

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**

**TRATAMENTO DE EFLUENTES DA INDÚSTRIA  
DE CELULOSE E PAPEL COM FUNGO  
FILAMENTOSO LIGNOCELULÓSICO**

**ALESSANDRA ZACARIAS DOS SANTOS**  
Engenheira Química, UEM, 1994.

**Orientadora:** Prof.a. Dr.a. Célia Regina Granhen Tavares  
Prof.a. Dr.a. Sandra Maria Gomes da Costa

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química, área Desenvolvimento de Processos.

Setembro - 1997  
Maringá, PR - Brasil

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**

Esta é a versão definitiva da Dissertação de Mestrado submetida por  
Alessandra Zacarias dos Santos, à Comissão Julgadora do Curso de  
Mestrado em Engenharia Química, na data de 05 de setembro de 1997.

**COMISSÃO JULGADORA**



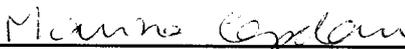
---

Profª Drª Célia Regina Granhen Tavares  
Orientadora



---

Profª Drª Sandra Maria Gomes da Costa  
Co-orientadora



---

Drª Marina Capelari  
Membro



---

Profª Drª Rosângela Bergamasco  
Membro

*À memória de minha mãe, Rosa.  
Ao meu pai, Paulo, e meus irmãos,  
Paulo e Ricardo, com amor e carinho.*

*“A vida é realmente escuridão, exceto quando há um impulso.  
E todo impulso é cego quando não há um saber, e todo o saber é vazio,  
exceto quando há um trabalho.  
E todo trabalho é vazio, exceto quando há amor.  
E quando trabalhais com amor, vós vos unis a vós próprios e uns aos  
outros, e a Deus.”*

## **Agradecimentos**

À Deus... que, incomparável e inconfundível na Sua infinita bondade, compreendeu os meus anseios e me deu a necessária coragem para atingir o meu objetivo.

Ao meu pai, só queria dizer que sei o quanto foi difícil conviver com tantas ausências, esperas, impaciências, cansaços e carinhos interrompidos. É importante compartilhar com você a alegria desta conquista.

Paulinho e Ri, obrigada pela compreensão quando distanciei-me de vocês, e pela paciência nas intermináveis indas e vindas. Obrigada por tudo que fizeram por mim, sem que ao menos eu soubesse.

Queridas amigas Cíntia e Karlinha, obrigada por terem acreditado em meu ideal. Por terem escutado minhas angústias, alegrias e decepções, sempre como se fosse a primeira vez. Por terem acreditado que chegaria ao final e por acreditarem que ainda chegarei a ser mais do que sou.

Aos meus amigos especiais, Bia, Gel, Ikeda, Lê, Marcos e Rezinha, agradeço com muito carinho, aos momentos de alegria, companherismo, e cumplicidade, pois nós sabemos que nossos caminhos são paralelos e que buscamos um só objetivo.

Às minhas orientadoras e amigas, Prof.a. Dr.a. Célia e Prof.a. Dr.a. Sandra, pelas discussões saudáveis e precisas, o meu muito obrigada de maneira especial.

Agradeço ao Luís, ao Donizete e à Dione pela contribuição na parte experimental.

Ao PEQ, DEQ e CAPES pelo apoio financeiro.

À Indústria Klabin de Papel e Celulose, representada pelo Eng. Osvaldo Vieira, por tornar real a concretização desta pesquisa.

À todos aqueles que de forma construtiva auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho.

## RESUMO

O fungo ligninolítico *Pleurotus ostreatoroseus* foi utilizado para tratar o efluente do primeiro estágio de extração alcalina da etapa de branqueamento de polpa kraft. O fungo foi utilizado peletizado em experimentos em regime batelada e contínuo, e em suspensão em experimentos em regime batelada.

Os experimentos com o fungo peletizado em regime batelada foram realizados variando-se a quantidade de fungo, o ajuste inicial de pH, a indução enzimática e a agitação, verificando-se a influência destes parâmetros na variação de pH e da redução de cor e fenóis totais. Nestes experimentos, maior quantidade de fungo melhorou a descoloração, enquanto que a agitação e o ajuste inicial de pH a afetaram negativamente.

O ajuste inicial do pH influenciou positivamente a remoção de fenóis totais. A indução enzimática, nas condições utilizadas, não melhorou a atuação do fungo. O melhor resultado de descoloração, cerca de 61,2%, foi obtido com 10% de fungo, sem agitação, sem indução e sem ajuste inicial de pH, após 120h. O pH após este período atingiu 5,5. A máxima redução de fenóis, 99.9%, foi obtida, após 96h, com inoculação de 10% de fungo, sem agitação e indução e com ajuste de pH inicial para 6.88. O pH final foi de pH 5,5.

O desempenho do fungo peletizado em regime contínuo foi estudado utilizando-se um biorreator de fluxo turbulento, com volume útil de 2L. Foram realizados dois ensaios, sendo que no primeiro o biorreator operou com tempo de retenção de quatro dias, e no segundo operou, inicialmente, com dois dias e a seguir com quatro. No primeiro ensaio, o biorreator apresentou remoção média de cor e fenóis totais de 18,6 e 18,3%, respectivamente, após a adição de glicose, indicando a necessidade de uma fonte extra de carbono para o tratamento fúngico. No segundo ensaio, realizado com adição de várias quantidades de glicose, ocorreu remoção máxima de 43,75% de cor, 23,08% de fenóis e 29,4% de lignina/clorolignina, confirmando a necessidade da adição da fonte extra de carbono para o processo contínuo de tratamento do efluente E1 com *Pleurotus ostreatoroseus*.

Os ensaios com o fungo em suspensão, foram realizados nas mesmas condições dos experimentos com o fungo peletizado, sem indução. A agitação e o ajuste inicial do pH não interferiram nos resultados, enquanto que a utilização de maior quantidade de fungo os influenciou positivamente. 89% de descoloração, 87% de remoção de fenóis totais e 78% de redução de lignina/clorolignina, foram conseguidos em pH 3,9, após 120h de experimento. Neste experimento o reator batelada foi inoculado com 20% de fungo e operou com agitação, ajuste inicial de pH para 6,7 e sem indução.

