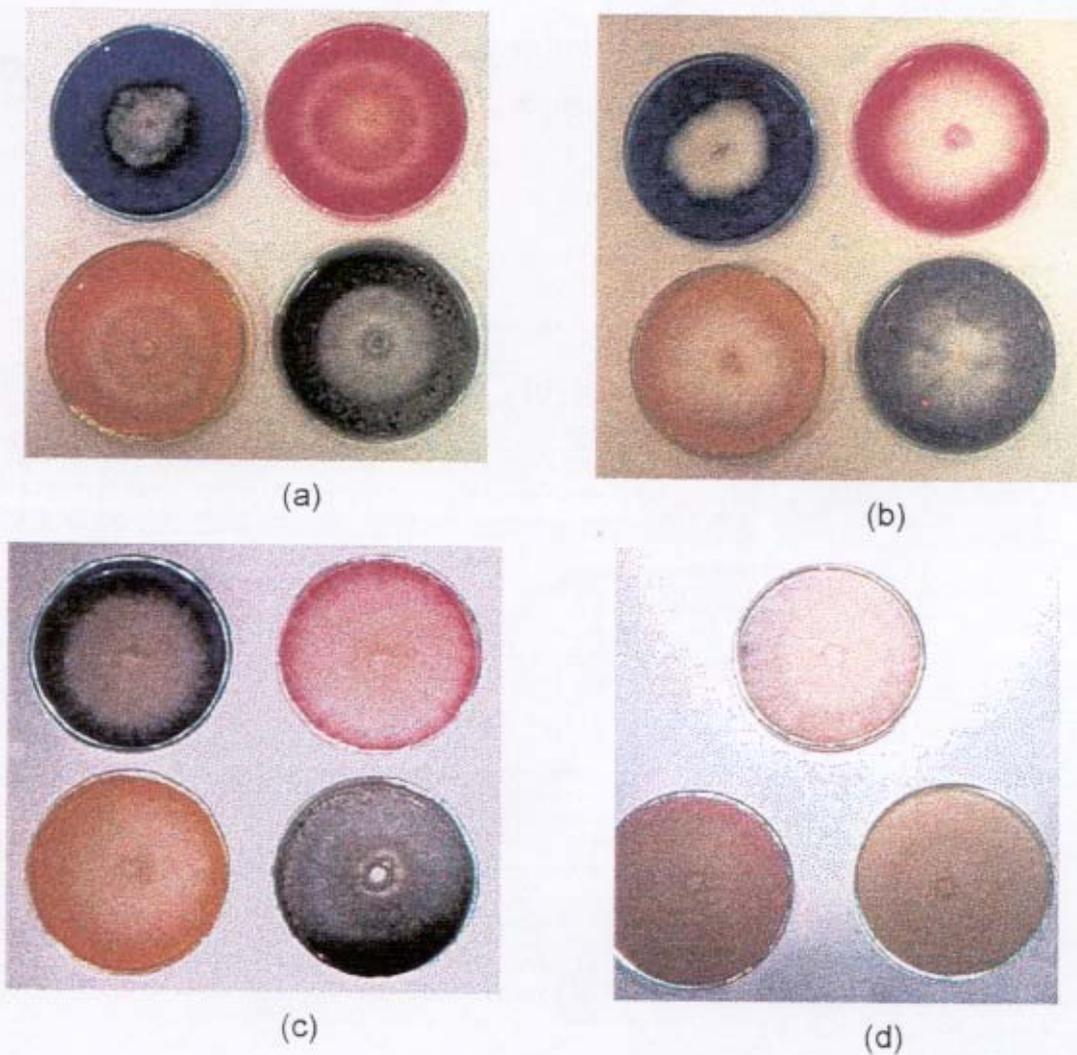


Figura 61. Foto (a) e (b) 3^o dia com os fungos *T. villosa* e *T. versicolor*, Foto (c) 5^o dia com o fungo *L. edodes* e Foto (d) 7^o dia com o fungo *L. edodes*

Na Tabela 14 está, representada a eficiência dos fungos na descoloração de corantes e do efluente.

Pode-se observar, através da Tabela 14, que o corante azul reativo 19 foi o menos recalcitrante para a biodegradação, com os diferentes fungos, que os demais corantes e o efluente. Para este corante, o fungo *L. edodes* foi o mais eficiente, iniciando a descoloração no 3º dia e apresentando total descoloração após 6 dias de tratamento. Todos os fungos foram eficientes para descolorir este corante. Somente o fungo *T. villosa* não foi capaz de descolorir os corantes vermelho reativo 251 e o amarelo reativo 145. Para o corante preto reativo 5, não houve descoloração na presença dos fungos *P. chrysosporium* e *T. villosa*. Para os fungos *T. versicolor* e *L. edodes* foi observada a descoloração deste corante após o 12º dia de tratamento. Apenas os fungos *L. edodes* e *T. versicolor* foram capazes de descolorir o efluente têxtil, mas isto só foi observado no 12º dia, sendo o fungo *L. edodes* o mais eficiente.

Tabela 14. Eficiência dos diferentes fungos utilizados no experimento de descoloração

Corantes	Fungos	Tempo em dias																								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Azul Reativo 19	<i>L. edodes</i>			■	■	■	■	■																		
	<i>T. versicolor</i>		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>T. villosa</i>																									
	<i>P. chrysosp.</i>																									
Verm. Reativo 251	<i>L. edodes</i>																									
	<i>T. versicolor</i>																									
	<i>T. villosa</i>																									
	<i>P. chrysosp.</i>																									
Amarelo Reativo 145	<i>L. edodes</i>																									
	<i>T. versicolor</i>																									
	<i>T. villosa</i>																									
	<i>P. chrysosp.</i>																									
Preto Reativo 5	<i>L. edodes</i>																									
	<i>T. versicolor</i>																									
	<i>T. villosa</i>																									
	<i>P. chrysosp.</i>																									
Efluente Têxtil	<i>L. edodes</i>																									
	<i>T. versicolor</i>																									
	<i>T. villosa</i>																									
	<i>P. chrysosp.</i>																									

Legenda:

■	Halo de até 2,25 cm	■	Halo entre 2,25 – 4,5 cm	■	Halo entre 4,5 – 6,75 cm	■	Halo entre 6,75 – 9,0 cm
---	---------------------	---	--------------------------	---	--------------------------	---	--------------------------

4.14. Tratamento do efluente têxtil com fungos *T. versicolor*, *L. edodes*, *T. villosa*, *Gloeophyllum trabeum*, e com as bactérias *Azotobacter vinelandii* e *Pseudomonas fluorescense*.

Os fungos, bem como as bactérias testadas, apresentaram significativa produção de sideróforos em meio sólido no período de 10 dias, indicada pela formação de um halo alaranjado ao redor do microrganismo incubado. Estes dados são descritos na Tabela 15, onde o número de cruzeiros equivale a área formada pela cor alaranjada.

Tabela 15. Determinação da produção de sideróforos em meio sólido com CAS

Microrganismos	<i>G. trabeum</i>	<i>L. edodes</i>	<i>T. villosa</i>	<i>T. versicolor</i>	<i>P. fluoresc.</i>	<i>A. vinelandii</i>
Produção	+++++	+	++	++++	+++++	++++

Nota: 6 cruzeiros representa uma área de 39,3 mm² e 1 cruz a área de 1 mm².

No período de 25 dias, as placas estavam totalmente alaranjadas.

O fungo *G. trabeum* apresentou maior produção de sideróforo tanto pelo meio sólido como líquido, estes dados estão representados na Tabela 16. O fungo *L. edodes* não mostrou eficiência na produção de sideróforos em meio sólido, mas, no meio líquido, apresentou boa produção. As bactérias apresentaram bons resultados tanto para o meio sólido como líquido.

Tabela 16. Determinação da máxima produção de sideróforos pelo método líquido do Chromo Azurol, utilizando sacarose como fonte de carbono.

Microrganismos	Unidade de CAS (%)
<i>L. edodes</i>	43
<i>T. versicolor</i>	58
<i>T. villosa</i>	21
<i>G. trabeum</i>	76
<i>A. vinelandii</i>	89
<i>P. fluorescense</i>	90

Entre o 14^o e 16^o dias de incubação obteve-se a maior produção de sideróforos para os fungos, com isso, as culturas foram retiradas sempre no 15^o dia. Para as bactérias isto aconteceu em torno do 6^o dia de incubação.

A aplicação destes microrganismos no efluente têxtil, com todas as condições para produção e geração dos radicais hidroxilas pelos sideróforos, apresentou resultados muito significativos de descoloração. Na Tabela 17, estão representados os percentuais de descoloração do efluente têxtil. Nas Figura 62, 63 e 64, são mostradas algumas fotos referente ao experimento de descoloração.

Como pôde ser observado na Tabela 16, o fungo *G. trabeum* (melhor produtor de sideróforos) apresentou maior eficiência na descoloração para o efluente têxtil. O fungo *T. versicolor*, que também mostrou ser um bom produtor de sideróforo apresentou uma descoloração acima de 40 %. *T. villosa* apresentou uma alta descoloração para o efluente têxtil, entretanto sua produção de sideróforos não foi significativa, mas foi determinada uma de lacase (3,9 U L⁻¹P). Para LiP e MnP as quantidades encontradas foram desprezíveis, em torno de 0,025 U L⁻¹. O fungo *L. edodes* apresentou o menor halo em meio sólido, mas em meio líquido, observou-se uma quantidade significativa de sideróforos, apresentando elevada descoloração do efluente (Figura 62).

Tabela 17. Porcentagem de descoloração do efluente têxtil em 4 dias de tratamento

Microrganismos	Descoloração (%)	
	$\lambda_{465 \text{ nm}}$	$\lambda_{480 \text{ nm}}$
<i>G. trabeum</i>	78	95
<i>T. versicolor</i>	47	48
<i>T. villosa</i>	65	89
<i>L. edodes</i>	70	95
<i>A. vinellandi</i>	15	49
<i>P. fluorescence</i>	6	10

Considerou-se também, uma adsorção da cor do efluente no micélio, esta adsorção variou de 5-10 %. Os fungos que adsorveram cor foram o *L. edodes*, *T.*

versicolor e *T. villosa*. O efluente têxtil foi inicialmente adsorvido no micélio e subsquentemente descolorido, após o 3º dia.

Em 1999 Zheng e col. obtiveram resultados similares quando trataram corantes poliméricos com o fungo *Penicillium* (ATCC 74414). Inicialmente houve adsorção no micélio, para subseqüentemente descoloração.

Na Tabela 18, são apresentados os resultados de descoloração e a atividade enzimática após 7 dias de tratamento.

Segundo Rodríguez e col. (1997), tem sido enfatizado que a produção de siderófos por microrganismos é inibida pelo ferro. Entretanto eles encontraram que para os fungos de decomposição branca, há uma concentração de ferro estabelecida, que coincide com a produção máxima de siderófos.