Os resultados obtidos indicam o potencial de aplicação do *Pleurotus ostreatoroseus* no tratamento do efluente E1, este tratamento, no entanto, foi mais eficiente quando o fungo foi utilizado em suspensão.

## ABSTRACT

The ligninolytic fungus *Pleurotus ostreatoroseus* was used to treat the E1 effluent of the first alkaline extraction of the kraft pulp bleaching stage. The fungus was used pelletized in experiments under batch and continuous system, and in suspension in experiments under batch system.

The experiments with the pelletized fungus, under batch system, was accomplished by changing fungus quantity, initial pH adjustment, enzymatic induction and agitation, verifying the influence of these parameters on pH variation and reduction of color and total phenols contents. In these experiments, the greatest quantity of fungus improved the decolorization, while agitation and initial pH adjustment affected it negatively.

The initial pH adjustment influenced positively the total phenols removal. The enzymatic induction used didn't improve fungus activity. The best decolorization result, about 61,2%, was obtained with 10% of fungus and without agitation and initial pH adjustment, after 120h. pH after this period reached 5,5. The maximum total phenols removal, 99.9%, was obtained, after 96h, with inoculation of 10% of fungus, without agitation and induction, and initial pH equal to 6,88. The final pH was 5,5.

The performance of the pelletized fungus, under continuous system, was studied by using a two liters turbulent flow bioreactor. Two

experiments were realized. In the first one, the bioreactor operated with 4-day hydraulic retention time, and in the second one, with two and then with four days of hydraulic retention time. In the first experiment, the average removal of color and total phenols was 18,6 and 18,3%, respectively, after the addition of glucose. This indicated the need of an extra carbon source for the fungal treatment. In the second experiment, realized with the addition of several quantities of glucose, the maximum removal of color, total phenols and lignin/chlorolignin was 43,75, 23,08 e 29,4%. This confirmed the need of the glucose addition for continuous treatments of the E1 effluent with *Pleurotus ostreatoroseus*.

The experiments with the fungus in suspension, was realized in the same conditions of the peletized fungus experiments, without indução. Agitation and initial pH adjustment don't influenced the results, while the greatest fungus quantity influenced them positively. 89% of decolorization, 87% of total phenols removal and 78% of lignin/chlorolignin removal was obtained at pH 3,9, after 120h of experiment. In this experiment the batch reactor was inoculated with 20% of fungus and operated with agitation, initial pH adjustment of 6,7 and without induction.

The results indicate the potential for application of *Pleurotus ostreatoroseus* in the treatment of E1 effluente. This treatment, nevertheless, was more efficient when the fungus was used in suspension.

# ÍNDICE GERAL

<b>CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO E OBJETIVO</b>	<b>01</b>
<b>CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>04</b>
II.1 - INDÚSTRIA DE CELULOSE E PAPEL	04
II.2 - O EFLUENTE DO BRANQUEAMENTO	08
II.3 - TRATAMENTO DO EFLUENTE DA INDÚSTRIA KRAFT	13
II.3.1 - Tratamento dos efluentes do branqueamento com fungos ligninolíticos	14
II.4 - BIORREADORES	22
<b>CAPÍTULO III - MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>27</b>
III.1 - EFLUENTE	27
III.2 - MICRORGANISMO	28
III.3 - MEIO DE CULTIVO E PREPARO DO INÓCULO	28
III.4 - EXPERIMENTOS EM REGIME BATELADA	29
III.4.1 - Experimentos com fungo peletizado	29
III.4.2 - Experimentos com fungo em suspensão	30
III.5 - EXPERIMENTOS EM REGIME CONTÍNUO - BIORREATOR	31
III.6 - MÉTODOS ANALÍTICOS	33
III.6.1 - Determinação da demanda química de oxigênio	33
III.6.2 - Determinação de cor	34

III.6.3 - Determinação de fenóis totais	34
III.6.4 - Determinação de lignina/clorolignina	35
III.6.5 - Determinação de açúcares redutores	35
<b>CAPÍTULO IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>37</b>
IV.1 - EXPERIMENTOS COM O FUNGO PELETIZADO	37
IV.2 - EXPERIMENTOS COM O BIORREATOR	44
IV.3 - EXPERIMENTOS COM O FUNGO EM SUSPENSÃO	55
<b>CAPÍTULO V - CONCLUSÕES E SUGESTÕES</b>	<b>61</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>65</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>69</b>
ANEXO I - Determinação de DQO	69
ANEXO II - Determinação de fenóis totais	71
ANEXO III - Determinação de açúcares redutores	73
ANEXO IV - Tabelas	77

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura II.1 - Fluxograma simplificado da fabricação de celulose e papel	07
Figura II.2 - Distribuição dos compostos orgânicos clorados presentes nos licores do branqueamento de polpa kraft de madeira macia	10
Figura II.3 - Compostos fenólicos mais freqüentemente encontrados nos licores de branqueamento	11
Figura II.4 - Diagrama de fluxo para um processo de descoloração aerado para efluentes do branqueamento	20
Figura II.5 - Contactor biológico rotatório, em escala de bancada	22
Figura II.6 - Sistema de lagoas aeróbias	23
Figura II.7 - Reator fúngico “airlift”	24
Figura II.8 - Filtro anaeróbio	24
Figura II.9 - Reator de leito recheado	26
Figura III.1 - Esquema do módulo experimental utilizado para os ensaios em regime contínuo.	33
Figura IV.1 - Variação de pH em função do tempo	38
Figura IV.2 - Redução de cor em função do tempo	38
Figura IV.3 - Redução de fenóis totais em função do tempo	39
Figura IV.4 - Resultados da variação de pH em função do tempo de operação do biorreator	44

Figura IV.5 - Redução de DQO, cor e fenóis totais em função do tempo de operação do biorreator	45
Figura IV.6 - Resultados da variação de pH, do segundo experimento como biorreator, em função do tempo de operação	50
Figura IV.7 - Redução de DQO, açúcares redutores, cor, fenóis totais e lignina/clorolignina em função do tempo de operação do biorreator, durante o segundo experimento contínuo	52
Figura IV.8 - Variação de pH em função do tempo	55
Figura IV.9 - Redução de cor em função do tempo	56
Figura IV.10 - Redução de fenóis totais em função do tempo	56
Figura IV.11 - Redução de lignina/clorolignina em função do tempo	57

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela III.1 - Características das amostras de efluente E1 coletadas na indústria	28
Tabela III.2 - Condições dos experimentos com fungo peletizado	30
Tabela IV.1 - Resultados da variação de pH em função do tempo em dias	77
Tabela IV.2 - Resultados de descoloração (%) em função do tempo em horas	78
Tabela IV.3 - Resultados de redução de fenóis totais (%) em função do tempo em horas	78
Tabela IV.4 - Resultados da variação de pH em função do tempo (dias) de operação do biorreator	79
Tabela IV.5 - Resultados de redução de DQO, cor e fenóis totais em função do tempo (dias) de operação do biorreator	80
Tabela IV.6 - Resultados da variação de pH, do segundo experimento com o biorreator, em função do tempo (dias)	81
Tabela IV.7 - Resultados de redução de DQO, açúcares redutores, cor, fenóis totais e lignina/clorolignina em função do tempo (dias) de operação do biorreator, durante o segundo experimento contínuo	83
Tabela IV.8 - Resultados da variação de pH em função do tempo em horas	85

Tabela IV.9 - Resultados de descoloração (%) em função do tempo em horas	85
Tabela IV.10 - Resultados de redução de fenóis totais (%) em função do tempo em horas	86
Tabela IV.11 - Resultados de redução de lignina/clorolignina (%) em função do tempo em horas	86

## NOMENCLATURA

AOX	compostos organoclorados
AR	açúcares redutores [ML <sup>-3</sup> ]
DBO	demanda bioquímica de oxigênio [ML <sup>-3</sup> ]
DQO	demanda química de oxigênio [ML <sup>-3</sup> ]
M <sub>r</sub>	massa molecular relativa [M]
TOC	carbono orgânico total [ML <sup>-3</sup> ]
TOCl	cloro orgânico total [ML <sup>-3</sup> ]
UC	unidades de cor

# CAPÍTULO I

## INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

---

As indústrias de polpa e papel kraft branqueado produzem, anualmente grandes quantidades de efluentes coloridos, resultantes dos diferentes processos aplicados à madeira e à polpa. Estes efluentes apresentam vários compostos orgânicos clorados, denominados cloroligninas, que são responsáveis pela sua coloração marrom e se originam da degradação da lignina residual durante o processo de branqueamento da polpa.

Os compostos orgânicos presentes nestes efluentes, principalmente os fenóis clorados, são tóxicos para muitos organismos aquáticos e altamente resistentes ao ataque microbiano. As cloroligninas, podem lentamente transformar-se em organoclorados menores, bioacumuláveis, como catecol e guaiacol, que prejudicam o ambiente aquático (Eriksson e Kolar, 1985). A cor marrom dos efluentes, pode inibir as atividades biológicas na água, pois impedem a penetração da luz solar (Esposito, 1992).

Estes efluentes, geralmente, são tratados por processos biológicos, em lagoas aeradas e lodos ativados. Estes processos, reduzem a DQO e a DBO, mas não são eficientes quanto à remoção de cor, clorofenóis e de ligninas cloradas de alto peso molecular (Cammarota, 1991; Rajarathnam e col., 1992). Alguns processos alternativos para remoção de cor são a ultrafiltração, a ultrafiltração/tratamento biológico, radiação ultravioleta, osmose reversa e outros (Moo-Young e col., 1985).

Vários estudos nos últimos 15 anos demonstram que a cor e os compostos orgânicos clorados dos efluentes kraft, podem ser reduzidos por fungos da decomposição branca da madeira, os quais são considerados altamente promissores no tratamento destes efluentes (Cammarota, 1991; Esposito, 1992; Lankinem e col., 1991; Prouty, 1990).

Um processo que vem sendo extensivamente estudado é o Mycor (“Mycelial Color Removal”), patenteado em 1987 por Chang e col., que utiliza o fungo *Phanerochaete chrysosporium* Burds immobilizado em um Contactor Biológico Rotatório (RBC) (Esposito, 1992).

Na busca de processos mais eficientes e viáveis economicamente, outros tipos de biorreatores e outros fungos ligninolíticos vêm sendo estudados. Os reatores do tipo filtro biológico, que utilizam o fungo immobilizado sobre diferentes suportes, e os fungos *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes*, e *Coriolus versicolor*, têm apresentado resultados promissores, quanto ao tratamento dos efluentes kraft e à produção de enzimas ligninolíticas (Burla e col., 1992; Esposito e col., 1991; Livernoche, 1983; Archbald, 1990).

Dentro deste contexto, neste trabalho avaliou-se o desempenho do fungo ligninolítico *Pleurotus ostreatoroseus* Sing, em experimentos em regime batelada e contínuo num reator de leito turbulento, no tratamento do efluente do primeiro estágio de extração alcalina da etapa de branqueamento de polpa kraft. Este fungo foi avaliado peletizado e em suspensão, em ensaios batelada, e peletizado em ensaios contínuos, sendo que o efluente para tais ensaios foi fornecido pela Indústria Klabin de Papel e Celulose - Divisão Paraná.

## **CAPÍTULO II**

### **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

---

#### **II.1 - INDÚSTRIA DE CELULOSE E PAPEL**

A principal matéria prima utilizada na produção de celulose e papel é a madeira.