Nos experimentos em que foi utilizado o ferro (Figura 62 e 63), observa-se que durante o tratamento houve a descoloração do efluente, não sendo inibida a produção de siderófos pelo metal. Os dados obtidos neste experimento, concordam com os resultados encontrado por Rodríguez e col. (1997).

Observou-se para os demais organismos um aumento nos valores de absorvância, isto é, um escurecimento da solução.

Tabela 18. Porcentagem de descoloração do efluente têxtil em 7 dias de tratamento

Fungos	%		Lacase (U L ⁻¹)
	λ_{450}	λ_{515}	
L. edodes	87	92	2,5
G. trabeum	88	93	ND [#]
T. versicolor	80	93	3,0

Nota: ND = Não Detectado

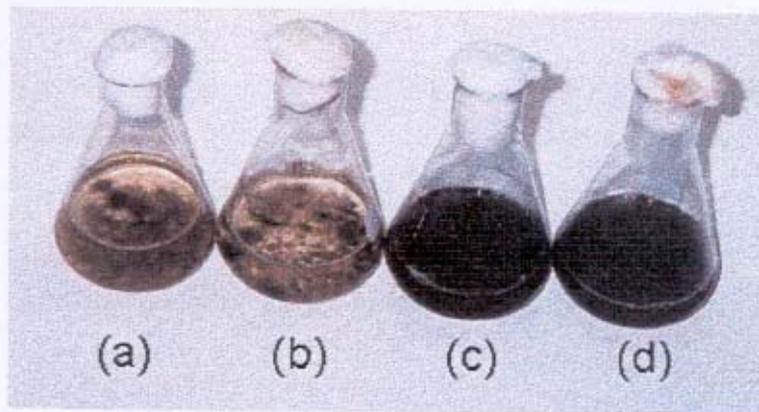


Figura 62. Foto do experimento (4 dias) com *L. edodes*: (a) com ferro, (b) sem ferro, (c) adsorção e (d) controle (sem fungo).

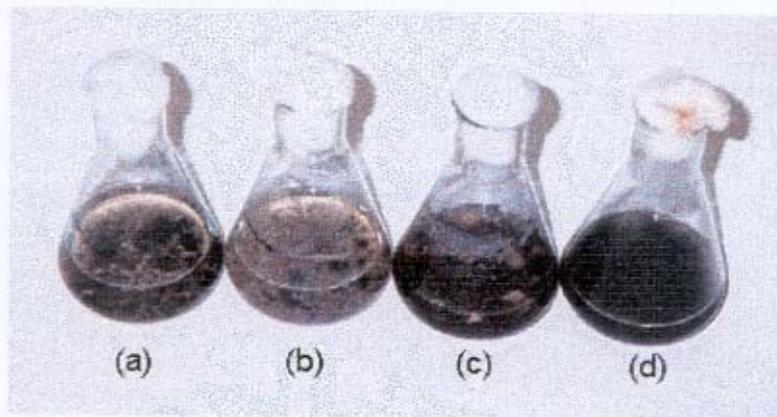


Figura 63. Foto do experimento (4 dias) com *T. versicolor*: (a) com ferro, (b) sem ferro, (c) adsorção e (d) controle (sem fungo).

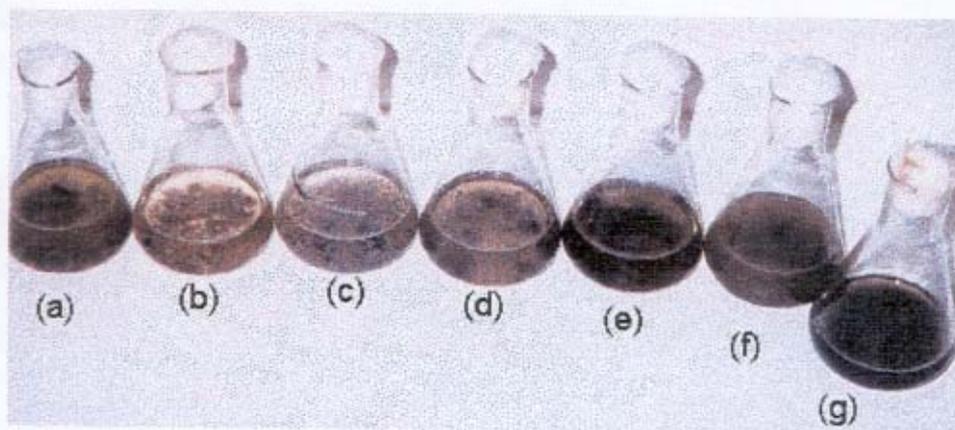


Figura 64. Foto do experimento de descoloração por sideróforos com os fungos (a) *Gloeophyllum trabeum*, (b) *L. edodes*, (c) *T. versicolor*, (d) *T. villosa*, (e) *Azotobacter vinelandi*, (f) *Pseudomonas fluorescence* e (g) controle. Tempo de tratamento = 4 dias.

4.15. Tratamento Fotocatalítico combinado com Biológico

Utilizando-se o pré tratamento fotocatalítico obteve-se resultados bastantes promissores na descoloração do efluente têxtil. Os melhores resultados são apresentados na Tabela 19, em valores percentuais de descoloração. A adsorção da cor no Nylon variou de 5-10 %.

Tabela 19. Porcentagem de descoloração do efluente.

Fungos	Imobilizado		Livre	
	TiO ₂	ZnO	TiO ₂	ZnO
<i>T. villosa</i> (4 ^o dia)	41	52	25	44
<i>T. versicolor</i> (4 ^o dia)	42	27	32	38
<i>L. edodes</i> (4 ^o dia)	46	12	68	26
<i>T. villosa</i> (7 ^o dia)	59	78	63	74
<i>P. chrysosporium</i> (7 ^o dia)	62	69	46	62

Os resultados encontrados quando utilizou-se o catalisador ZnO durante o pré tratamento, foram muito similares tanto com o fungo livre como com o imobilizado no Nylon. Utilizando-se o catalisador TiO₂, foi observado que a eficiência no tratamento varia se o fungo estiver na forma livre ou na forma imobilizada, como por exemplo, os fungos *T. villosa* e *L. edodes*, que são mais eficientes quando encontram-se na forma livre.

4.16. Tratamento Combinado Foto-Ozônio

Os resultados obtidos após 60 minutos de tratamento combinado foto-ozônio do efluente têxtil são apresentados na Tabela 20. Observa-se uma redução de COT pouco eficiente, mas a descoloração chegou a 97 %. O pH teve um decaimento de 3,3 unidades. O consumo de O₃ em 60 minutos foi de 64,6 mgL⁻¹.

Tabela 20. Comparação entre os tratamentos Foto-Ozônio e Ozônio

Tratamentos	COT_{CCO}	Descoloração
Foto-Ozônio	0,86	97 %
Ozônio	0,97	90 %

Nas Figuras 65 e 66 são apresentados os resultados de descoloração e decaimento de carbono orgânico total, respectivamente. Na Figura 65, o tratamento combinado foto-ozônio e a fotocatalise demonstraram ser eficientes na descoloração do efluente comparado com os outros tratamentos. Os mesmos resultados podem ser avaliados com relação a determinação de COT, na Figura 66. Observa-se no entanto, que o tratamento combinado foto-ozônio pode ser mais adequado com relação a eficiência destes tratamentos na descoloração e na redução de COT.

Nos testes de toxicidade utilizando a bactéria *E. coli*, a inibição inicial do efluente de 48 %, foi reduzida a 27 % após o tratamento combinado foto-ozônio. O tratamento com ozônio apresentou uma inibição de 33 %. Com o tratamento combinado, a toxicidade diminuiu mais do que empregando os tratamentos isolados. Estes dados estão representados na Figura 67. No teste de toxicidade com algas, a porcentagem de inibição média foi de 31,6 % para o combinado e de 36,7 % (valor próximo ao efluente sem tratamento) para o tratamento isolado.

Pode-se afirmar que a combinação de processos mostrou ser eficiente na redução de cor, COT e toxicidade, pois cada processo isolado apresenta atributos específicos que quando combinados podem ser mais efetivos no conjunto do tratamento.

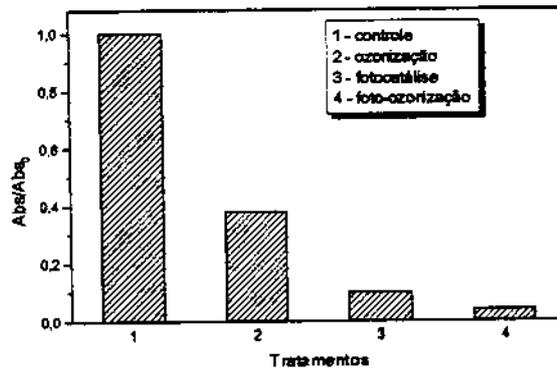


Figura 65. Redução dos valores de absorvância para os diferentes tratamentos

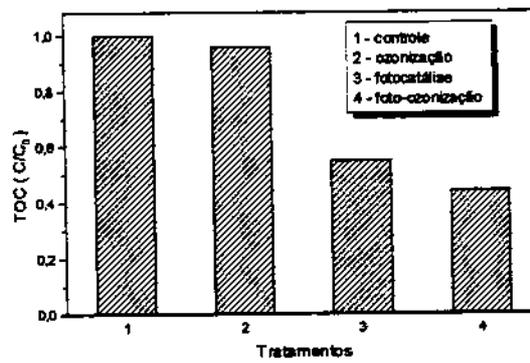


Figura 66. Redução dos valores de COT para os diferentes tratamentos

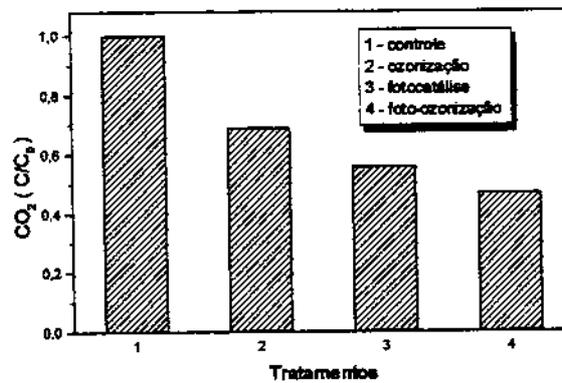


Figura 67. Redução da toxicidade para os diferentes tratamentos

4.17. Tratamento Foto-Ozônio Combinado com Biológico

Após 15 min de pré-tratamento utilizando fotocatalise simultaneamente com ozônio, ajustou-se o pH das amostras do efluente tratada e deixou-se em repouso por 1 hora, após este tempo, inoculou-se os fungos (1/2 placa). Observou-se no segundo dia de tratamento biológico, uma leve turvação do efluente, provavelmente devido a contaminação com bactérias, indicando que os fungos não se desenvolveram. Uma outra tentativa foi feita, após concluir o pré-tratamento, inoculando uma quantidade maior de fungos (1 placa inteira foi raspada para dentro do Erlenmeyer), no terceiro dia observou-se o crescimento dos fungos.