A madeira é um copolímero constituído de celulose, hemicelulose e lignina, e extrativos e substâncias minerais em pequena quantidade. A celulose corresponde de 30 a 40%, em peso seco, da madeira; as hemiceluloses, cerca de 20 a 30%, e a lignina, de 20 a 30%, sendo que estas composições variam de acordo com o tipo de madeira, a espécie e a idade das mesmas (Esposito, 1992).

Para a produção de polpa celulósica, a madeira pode ser submetida à diferentes processos de polpação, que geralmente são classificados em mecânico, químico ou semi-químico. Estes processos, têm como finalidade liberar as fibras da matriz de lignina e deixá-las com um grau relativo de pureza, dependendo do uso final.

No polpamento mecânico, a polpa é produzida pela desintegração mecânica da madeira na presença de água. O rendimento deste processo é da ordem de 95 %. A remoção dos componentes da madeira é baixa e cerca de 93 a 98% do peso original da madeira é recuperado como polpa.

Para obtenção de polpas químicas, são utilizados reagentes ácidos ou alcalinos fortes os quais permitem a separação das fibras celulósicas da lignina. Nestes processos, 90 a 98% da lignina e 50 a 80% de hemiceluloses são removidas da madeira, resultando em rendimentos da ordem de 45 a 50%. A faixa de rendimento da polpa química não branqueada é da ordem de 42 a 58%, dependendo da espécie de madeira e da digestão química. O polpamento químico abrange os processos kraft (alcalino) e sulfito (ácido).

As polpas semi-químicas, são obtidas em condições energéticas de cozimento seguindo-se de desfibramento através de processo mecânico. A eficiência destes processos varia entre 65 e 85%.

O processo de polpamento kraft, que utiliza NaOH e Na<sub>2</sub>S para o cozimento da madeira, é o processo dominante no Brasil e no mundo. Este processo representa cerca de 58% da produção mundial de polpa, e 75% da produção mundial de polpas químicas (D'Almeida, 1981).

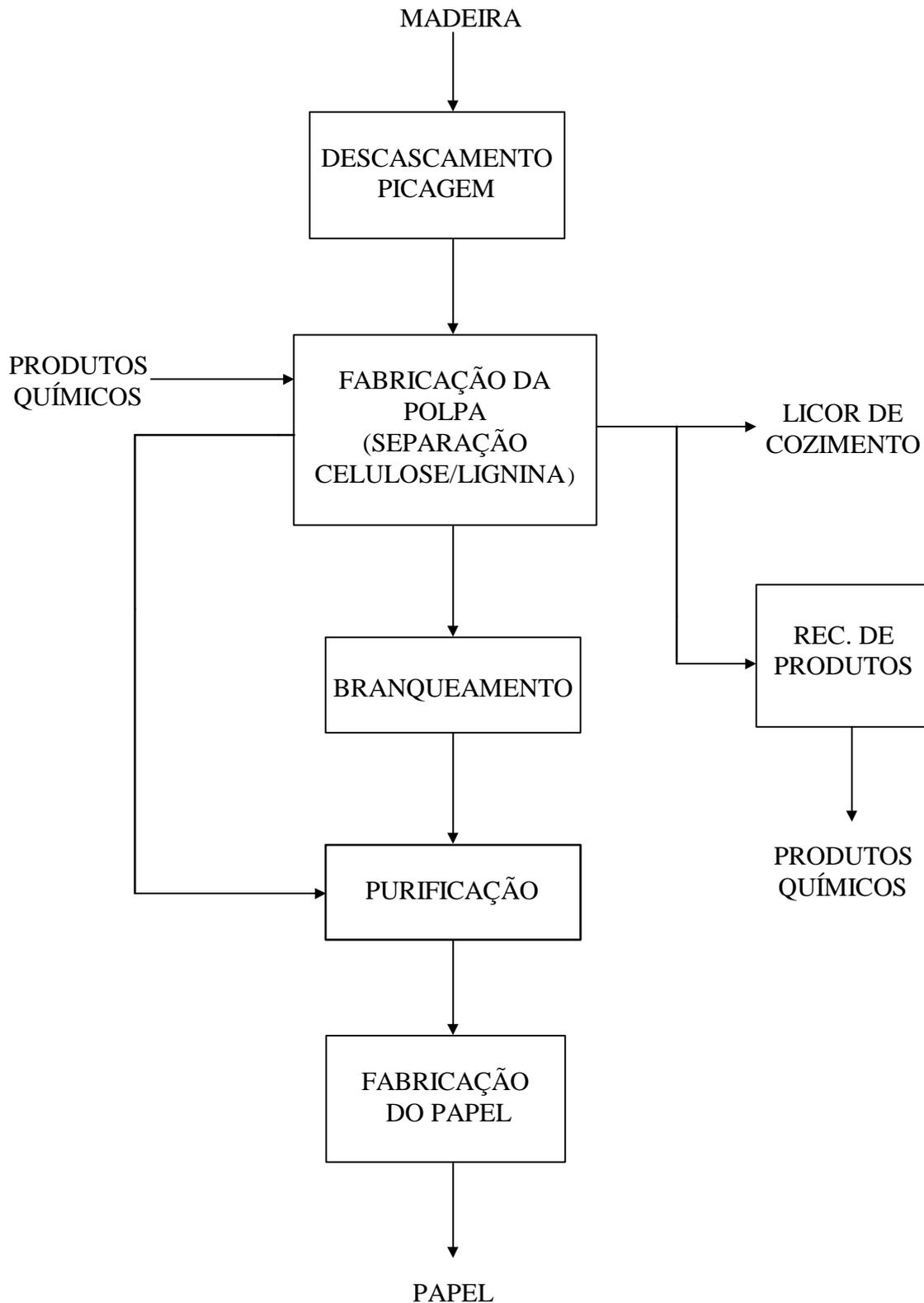
A figura II.1 apresenta um fluxograma simplificado de uma fábrica de celulose e papel, enfatizando o processo kraft de polpeamento.