Após o 5º dia de tratamento, o fungo *T. versicolor* apresentou uma descoloração acima de 60 %, enquanto que os fungos *L. edodes* e *T. villosa* iniciaram a descoloração após 7 dias, atingindo 80 e 87% de descoloração, respectivamente. O fungo *T. versicolor* apresentou uma descoloração de 73% para 7 dias de tratamento. O fungo *P. chrysosporium* não foi utilizado neste experimento devido à necessidade de indução adicionando agentes externos para produção das enzimas, utilizou-se então, fungos que dispensassem a etapa de indução.

A técnica de Cromatografia de Permeação em Gel foi empregada para obter melhor resolução das amostras e verificar a distribuição da massa molar após o tratamento. Esta técnica apresentou melhor resultado na obtenção e separação dos compostos presentes no efluente, antes e após os diferentes tratamentos. Para a curva de calibração, foram utilizados compostos com massa molecular variando de 12.400 Da até 58 Da, são eles: Citocromo C (12.400) tempo de retenção de 5,9 min, Aprotinina (6.500) tempo de retenção de 6,3 min, Tanino (2.600) tempo de retenção de 7,9 min e Acetona (58) tempo de retenção de 11,03 min.

Foram feitas análises de CPG nos efluentes submetidos aos tratamentos fotocatalítico, foto-ozônio, foto-ozônio-biológico. Na Figura 68, está representado o cromatograma obtido para o controle (efluente têxtil sem tratamento) e, na Figura 69, encontra-se a distribuição da massa molar.



Figura 68. Cromatograma do efluente têxtil antes do tratamento, tempo de retenção da amostra 20 min.

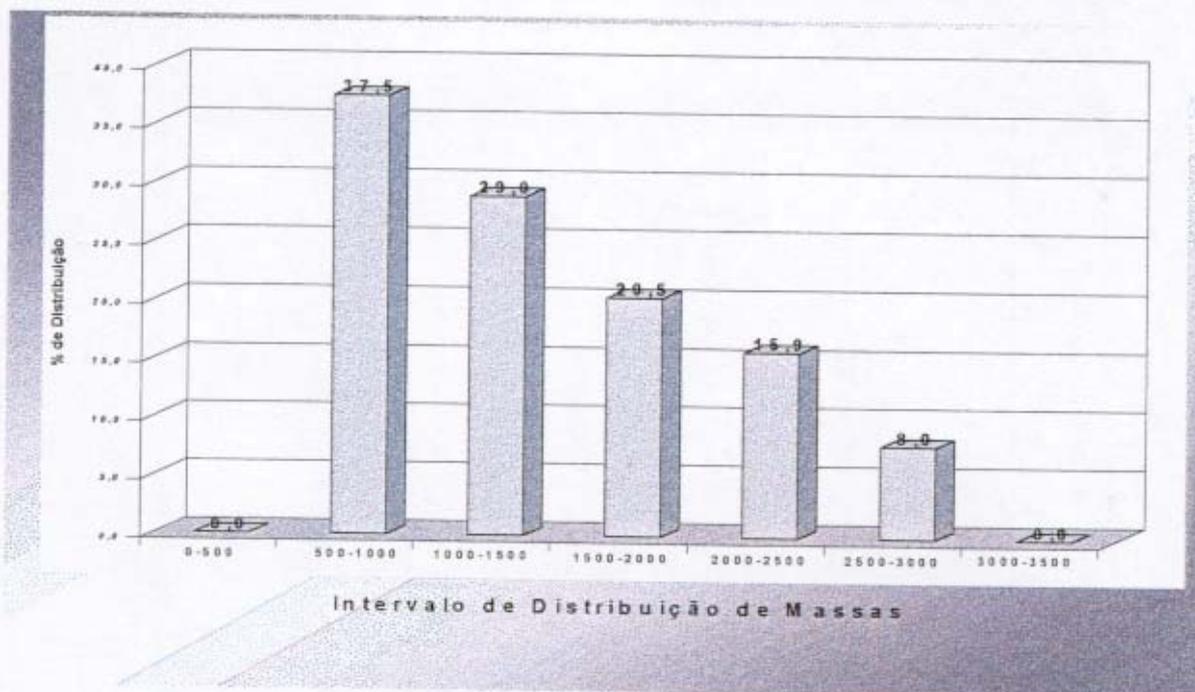


Figura 69. Distribuição de massa molar do efluente têxtil antes do tratamento

Observa-se na Figura 70, que após 40 minutos do tratamento combinado Foto-ozônio, houve alteração na distribuição dos picos, alterando a intensidade. Na Figura 71, é apresentada a distribuição de massa molar, podendo ser observado um número maior de compostos com menor massa molar, mostrando que o processo combinado foi eficiente na degradação do efluente.

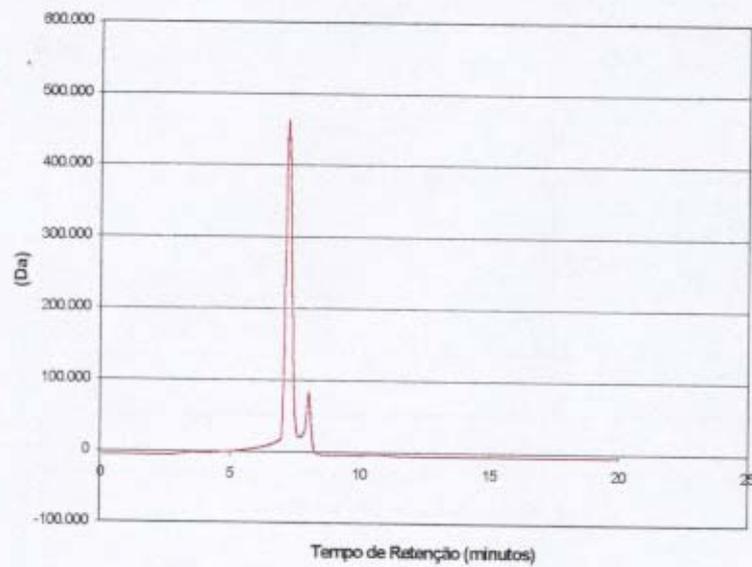


Figura 70. Cromatograma do efluente têxtil após tratamento combinado Foto-ozônio, tempo de retenção da amostra 20 min.

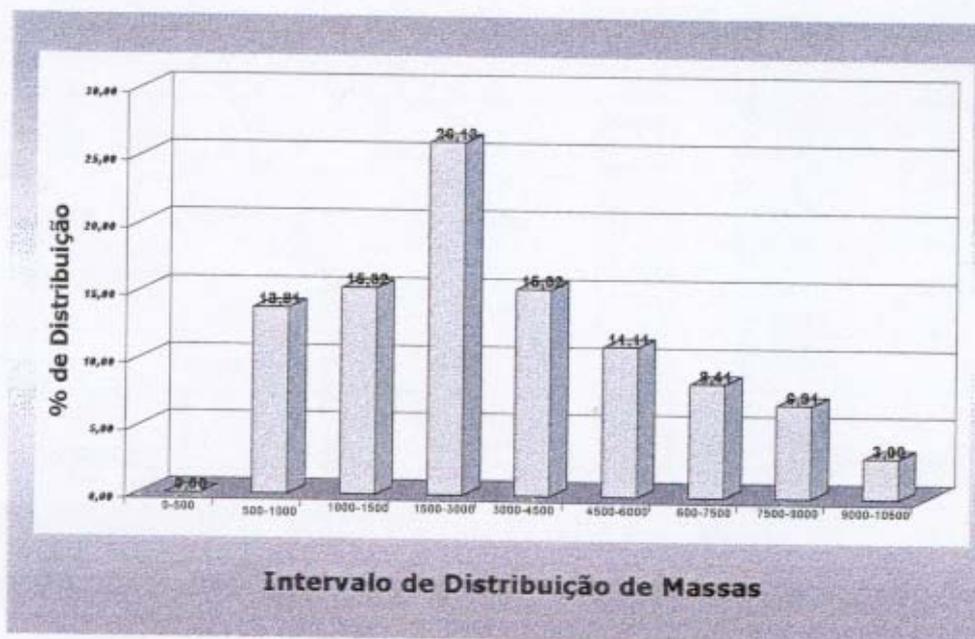


Figura 71. Distribuição de massa molar do efluente têxtil após o tratamento combinado Foto-ozônio

Na Figura 72, está representado o cromatograma do efluente têxtil após 60 minutos de tratamento combinado Foto-ozônio. Também observam-se algumas alterações dos picos. A fragmentação da massa molar sofre algumas mudanças, como por exemplo, o aumento de compostos com massa molar entre 0 e 2000 Da, e a diminuição de compostos de mais alta massa molar (Figura 73).

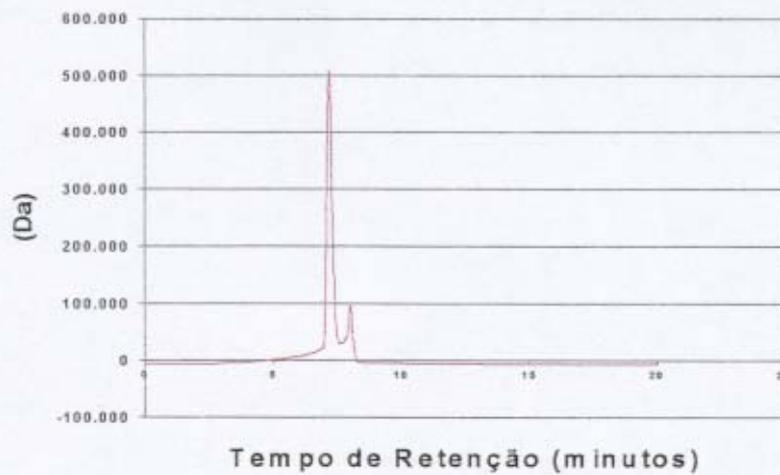


Figura 72. Cromatograma do efluente têxtil após tratamento combinado Foto-ozônio, tempo de retenção da amostra 20 min.

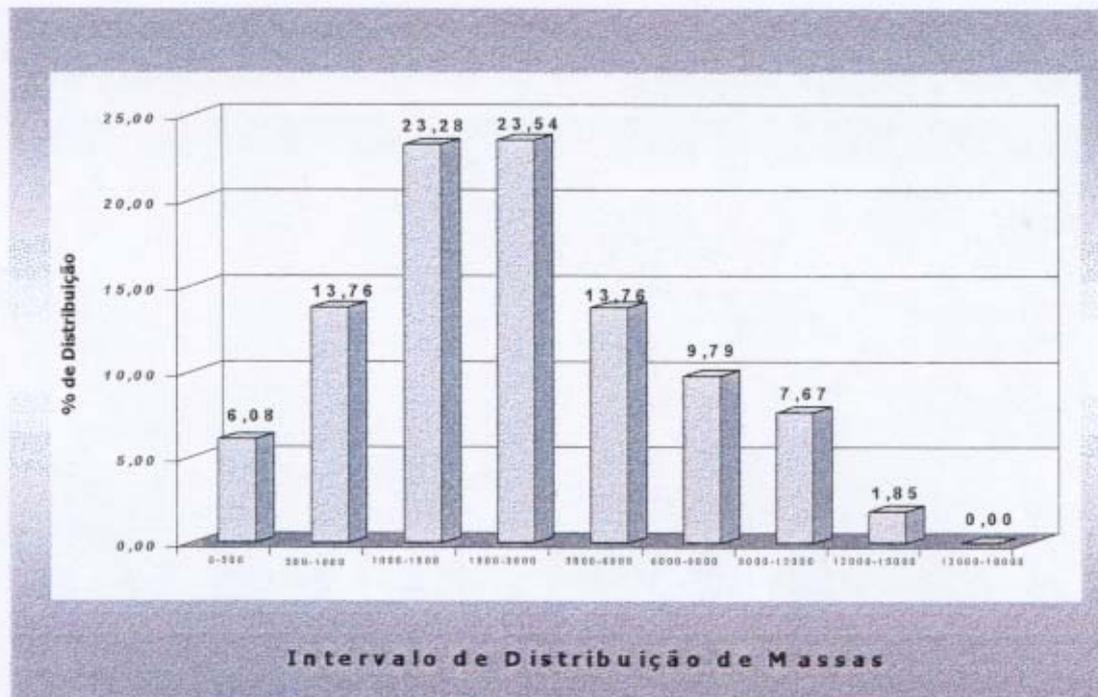


Figura 73. Distribuição de massa molar do efluente têxtil após tratamento combinado Foto-ozônio

Na Figura 74, são apresentados os resultados da análise por CPG para o tratamento do efluente pelo processo fotocatalítico, num tempo de 2 horas. A seguir, na Figura 75, está representada a distribuição de massa molar após o tratamento. Comparando com a Figura 69 (efluente sem tratamento), observa-se uma diminuição da intensidade dos picos. Há alterações na distribuição da massa molar, como a

diminuição de compostos com massa molar entre 500 a 1500 Da, e um aumento de compostos com massa molar entre 1500 a 6000 Da.



Figura 74. Cromatograma do efluente têxtil após tratamento fotocatalítico

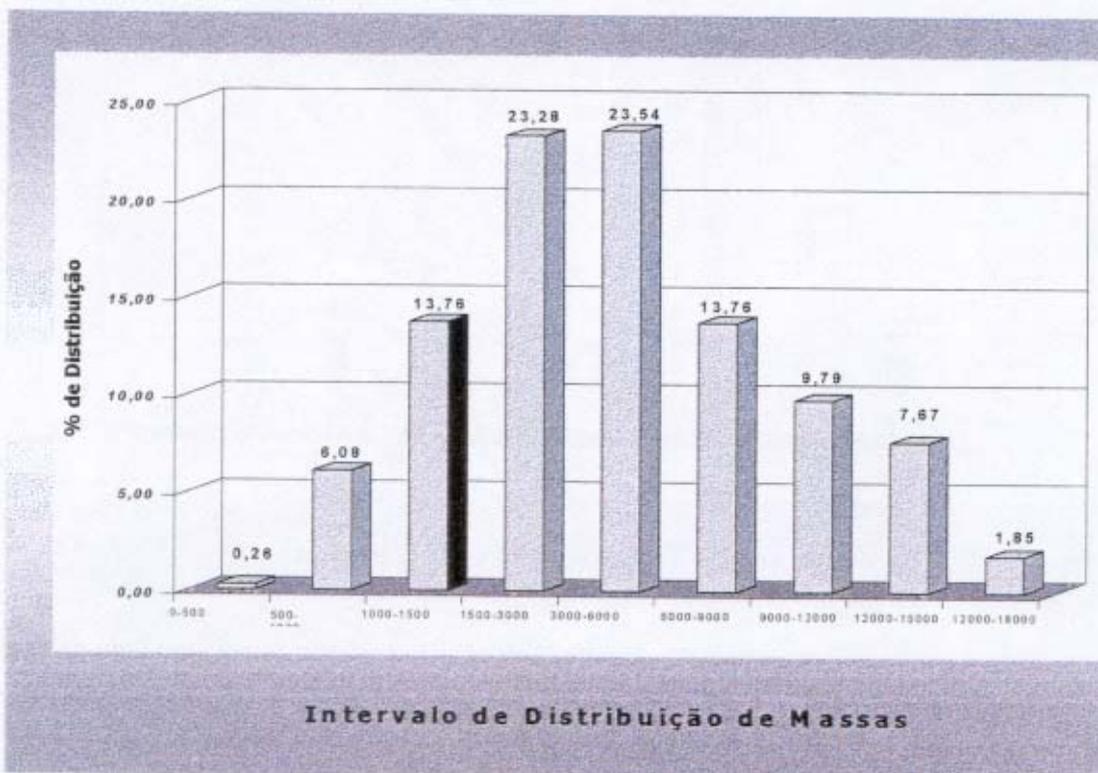


Figura 75. Distribuição de massa molar do efluente têxtil após tratamento fotocatalítico

Após 4 horas de tratamento fotocatalítico, observou-se uma acentuada diminuição dos picos, como pode ser visto na Figura 76, onde está representado o

cromatograma. Observa-se também um aumento de compostos com massa molar entre 1000 a 1500 Da e uma diminuição de alguns compostos com massa molar entre 3000 a 6000 Da (Figura 77).



Figura 76. Cromatograma do efluente têxtil após tratamento fotocatalítico

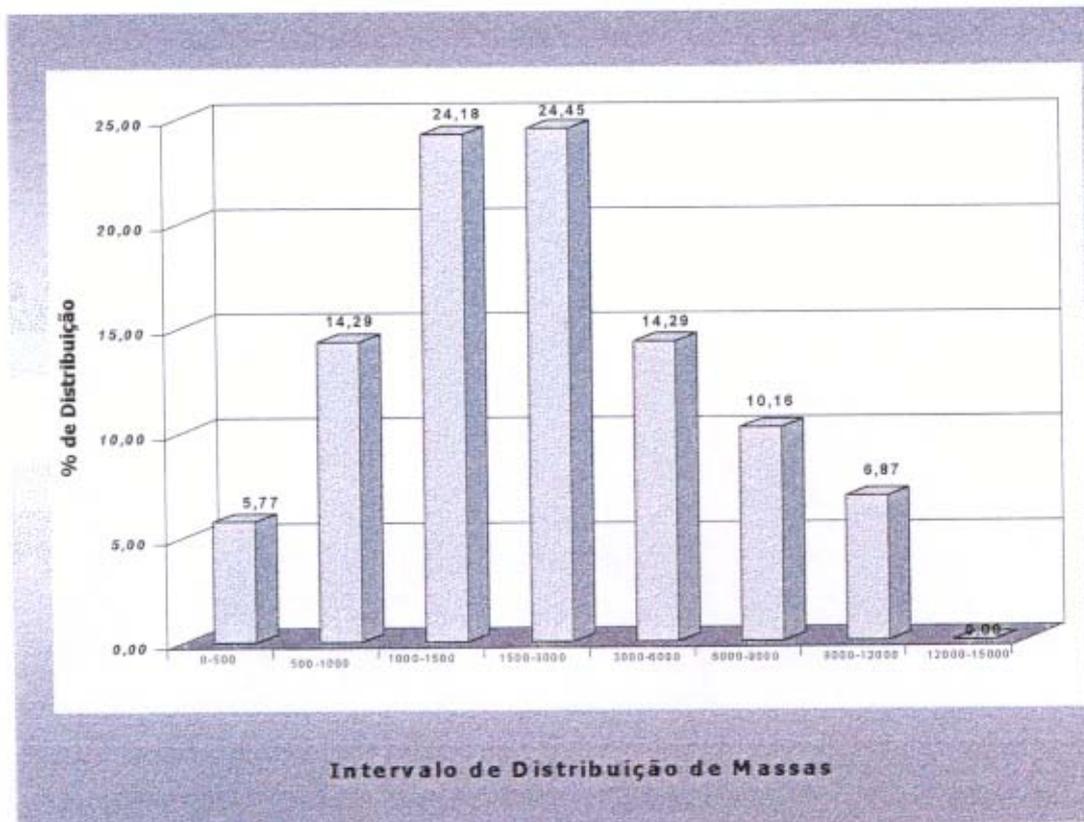


Figura 77. Distribuição de massa molar do efluente têxtil após tratamento fotocatalítico

Na Figura 78, é apresentado o cromatograma do efluente após tratamento combinado foto-ozônio-biológico utilizando o fungo *L. edodes* e o semicondutor TiO_2 . Neste experimento não foi utilizado o Nylon para a imobilização do fungo.



Figura 78. Cromatograma do efluente têxtil após tratamento foto-ozônio-biológico

Na Figura 79, apresenta-se a distribuição de massa molar após o tratamento combinado. Observa-se um aumento de massa molar entre 1500 a 4500 Da.

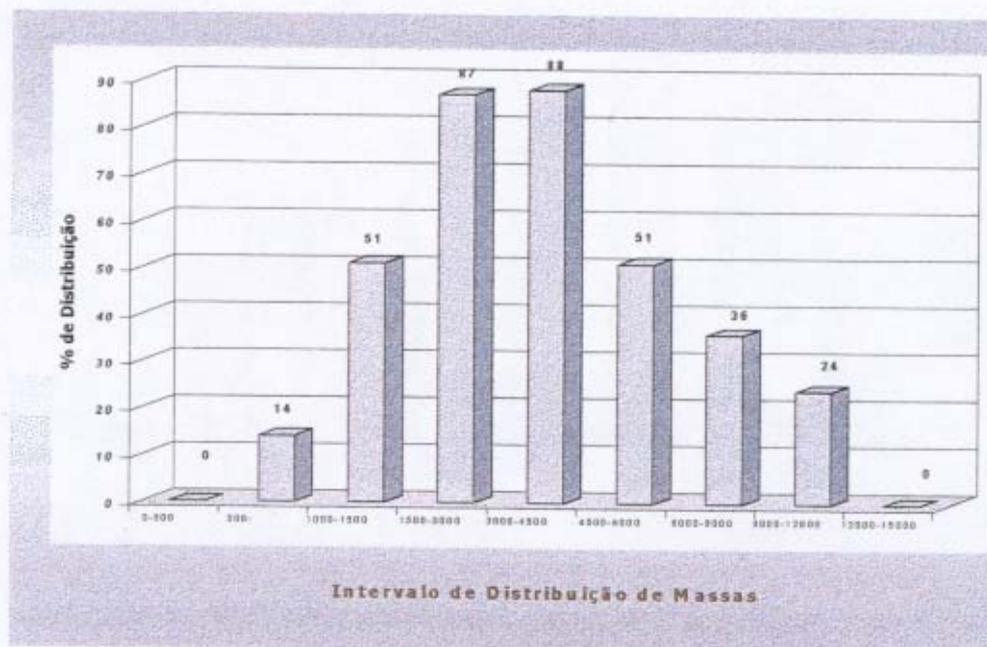


Figura 79. Distribuição de massa molar do efluente têxtil após tratamento foto-ozônio-biológico

Utilizando um tempo maior de pré – tratamento foto-ozônio (tempo de 25 minutos e não mais de 15 minutos) algumas alterações foram observadas. Na Figura 80, está representado o cromatograma após o tratamento combinado. Como pode ser observado na Figura 81, um aumento do tempo de pré – tratamento levou à redução do percentual da massa molar. Aumentando o tempo de pré – tratamento, aumentou a biodegradabilidade do efluente, tornando mais eficiente o tratamento biológico.