A madeira, antes de ser submetida ao polpeamento, é descascada e picada, facilitando o transporte e a atuação do licor de cozimento.

Os cavacos são então submetidos à polpação, onde os produtos químicos utilizados transformam a madeira em uma massa fibrosa, denominada polpa.

A seguir, a polpa, podendo ser branqueada ou não, é enviada à fabricação de papel. O branqueamento da polpa é feito para remover a lignina residual (cerca de 5 a 10% da lignina original), responsável pela sua cor escura. Este processo resulta em um material mais fino, destinado à fabricação de papel de qualidade superior.

Antes de ser enviada à máquina de papel, a polpa é purificada, passando por espessadores, refinadores, peneiras e depuradores. Após isto, ocorre a adição de corantes e aditivos, e a polpa está pronta para ser transformada em folhas na máquina de papel (Cammarota, 1991).



**Figura II.1** - Fluxograma simplificado da fabricação de celulose e papel.

## II.2 - O EFLUENTE DO BRANQUEAMENTO

O processo de branqueamento é desenvolvido, geralmente, através de várias fases, nas quais adicionam-se gradativamente os reativos de branqueamento, efetuando lavagens intermediárias com água ou álcali, afim de remover os produtos solúveis resultantes da reação da fase precedente. A planta de branqueamento, é considerada a maior fonte de poluição de águas da indústria de celulose, contribuindo com 85% da cor total e 50% da DBO.

O branqueamento convencional é iniciado utilizando-se cloro ou cloro e dióxido de cloro, no 1º estágio, conhecido por cloração ou estágio C1, e hidróxido de sódio no 2º estágio, denominado extração alcalina ou estágio E1. Estes dois primeiros estágios, são as duas maiores fontes de poluição dentro da planta de branqueamento (D'Almeida, 1981).

Durante o branqueamento convencional de uma polpa kraft de madeira mole, cerca de 70kg de material por tonelada de polpa dissolve-se da polpa nos licores de branqueamento. Cerca de 50kg deste material se origina da lignina residual presente na polpa, em torno de 19kg é proveniente da fração de polissacarídeos, e aproximadamente 1kg provém da porção de extrativos da polpa. 75% deste material, dissolve-se durante os estágios C1 e E1 (Kringstad e Lindström, 1984).

Durante a cloração, o cloro converte a lignina residual em produtos solúveis em água ou álcali, resultando em um efluente formado por compostos orgânicos clorados. Dentre estes compostos, as cloroligninas, compostos de elevada massa molecular, são os principais responsáveis

pela coloração escura dos efluentes de branqueamento (Esposito, 1992). Neste estágio, ocorre a oxidação e a substituição por cloro e a adição de cloreto de hidrogênio na lignina residual, levando a uma substancial despolimerização da mesma, bem como a introdução de cloro e vários grupos ácidos na sua estrutura.

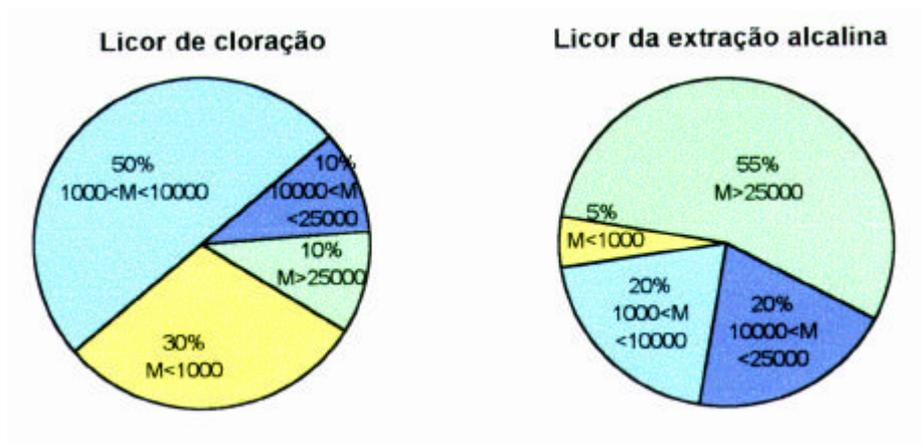
No estágio de extração alcalina, as reações são menos conhecidas. Ocorre a ionização dos grupos ácidos formados durante o estágio C, facilitando a dissolução da lignina clorada (Kringstad e Lindström, 1984).

Os licores da cloração e da extração alcalina, apresentam composição química orgânica extremamente complexa. Nestes licores, os compostos orgânicos clorados estão presentes em várias classes de matéria orgânica, como pode ser observado na Figura II.2 (Kringstad e Lindström, 1984).

Segundo Eriksson e Kolar, 1985, os compostos com massa molecular relativa menor que 1000g/gmol, podem penetrar nas células de organismos aquáticos e são agudamente tóxicos e genotóxicos. Entretanto, o material de massa molecular relativa alta ( $M_r > 1000$ ), denominados cloroligninas, apenas afetarão de maneira adversa o ambiente se forem degradados a compostos de baixa massa molecular.

Ainda segundo estes autores, tais compostos, constituem a maior parte do material orgânico presente nos efluentes de branqueamento, e são instáveis quimicamente sendo decompostos lentamente, produzindo

compostos de massa molecular reduzida, igualmente nocivos ao ecossistema aquático.