Figura 80. Cromatograma do efluente têxtil após tratamento foto-ozônio-biológico

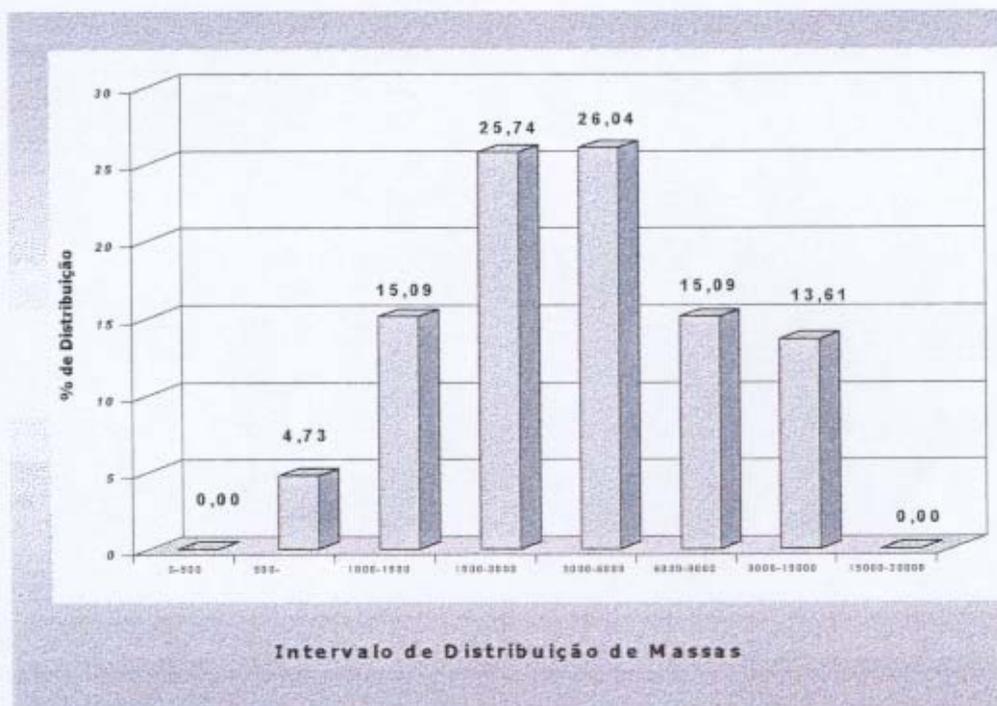


Figura 81. Distribuição da massa molar do efluente têxtil após tratamento foto-ozônio-biológico

5. CONCLUSÕES

Nos estudos de fotodegradação do efluente têxtil e dos corantes na presença de TiO_2 e ZnO , foi observada uma progressiva descoloração. Este processo foi acompanhado por uma considerável redução da concentração de carbono orgânico total (em alguns casos maior que 50 %).

Nos ensaios de toxicidade do efluente utilizando *E. coli* como organismo teste, pode-se observar também uma redução da toxicidade (aproximadamente 50%) em função do tempo de fotodegradação (utilizando TiO_2 ou ZnO como catalisador). Nos testes utilizando a alga de água doce *S. subspicatus*, obtiveram-se resultados semelhantes àqueles do ensaio com a bactéria. Estes testes de toxicidade também mostraram que durante o tratamento, espécies intermediárias mais tóxicas que o composto de partida podem ser formadas.

As análises de Carbono Orgânico Total (COT) são de grande importância, pois, através desta análise, pode-se verificar se houve mineralização ou não dos compostos presentes no efluente e corantes, uma vez que a descoloração chegou a valores próximos a 100%. Sabe-se pelos resultados obtidos que os valores de COT não foram correspondentes.

Com a otimização das condições para separação dos corantes através da CLAE foi possível confirmar a eficiência dos tratamentos e a formação de espécies intermediárias através do aparecimento de novos picos em diferentes tempos de retenção.

Os experimentos envolvendo a utilização das enzimas (imobilizadas na resina Amberlite IRA-400) Lignina Peroxidase e Manganês Peroxidase produzidas pelo fungo *P. chrysosporium* para tratamento de efluentes apresentaram baixa descoloração (25%). Utilizando a enzima livre, houve descoloração de todos os corantes testados e também do efluente. A velocidade de descoloração foi variável para cada corante, devido a diferenças estruturais.

Os resultados obtidos durante a descoloração de corantes e efluentes por diferentes fungos, em meio sólido, mostra que alguns fungos apresentam maior capacidade de degradação que outros.

No tratamento do efluente com fungos, pode-se observar que os melhores resultados de clareamento foram obtidos com *L. edodes*, *T. versicolor* e *Gloeophyllum trabeum*. Também foram muito bons os resultados utilizando a enzima lacase livre. Quanto à imobilização da enzima lacase, os resultados não foram satisfatórios para a descoloração do efluente têxtil. A produção de sideróforos e sua aplicação no tratamento do efluente apresentou bons resultados, tornando-se assim uma alternativa de tratamento.

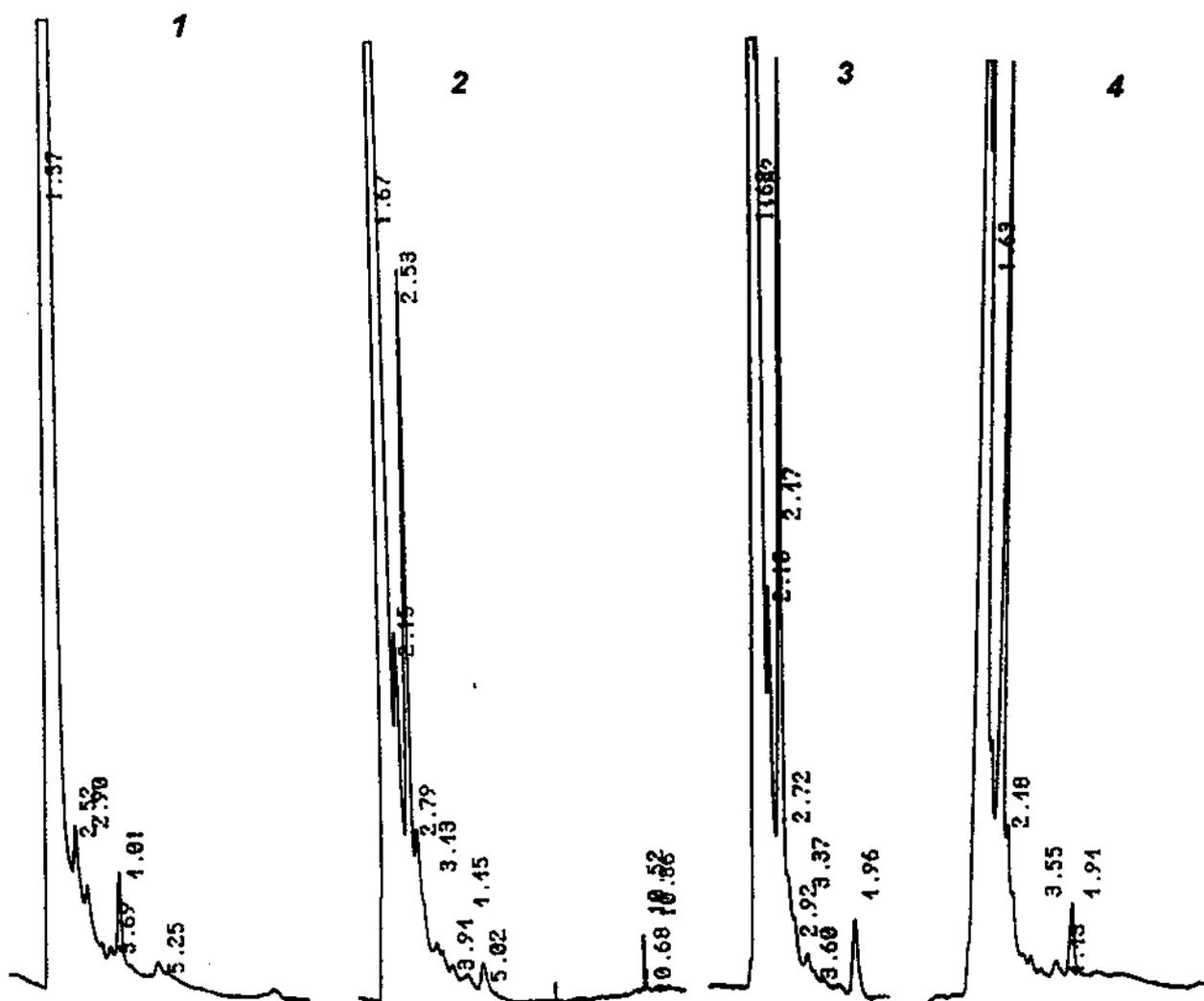
A combinação dos tratamentos – Fotocatálise e Biológico – foi eficiente, mas a combinação foto-ozônio-bio inicialmente não apresentou bons resultados. Após otimizar as condições, os resultados foram satisfatórios.

As análises por CPG, mostram que utilizando processos combinados, aumenta consideravelmente a biodegradabilidade e/ou degradabilidade do efluente.

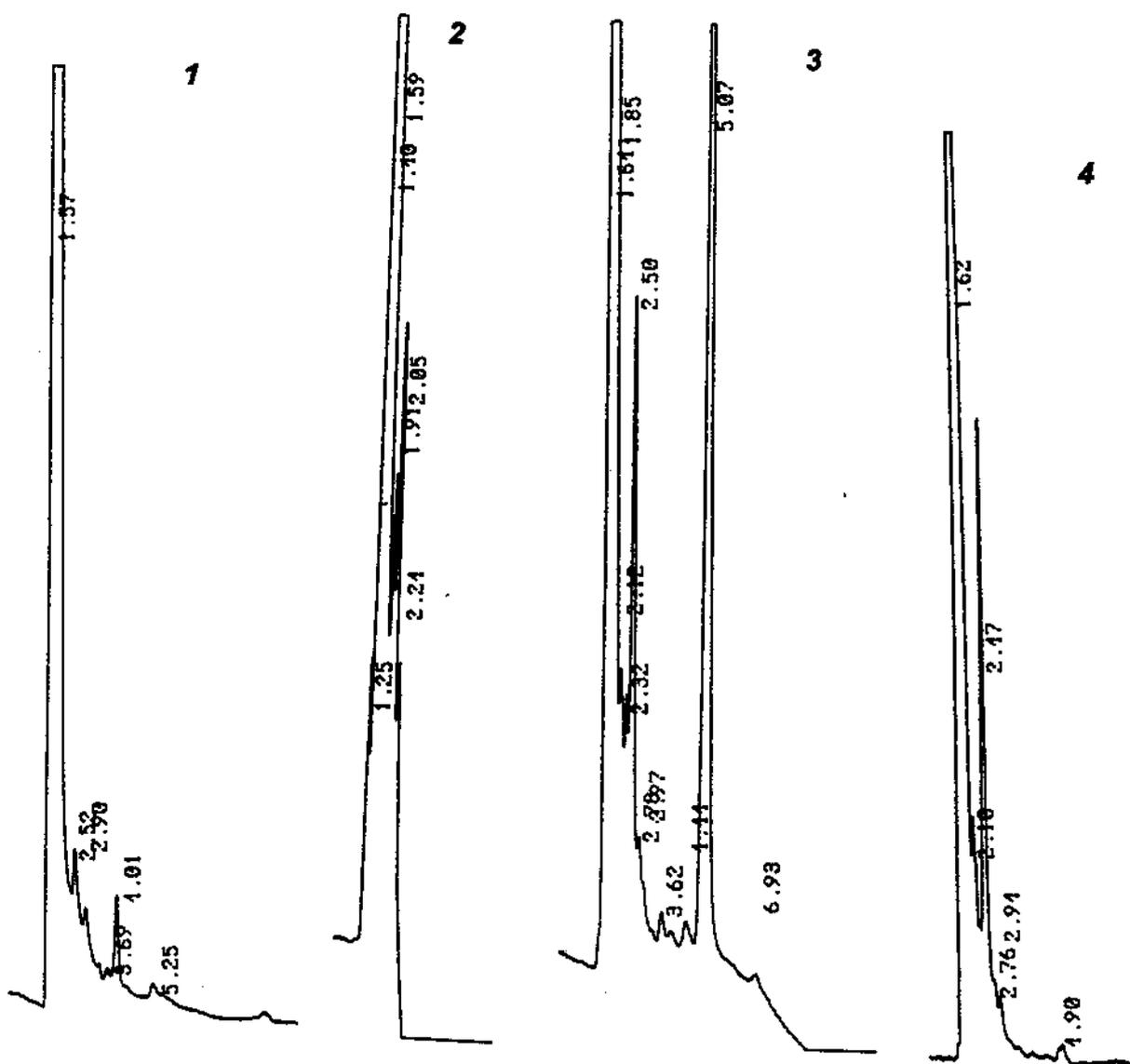
A utilização de processos combinados torna-se cada vez mais viável no tratamento de efluentes. Muitas vezes um processo aplicado isoladamente, mesmo sendo um processo eficiente, não é economicamente viável.

6. ANEXOS

6.1. Anexo I Cromatogramas do corante preto reativo 5



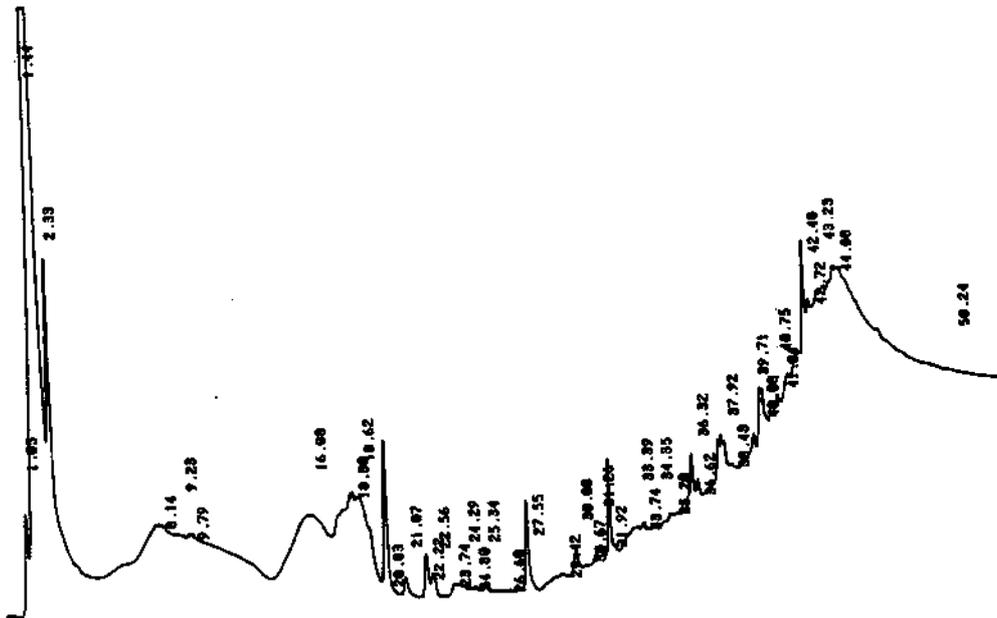
Cromatogramas do corante preto reativo 5 após tratamento fotocatalítico utilizando TiO₂
 (1) = branco, (2) = 2 h, (3) = 4 h e (4) = 6 h



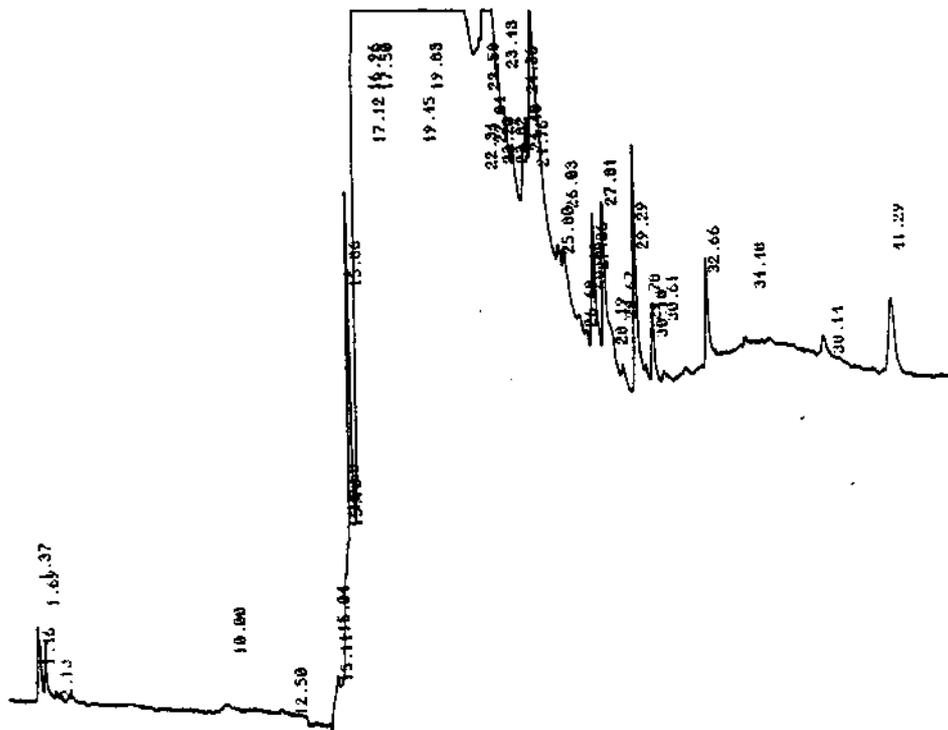
Cromatogramas do corante preto reativo 5 após tratamento fotocatalítico utilizando ZnO
 (1) = branco, (2) = 2 h, (3) = 4 h e (4) = 6 h

6.2. Anexo II

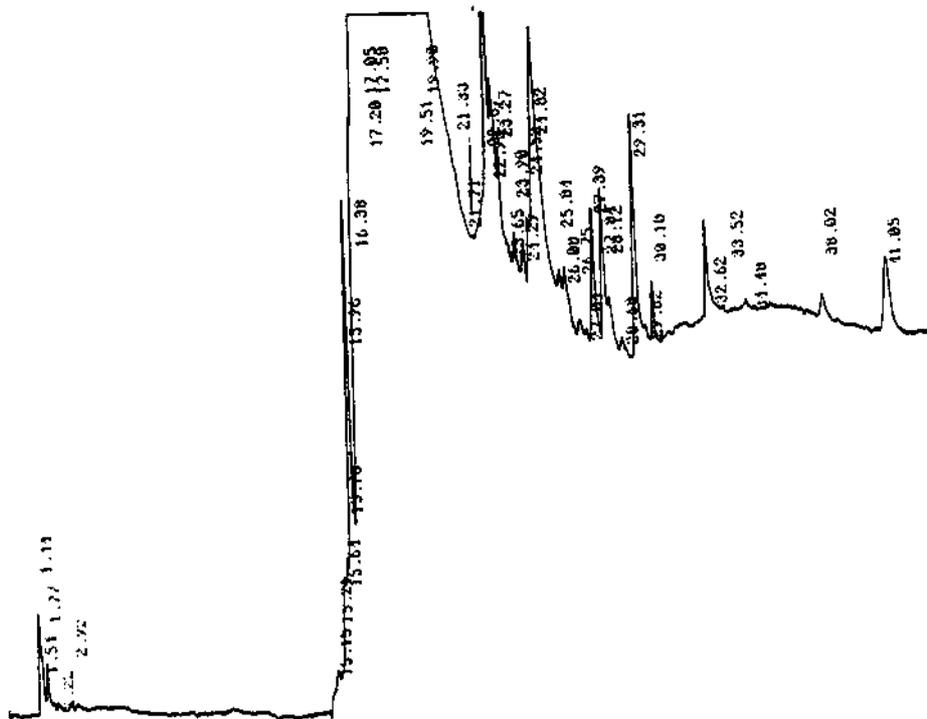
Cromatogramas obtidos pelo sistema de gradiente. Corantes Vermelho reativo 251, Amarelo reativo 145, Preto reativo 5 e Azul reativo 19.