**Figura II.2** - Distribuição dos compostos orgânicos clorados presentes nos licores do branqueamento de polpa kraft de madeira macia<sup>a,b</sup> (Kingristad e col., 1984)

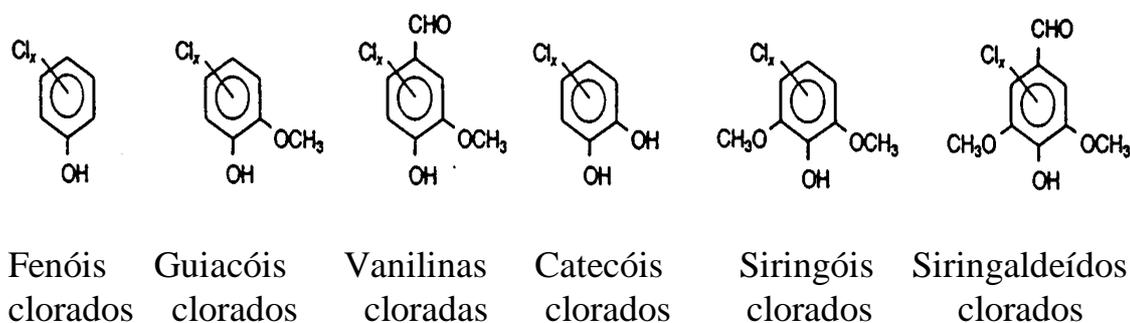
<sup>a</sup>(Em % de cloro orgânico total) em frações de várias massas molecular relativa

<sup>b</sup>Determinado por ultrafiltração

A degradação das cloroligninas e a cloração de resíduos fenólicos presentes na polpa, geram os clorofenóis. Os compostos mais frequentemente identificados nos licores de branqueamento são os apresentados pela Figura II.3.

Esposito (1992) e referências citadas mencionam que os fenóis clorados são um dos principais contribuintes da toxidez do efluente,

embora representem menos de 2% dos compostos orgânicos clorados. Dentre os clorofenóis, o tetracloroguaiacol é o mais tóxico.



**Figura II.3** - Compostos fenólicos mais freqüentemente encontrados nos licores de branqueamento (Kringstad e Lindström, 1984)

Os compostos ácidos, segundo Kringstad e Lindström (1984), presentes nos efluentes de branqueamento podem ser divididos em cinco categorias: ácidos graxos, hidroxiácidos, ácidos dicarboxílicos, ácidos aromáticos e ácidos resinosos. Quantitativamente, os ácidos fórmico e acético são os ácidos graxos mais importantes. Dentre os hidroxiácidos, predomina o ácido glicérico. Quanto aos ácidos aromáticos, são formados principalmente 3 tipos: aqueles com um grupo hidroxila, os com dois grupos hidroxila, e os com um grupo hidroxila e um metoxila. Os ácidos dicarboxílicos, tais como oxálico, malônico, succínico e maleico, estão presentes em quantidades consideráveis nos dois tipos de licores. E, os ácidos resinosos tais como, primário, abiético e clorodehidroabiético, tem sido identificados apenas nos licores da extração alcalina (Cammarota, 1991).

Os efluentes do branqueamento também são formados por compostos neutros. Quantitativamente, o metanol e várias hemiceluloses são os compostos neutros dominantes. Segundo Voss (1983), os compostos (ou classes de compostos) neutros mutagênicos, de acordo com teste Ames utilizando *Salmonella typhimurum* TA 1535 e TA 100, são o 2-cloropropenal, triclorohidroxifuranona, tetracloropropeno e acetonas cloradas. Sendo que os maiores contribuintes para a mutagenicidade do efluente da cloração são o 2-cloropropenal e a triclorihidroxifuranona.

Os efeitos tóxicos dos licores de cloração, geralmente, são menores do que os da extração alcalina. Entretanto, devido ao grande volume de licor de cloração produzido, a sua toxicidade total é muito maior (Kringstad e Lindström, 1984).

## **II.3 - TRATAMENTO DO EFLUENTE DA INDÚSTRIA KRAFT**

Os efluentes da indústria de polpa e papel kraft branqueado passam inicialmente por um clarificador primário, no qual são removidas as fibras perdidas no polpeamento e outros materiais insolúveis. O efluente resultante passa então por tratamento biológico, tal como processo de lodos ativados ou lagoa aerada, que segundo Rajarathnam (1982), são os mais utilizados. Finalmente, este efluente passa por um segundo clarificador, no que os sólidos biológicos residuais são removidos. Após isto, o efluente pode ser descarregado no corpo receptor (Moo-Young e col., 1985).

Os sólidos do primeiro clarificador são secos, e juntamente com os sólidos de segundo, são compostados ou queimados para recuperar energia.

Estes procedimentos removem DBO, toxicidade, mutagenicidade e parte da DQO e do TOC (carbono orgânico total). Entretanto, a cor e a DQO associada a ela, é apenas parcialmente reduzida.

A cor do efluente, ainda é um problema não resolvido no tratamento de efluentes do processo de branqueamento de polpa kraft. Cerca de 90% da cor do processo de branqueamento com cloro está no efluente do estágio de extração alcalina ('E1'). Aproximadamente metade da cor da indústria de polpa kraft branqueada está neste efluente de volume relativamente pequeno, e a contribuição do efluente E1 aumenta à medida que as indústrias aumentam os processos de

reciclagem de água e de recuperação de resíduos. Logo, o efluente deve ser descolorido se a cor do efluente total tiver que ser controlada. Embora vários processos físico/químicos para remoção ou redução de cor tenham sido desenvolvidos (coagulação/flotação, osmose reversa, ultrafiltração, troca iônica, precipitação com alumina, etc.) ainda há necessidade de processos menos onerosos (Moo-Young e col., 1985).

Na busca de processos mais eficientes e menos onerosos para a remoção de cor, tem-se estudado a utilização de fungos no tratamento de efluentes do branqueamento. Além de remover cor, os fungos têm-se mostrado capazes de remover compostos orgânicos clorados de alto e baixo peso molecular, mostrando-se bastante promissores quanto ao tratamento destes efluentes.