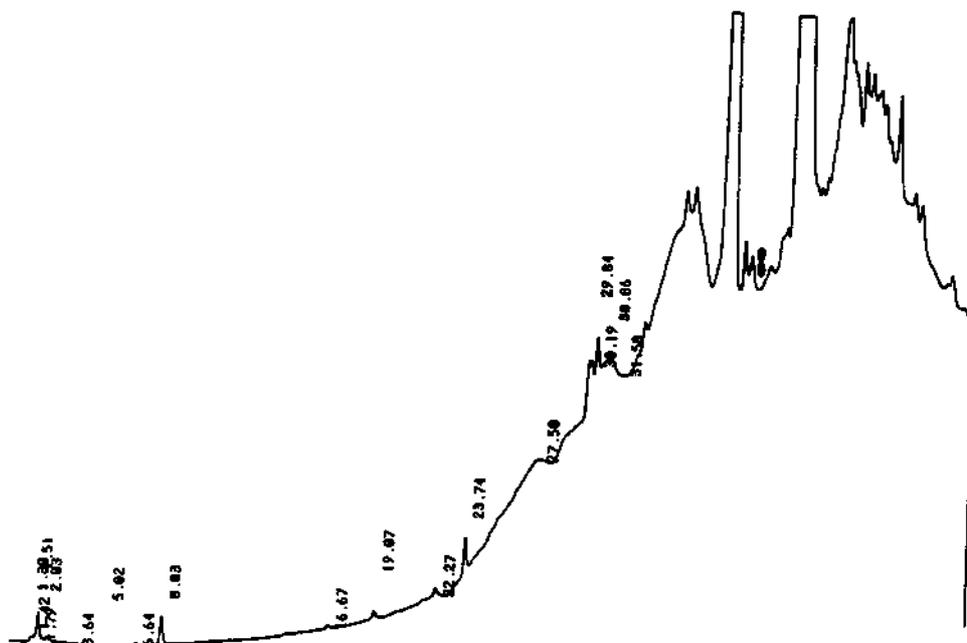
Cromatograma do corante vermelho reativo 251 – controle (amostra sem tratamento)



Cromatograma do corante amarelo reativo 145 – controle (amostra sem tratamento)



Cromatograma do corante preto reativo 5 – controle (amostra sem tratamento)



7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altinkas, H., Dökmeci, S. e Baristiran, (1995). *Environ. Technol.* 16 : 389-394.
- Ander, P. e Mazullo, L. (1997). *J. Biotechnol.* 53 : 115-131.
- Antunes, R. E., Peralta-Zamora, P., Groto, R., Durán, N. e Esposito, E. (1997). Anais da 1ª Reunião Nacional de Microbiologia Aplicada ao Meio Ambiente (Esposito, E., Ed.) 1 : 201-205.
- APHA (1989). Standart Methods for examination of water and wastewater, 17 ed. New York, Amer. Publ. Health Ass. N°5250B p. 5.68-5.69.
- Assami, M., Suzuki, N. e Nakanishi, J. (1996). *Wat. Sci. Technol.* 33 : 121-128.
- Atlow, S. C., Bonadonna- A. L. e Klibanov, A. M. (1984). *Biotechnol. Bioengin.* 26 : 599-603.
- Azmi, W., Sani, R. K. e Banerjee, U. C. (1998). *Enzyme Microbiol. Technol.* 22 : 185-191.
- Balan, D. S. e Monteiro, R. T. R., (1996). *Em anais do Workshop sobre Biodegradação , EMBRAPA, Campinas-SP, Outubro (14-16),* pg. 232.
- Barr, D. P. e Aust, S. D., (1994). *Environ. Sci. Technol.* 28 : 79-81.
- Bertoletti, E. (1990). *Ciência e Cultura* 42 : 271-277.
- Beydilli, M. I., Pavlostathis, S. G. e Tincher, W. C. (1998). *Wat. Sci. Technol.* 38 : 255-232.
- Blum, D. J. W. e Speece, R. E. (1991). *Environ. Sci. Technol.* 24 : 284-293.
- Brown, M. A., e DeVito, S. C., (1993). *CR Environ. Sci. Technol.* 23 : 249-324.
- Brillas, E., Mur, E. Sanleda, R. Sánchez, L., Peral, J. Domènech, X. E Casado, J. (1998). *Appl. Catal. B: Environ.* 16 : 31-42.
- Burbonnais, R. e Paice, M. G. (1990). *FEBS Lett.* 267 : 99-102.
- CCPA (1975). Technical Section Standart Method H5P.
- Chen, L. e Chou, T., (1993). *Ind. Eng. Chem. Res.* 32 : 1520-1527.
- Chiou, C., Marinãs, B. J. e Adams, J. Q. (1995). *Ozone Sci. Eng.* 17 : 329-344.

- Chivukula, M., Spadaro, J. T., e Renganathan, V., (1995). *Biochemistry* 34 : 7765-7772.
- Chivukula, M., e Renganathan, V., (1995). *Appl. Environ. Microbiol.* 61 : 4374-4377.
- Chu, W. e Ma, C. W. (1997). *Toxicol. Environ. Chem.* 63 : 247-255.
- Churchley, J.H., (1994). *Wat. Sci. Techol.* 30 : 275-284.
- Ciardelli, G. e Ranieri, N. (1998). *Advanced Wastewater Treatment, Recycling and Reuse*. September 14-16, Milano.
- Conchon, J. A., 1995. *Indústria Têxtil e o Meio Ambiente*, pg. 14-16.
- Cox, C. D. (1994). *Methods Enzymol.* 235 : 315-372.
- De Amorim, M. T. P. e Soares, G. (1999). *78th World Conference of the Textile Institute in association with the 5th Textile Symposium of Seve and Sepve*. Vol. II, p. 145.
- Devi, L. G. e Krishnaiah, G. M. (1999). *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 121 : 141-145.
- Durán, N. e Esposito, E. (1997). *Microbiologia Ambiental* (Melo, I. S., Azevedo, J. L.- EMBRAPA- CNPMA, Jaguariuna, SP) p. 269-292.
- Durán, N., Parra, C., Santiago, M. F. e Rodriguez, J. (1998a). *5th European Workshop Lignicellulosics and Pulp*. Aveiro, Portugal.
- Durán, N., Santiago, M. F., Parra, C. e Rodriguez, J. (1998b). *7th International Conference on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry*. Vancouver, Canada.
- Durán, N., Sato, L. M., Jardim, L. A., Moraes, S. G. e De Conti, R. (1998c). *Bull. Soc. Chile. Quim.* 43: 91-96
- Durán, N., Santiago, M. F., Rodriguez, J., Parra, C., Oses, R. Freer, J. e Baeza, J. (1999). *10th International Symposium of Wood and Pulping Chemistry*. Tokohama, Japão.
- Durán, N. e Durán, M. (1999). *J. Soc. Dyers Colourist* (no prelo).
- Echagaray, D. F. e Olivieri, R. F. (1994). *Wat. Sci. Technol.* 29 : 257-261.
- Esplugas, S., Marco, A. e Saum, G. (1996). *Proceeding of Internacional Conference- May 12-15*. Clausthaler Umwelttechnik-Institut GmbH, German.
- Freire, R. S., Kunz, A. e Durán, N. (1999). *Environ. Technol.* (submetido).
- Gähr, F., Hermanutz, F. e Oppermann, W. (1994). *Wat. Sci. Techol.* 30 : 255-263.
- Goodell, B. Jellison, J. Liu, J. Daniel, G. Paszczynski, A., Fekete, F., Krishnamurthy, S., Jun, J. e Xu, G. (1997). *J. Biotechnol.* 53 : 133-162.

- Goszczynski, S., Paszczynski, A., Pasti-Grigsby, M. B., Crawford, R. L. e Crawford, D. L., (1994). *J. Bacteriol.* 176 : 1339-1347.
- Grau, P. (1991). *Wat. Sci. Technol.* 24 : 97-103.
- Guimarães, J. R. (1990). Tese de Mestrado, Instituto de Química, UNICAMP.
- Hao, O. J., Shin, C. J., Lin, C. F., Jeng, F-T. e Hen, Z. C. (1996). *Wat. Sci. Technol.* 34 : 43-50.
- Heinfling, A., Bergbauer, M. e Szewzyk, U. (1997). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48 : 261-266.
- Huang, C. P., Dong, C. e Tang, Z. (1993). *Waste Management*, 13 : 361-377.
- Hu, T-L. (1996). *Wat. Sci. Technol.* 34 : 89-95.
- ISO 8692 (1989). Water Quality – Fresh water algal growth inhibition test with *Scenedesmus subspicatus* and *Selenastrum capricornutum*.
- ISO 8245- International Org. For Standardization (1987). *Water Quality*. Guidelines for determination of total organic carbon (TOC).
- Isomaa, B. e Lilius, H. (1995). *Toxicol. in vitro* 9 : 821-825.
- Itoh, K., Yatome, C., e Ogawa, T. (1993). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 50 : 522-527.
- Jardim, W. F., Gimenez, S. M. N., Canela, M. C. e Moraes, S. G. (1993). *Chem. Spec. Bioavail.* 5 : 97-100.
- Jellison, J., Goodell, B., Fekete, F. e Chandhoke, U. (1990). Documento nº IRG/WP/1442.
- Jung, K. e Bitton, G. (1997). *Environ. Toxicol. Chem.* 16 : 2264-2267.
- Kirby, N., Mullan, G. Mc, e Marchant, R., (1995). *Biotechnol. Lett.* 17 : 761-764.
- Kikuchi, Y., Sunada, K., Iyoda, T., Hashimoto, X. e Fujishima, A. (1997). *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 106 : 51-56.
- Knapp, J. S., Newby, P. S. e Reece, L. P. (1995). *Enzyme Microb. Technol.* 17 : 664-668.
- Knapp, J. S. e Newby, P. S. (1999). *Wat. Res.* 33 : 575-577.
- Kunz, A., Esposito, E., Reyes, J. e Durán, N. (1998). *Third Latin American Biodegradation & Biodeterioration Symposium – LABS 3*. Florianópolis, SC. CD-Rom Paper 46.
- Kunz, A., Mansilla, H. D. e Durán, N. (1999). *Chemosphere*. (submetido)

- Kuwahara, M., Glenn, J. K., Morgan, M. A. e Gold, M. H. (1984). *FEBS Let.* 169 : 247-250.
- Lakshmi, S., Renganathan, R., Fujita, S., (1995). *J. Photochem. Photobiol. A* 88 : 163-167.
- Lazarova V., Savoye P., Janex M. L., Blatchley III E. R. e Pommpuy M. (1998). *AWT98 – Advanced Wastewater treatment, Recycling and Reuse*, Milano – Italy.
- Langlais, B., Lugube, B., Beuffe, H. e Doré, M. (1992). *Wat. Sci. Technol.* 25: 135-143.
- Liakou, S. e Lyberatos, G. (1996). *Proceeding of Internacional Conference - May 12-15. Clausthaler Umwelttechnik-Institut GmbH, German.*
- Liakou, S., Pavlou, S. e Lyberatos, G. (1997). *Wat. Sci. Technol.* 35 : 279-286.
- Lin, S. H. e Peng, C. F. (1996). *Wat. Res.* 30 : 587-592.
- Lin, S. H. e Liu, W. Y. (1994). *Environ. Technol.* 15 : 299-311.
- Linko, S. e Zhong, L-C. (1987). *Biotechnol. Techn.* 1 : 251-256.
- Lord, G.A., Gordon, D. B., Tettler, L.W. Car, C.M. (1995). *J. Chrom. A* 700 : 27-33.
- Ma, Y. e Yao, J-N. (1998). *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 116 : 167-170.
- Machuca, A. e Milagres, A. M. F. (1998). *7th International Conference on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry*. Vancouver, Canada. Vol. 7B, p. 245-248.
- Madaeni, S. S. (1999). *Wat. Res.* 33 : 301-308.
- Mansilla, H. D., Yeber, M. C., Freer, J., Rodriguez, J. e Baeza, J. (1997). *Wat. Sci. Technol.* 35 : 273-278.
- Marco, A., Esplugas, S. E Saum, G. (1997). *Wat. Sci. Technol.* 35 : 321-327.
- Martins, M. A. M., Cardoso, M. H., Queiroz, M. J., Ramalho, M. T. e Campos, A. M. O. (1999). *Chemosphere* 38 : 2455-2460.
- Masten, S. J. e Davis, S. H. R. (1994). *Environ. Sci. Technol.* 28 : 180A-185A.
- Matthews, R. W. (1991). "Photochemical conversion and storage on solar energy" p. 427-449. Pelizzetti E. E Schiavello M. Eds., Kluwer Academic Publisher, Netherlands.
- Mills, A, Davies, R. H. e Davies, R. H., (1993). *Chem. Soc. Rev.* 417-425.
- Mills, A. e Wang, J. (1999). *The Fourth International Conference on TiO₂ Photocatalytic Putification and Treatment of Water and Air*, May 24-28, New Mexico - USA.
- Moraes, S.G. (1995). Tese de Mestrado, Instituto de Química, UNICAMP.

- Moraes, S. G., Esposito, E., Peralta-Zamora, P., Reyes, J. e Durán, N. (1998a). *Third Latin American Biodegradation & Biodeterioration Symposium – LABS 3*. Florianópolis, SC, CD-Rom Paper 60.
- Moraes, S. G., Minussi, R. C., Peralta-Zamora, P., Pastore, G. M. e Durán, N. (1998b). *4th Biotechnology National Meeting*. Talca, Chile.
- Moraes, S. G., Peralta-Zamora, P., Mansilla, H. D., Baeza, J. e Durán, N. (1998c). *19th Biennial Conference IWQA*. Vancouver, Canada.
- Moraes, S. G., Freire, R. S. e Durán, N. (1999). *International Conference on Diffuse pollution "Solutions-Innovations"*. Perth – Austrália, p 541.
- Muneer, M., Philip, R. e Das, S. (1997). *Rev. Chem. Interm.* 23 : 233-246.
- Naskar, S. Pillay, S. A., Chanda, M. (1998). *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 113 : 257-264.
- Nasr, C., Vinodgopal, K, Hotchandani, S. , Chattopadhyay, A. K. E Kamat, P. V. (1997). *Rev. Chem. Interm.* 23 : 219-231.
- Neilands, J. B. (1993). *Arch. Biochem. Biophys.* 302 : 1-3.
- Neilands, J. B. (1995). *J. Biol. Chem.* 270 : 26723-26726.
- Neto, H. L., 1995. *Indústria Têxtil e o Meio Ambiente*, pg 62.
- Neto, J. T. P. (1997). *Anais do Workshop Sul-Americano sobre usos alternativos de resíduos de origem florestal e urbana*. Curitiba – PR, p. 105-109.
- Nicolaou, M. e Hadjivassilis, I. (1992). *Wat. Sci. Technol.* 25 : 31-35.
- Nigam, P., e Marchant, R., (1995). *Biotech. Lett.* 17 : 993-996.
- Nigam, P., Banat, I. M., Oxspring, Marchant, R., D., Singh, D., e Smyth, W. F. (1995). *Microbios* 84 : 171-185.
- Nigam, P., Banat, I. M., Singh, D., e Marchant, R., (1996). *Process Biochem.* 31 : 435-442.
- Nigam, P., Mullan, G. Mc, Banat, I. M., e Marchant, R., (1996). *Biotech. Lett.* 18n: 117-120.
- Ollikka, P. Alhonmäki, K. Leppänen, Veli-M., Glumoff, T. R., e Suominen, I., (1993). *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 4010-4016.
- Ollikka, P., Hayumpaa, T., Palmu, K., Mantsala, P. e Suominen, I. (1998). *Appl. Biochem. Biotechnol.* 75 : 307-321.

- O'shea, K. E., Garcia, I. e Aguilar, M. (1997). *Res. Chem. Intermed.* 23 : 325-339.
- Oxspring, D. A, Smith, W. F., Marchant, R. (1995). *Analyst* 120 : 1995-2000.
- Parra, C. Oses, R., Ruiz, J. Urrutia, I., baeza, J., Freer, J. E Rodriguez, J. (1998a). 7th International Conference on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry. Vancouver, Canada.
- Parra, C., Santiago, M. F., Rodriguez, J. E Durán, N. (1998b). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 249 : 719-722.
- Paszczynski, A., Pasti-Grigsby, M. B., Goszczynski, S., Crawford, R. L., e Crawford, D. L., (1992). *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 3598-3604.
- Peralta-Zamora, P., Moraes, S.G., Reyes, J. e Durán, N., (1997). *Env. Tecn.*, 18: 461-466.
- Peralta-Zamora, P., Esposito, E., Pelegrini, R., Groto, R., Reyes, J. e Durán, N. (1998a). *Environ. Technol.* 19 : 55-63.
- Peralta-Zamora, P., Moraes, S. G., Minussi, R. C., Gimenes, I, Alves, L. O., Reyes, J., Pastore, G. M. e Durán, N. (1998b). 4th *Biotechnology National Meeting*. Talca, Chile.
- Peralta-Zamora, P., Moraes, S.G., Esposito, E., Antunes, R., Reyes, J. e Durán, N., (1998c). *Env. Tecn.*, 19: 521-528.
- Peralta-Zamorra, P., kunz, A., Moraes, S.G., Peligrini, R., Moleiro, P. C., Reyes, J. e Durán, N. (1999). *Chemosphere* 38 : 835-852.
- Perkowski, J., Kos, L.; Ledakowicz, S. (1996). *Ozon. Sci. & Engin.* 18 : 73 -85.
- Rao, N. N. e Dube, S. (1998). *Recent. Advan. Bas. Appl. Asp. Indust. Catal.*, 113: 1045-1050.
- Ray, A. K. e Beenackers, A. A. C. M. (1998). *Catal. Today* 40 : 73-78.
- Reddy, C. A. (1995). *Curr. Opinion. Biotechnol.*, 6: 320-328.
- Reginatto, V. (1998). Tese de Doutorado, Instituto de Química, UNICAMP.
- Reutergardh, L. B. e langphasuk, M. (1997). *Chemosphere.*, 35: 585-596.
- Rodriguez, J., Oses, R. Parra, C., Freer, J. e Baeza, J. (1997). *Proc. Fifth Brazilian Symposium on the Chemistry of Lignins and Other Wood Components*. Curitiba-PR., Brazil.
- Rodriguez, E. Pickard, M. A. e Vazquez-Duhalt, R. (1999). *Curr. Microbiol.* 38 : 27-32.

- Ronco, A. E. (1992). *W. J. Microb. Biotechnol.* 8 : 316-318.
- Schwyn, B. e Neilands, J. B. (1987). *Anal. Biochem.* 160 : 47-56.
- Sani, R. K. , Azmi, W. e Barnejee, U. C. (1998). *Folia Microbiol.* 43 : 85-88.
- Santiago, M. F., Moraes, S. G. E Durán, N. (1999). IIª Reunião Nacional de Microbiologia Aplicada ao Meio ambiente. Florianópolis, SC. (no prelo)
- Shin, K. S. e Kim, C. J. (1998). *IBiotechnol. Let.* 20 : 569-572.
- Silva, C. M. Reeve, D. W., Woodhouse, K. A., Husain, H. e Behmann, H. (1999). *Pulp & Paper Canada* 100 : 38-43.
- Spadaro, J. T., Gold, M. H., e Renganathan, V., (1992). *Appl. Environ. Microbiol.* 58 : 2397-2401.
- Stockinger, H., Heinzle, E. e Kut, O. (1995). *Environ. Sci. Technol.* 29 : 2016-2022.
- Subramani, P. Shanmugas, K. P. e Ravikumar, X. J. (1995). *Waste Treat. Plants* 382-394.
- Szklarz, G. D., Antibus, R. K., Sinsabaugh, R. L. e Linkins, A. (1989). *Mycol.* 81 : 234-240.
- Swamy, R. e Ramsay, J. A. (1999a). *Enz. Microbiol. Technol.* 24 : 130-137.
- Swamy, R. e Ramsay, J. A. (1999b). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51 : 391-396.
- Tang, W. Z., Zhang, Z., Na, H., Quintana, M. O. e Torres, D. F. (1997). *Environ. Technol.* 18 : 1-12.
- Tapley, K. N. (1995). *J. Chromat.* 706 : 555-562.
- Teodosiu, C. C., Kennedy, M. D. Van Straten, H. A. e Schippees, J. C. (1999). *Wat. Res.* 33 : 2172-2180.
- Tien, M. e Kirk, T. K. (1984). *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 81 : 2280-2284.
- Tzitzis, M., Vayenas, D. V. e Lyberatos, G., (1994). *Wat. Sci. Technol.* 29 : 151-160.
- Vandevivere, P. C., Bianchi, R. E Verstraete, W. (1998). *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 72 : 289-302.
- Vinodgopal, K. e Prashant, V. K., (1994). *The First International Conference on Advanced Oxidation Technologies for Water and Air Remediation.* London, Ontario, Canada, 25-30 de junho.
- Vinodgopal, K. e Prashant, V. K., (1996). *Environ. Sci. Technol.* 30 : 1660-1666.
- Wang, Y. e Hong, C-S. (1999). *Wat. Res.* 33 : 2031-2036.

- Wang, Y. e Yu, J. (1998). *Wat. Sci. Technol.* 38 : 233-238.
- Wells, M. J. M., Rossano, A. J. Jr. e Roberts, E. C. (1994). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 27 : 555-560.
- Wong, P. K., e Yuen, P. Y., (1996). *Wat. Res.* 30 : 1736-1744.
- Yeber, M. C., Freer, J. Baeza, J. e Mansilla, H. D. (1998). *Advanced Wastewater Treatment, Recycling and Reuse*, Milano - Italy.
- Zeng, Z. X., Levin, R. E., Pinkham, J. L. e Shetty, K. (1999). *Proc. Biochem.* 34 : 31-37.