### **II.3.1 - TRATAMENTO DOS EFLUENTES DO BRANQUEAMENTO COM FUNGOS LIGNINOLÍTICOS**

Os mais eficientes degradadores naturais de lignina são os fungos causadores da podridão branca da madeira. Estes fungos ligninolíticos são capazes de degradar e metabolizar completamente a lignina, transformando-a em CO<sub>2</sub> e água (Eaton, 1980)

A utilização dos fungos ligninolíticos no tratamento de efluentes da indústria de celulose e papel é estudada há aproximadamente 20 anos (Moo-Young e col., 1985). Há um interesse especial na utilização destes fungos para descolorir e reduzir a quantidade de compostos orgânicos

clorados e de massa molecular relativa alta dos efluentes do processo de branqueamento da polpa (Eaton e col., 1980; Huynh e col., 1985; Pellinen e col., 1988).

Segundo Moo-Young e col. (1985), em 1977 dois artigos descreveram a degradação do efluente E1 por fungos ligninolíticos: Fukuzumi e col. (1977) mostraram que vários fungos da podridão branca da madeira podem descolorir o efluente; e, Lundquist e col. (1977) demonstraram que o efluente marcado com  $^{14}\text{C}$  (preparado por polpeamento kraft e branqueamento com cloro e álcali de lignina- $^{14}\text{C}$  sintética) é decomposto em  $^{14}\text{CO}_2$  pelo fungo da podridão branca *Phanerochaete chrysosporium*.

Este mesmo fungo foi utilizado por Eaton e col. (1980) para descolorir o efluente E1. A redução de cor obtida foi de aproximadamente 60%, após 2 a 4 dias de incubação do efluente com fungo, para experimentos à 39°C, pH 4.5, sob atmosfera de 80% de  $\text{O}_2$  e agitação de 150rpm. O experimento foi desenvolvido por 60 dias, sendo os “pellets” removidos e colocados em efluente fresco a cada descoloração. A biomassa fúngica pode ser reutilizada por aproximadamente 25 dias antes da exaustão da fonte de carbono, 1% de celulose adicionada no primeiro dia de experimento. Após este período adicionou-se celulose fresca ao efluente, a cada descoloração, e a biomassa pode ser reutilizada, satisfatoriamente, por 60 dias.

Para descoloração do efluente kraft, Livernoche e col. (1983) selecionaram entre 15 fungos da podridão branca, o fungo *Coriolus versicolor*. Nos ensaios com 30ml de suspensão de micélio, com volume

total (efluente + micélio) de 230ml, e 0.5% de sucrose ocorreu 80% de descoloração, após seis dias de tratamento. Experimentos com o mesmo fungo imobilizado, em gel de alginato de cálcio, na presença de 50mM (1,7%) de sucrose apresentou descoloração de cerca de 80% em 3 dias, sendo mais eficiente que o fungo em suspensão.

Os fungos ligninolíticos também têm sido utilizados para reduzir compostos orgânicos clorados. Sua utilização para este fim foi estudada por Huynh e col. (1985) e por Pellinen e col. (1988). Nos dois trabalhos utilizaram *Phanerochaete chrysosporium* e efluente do primeiro estágio da extração alcalina.

Huynh e col. (1985) utilizaram *P. chrysosporium* em um sistema MyCor (“Mycelial Color Removal”), em que este fungo é imobilizado em contactor biológico rotatório (RBC). Neste estudo foi examinado o destino dos compostos de baixo peso molecular no reator MyCor-RBC. Para tal, estes compostos foram extraídos com clorofórmio, antes e depois da degradação fúngica, e analisados através de cromatografia gasosa/espectrometria de massa.

Esta investigação revelou que os compostos de baixo peso molecular, que incluíam principalmente os compostos fenólicos clorados, dos quais predominavam os derivados clorados de guaiacol e vanilina, foram removidos pelo sistema MyCor. No efluente E1 descolorido, foram encontrados álcool veratrílico, pequenas quantidades de outros metabólitos do fungo, e compostos derivados dos compostos fenólicos clorados.

A formação destes produtos pode ser considerada como resultado da degradação fúngica dos compostos do efluente. Os mecanismos de degradação envolveram metilação, oxidação e redução, indicados pela presença dos produtos destas reações.

Os compostos orgânicos clorados de alto peso molecular foram estudados por Pellinen e col. (1988), utilizando *P. chrysosporium* imobilizado em um contactor biológico rotatório. As taxas de descoloração, declorinação e degradação de clorolignina baseada na diminuição de DQO foram, respectivamente, 65%, 49% e 33%, em um dia. Apesar de diferentes, um estudo de correlação sugere que estes três processos estavam metabolicamente conectados. A cromatografia de exclusão por tamanho indicou que a clorolignina foi parcialmente polimerizada, durante o primeiro dia de tratamento, e que os novos compostos de alto peso molecular formados começaram a ser decompostos. Entretanto, não foi encontrado nenhum produto de degradação de baixo peso molecular.

Os resultados dos trabalhos de Huynh e col. (1985) e de Pellinen e col. (1988) mostram que o fungo *Phanerochaete chrysosporium* é capaz de desclorinar os compostos de alto e baixo peso molecular dos efluentes de branqueamento. Esta habilidade é importante visto que as indústrias precisam de métodos que reduzam a carga de TOCl de seus resíduos.

Alguns problemas encontrados na operação do processo MyCor-RBC, tais como curta vida útil do fungo (5-7 dias), necessidade de alta concentração de oxigênio, e problemas com perda de biomassa, levaram Prouty (1990) a desenvolver e avaliar um processo de tratamento

alternativo, um reator aerado, que pudesse fornecer altas taxas de remoção de cor e eliminar alguns dos problemas associados ao processo RBC.

Em seus experimentos Prouty (1990) utilizou como reator um cilindro de plexiglas de 10L, com aeração e mistura realizada por um difusor de pedra fina localizado na parte inferior do reator. O reator foi operado por 56 dias, com ciclos batelada de descoloração de um dia. Sendo que a cada ciclo, o reator era drenado, os “pellets” sedimentados, o lodo retornado juntamente com efluente fresco e nutrientes ao reator, e o pH era ajustado. A solução era aerada e mantida à 40°C.

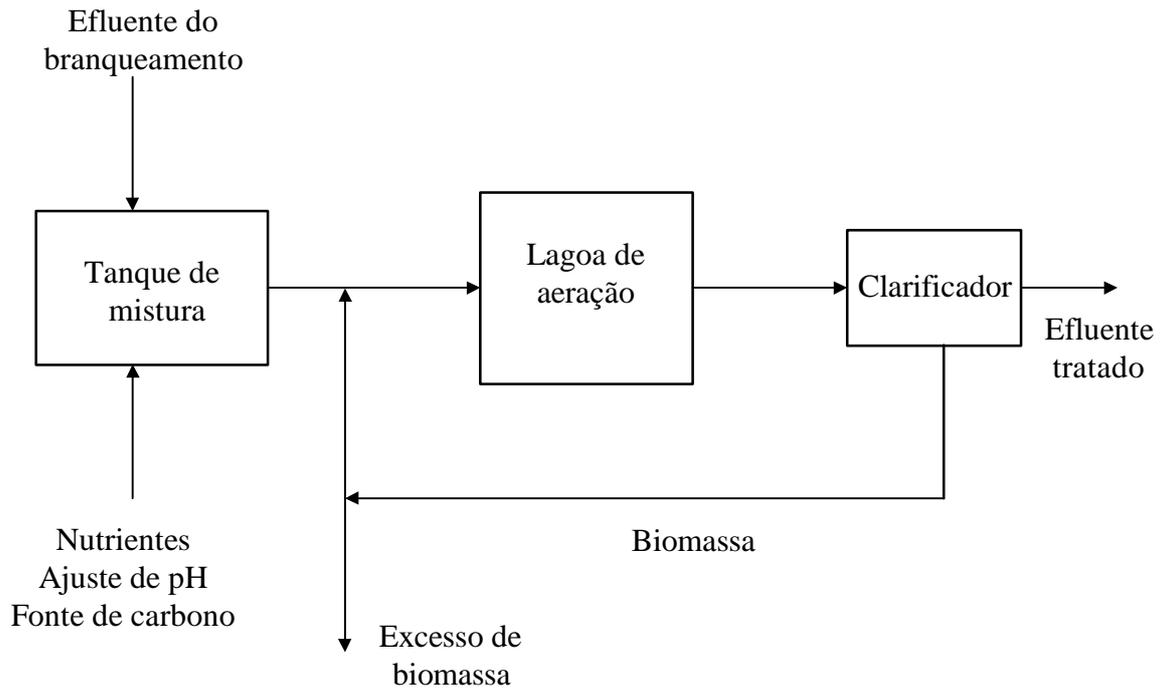
Durante os experimentos, observou-se que a maior taxa de descoloração ocorria com concentração inicial de cor maior que 6000 UC/L, sendo que a reação de descoloração pareceu ser similar à maioria dos processos biológicos, os quais são de primeira ordem à baixas concentrações e de segunda em concentrações altas. Variando-se a taxa de aeração entre 700 e 6000 cm<sup>3</sup>/min, obteve-se melhor taxa de remoção de cor à 4500 cm<sup>3</sup>/min, sugerindo uma possível limitação de oxigênio à baixas taxas de aeração. A quantidade de biomassa no reator permaneceu praticamente constante após o quinto dia de operação, e durante todo o experimento não houve colapso da biomassa. Isto demonstrou que o processo de tratamento com *P. chrysosporium* poderia ser auto-sustentável. Dos experimentos realizados, determinou-se que o processo de aeração apresentou uma taxa de remoção de cor máxima de 1300 UC/LD.

Prouty (1990) concluiu, de acordo com seus experimentos, que o reator aerado tem duas vantagens sobre o processo MyCor-RBC: o reator utiliza ar ao invés de oxigênio puro, portanto pode ser menos oneroso e menos perigoso, e o tempo de vida do fungo é maior do que no MyCor-RBC. Os resultados com o reator de bancada forneceram base razoável para a avaliação de um processo de descoloração em nível industrial.

Prouty (1990) apresentou um diagrama de fluxo hipotético para remoção de cor utilizando aeração (Fig. II.4), em que inicialmente o efluente seria acrescido de nutrientes e teria seu pH ajustado. A seguir ele entraria em uma unidade de aeração e seria descolorido, passando então por um sedimentador antes de seguir para um tratamento biológico para remoção de DBO. Os sólidos fúngicos removidos do sedimentador seriam reciclados para a unidade de aeração ou hidrolisados para serem utilizados como nutriente.

Além dos dois fungos citados acima, vários outros fungos têm sido estudados quanto à sua capacidade ligninolítica e de descoloração dos efluentes kraft.

Esposito e col. (1991) realizaram um “screening” de 51 cepas de fungos ligninolíticos, avaliando atividade ligninolítica dos fungos e sua capacidade de descoloração do efluente E1. Das 51 espécies, 25 descoloriram o efluente de forma eficiente, e entre as 25, os melhores foram: *Lentinus edodes* UEC-2019 e UEC-2021, *Pycnoporus sanguineus*, *Xylaria sp.* e *Phaeocoriolellus trabeus*. Não foi adicionada fonte de carbono ao efluente. A descoloração era mais alta quanto maior a relação lignina peroxidase/fenoxidase.



**Figura II.4** - Diagrama de fluxo para um processo de decoloração aerado para efluentes do branqueamento (Prouty, 1990).

Avaliando *L. edodes* em outros experimentos, Esposito e col. (1991) observaram que após 120h de cultivo e sob as mesmas condições, este fungo apresentou atividades enzimáticas maiores que *P. chrysosporium*, reduzindo a cor do efluente em 73%, sendo que *P. chrysosporium* apresentou 52% de redução.

Os autores verificaram que a enzima beta-glucosidase exercia importante papel na decoloração do efluente, visto que *L. edodes* apresentou alta concentração desta enzima. Também foi demonstrado neste trabalho que os fungos da podridão branca têm potencial de aplicação na decoloração do efluente E1, sem adição de fonte extra de carbono e oxigenação.

Lankinen e col. (1991) também estudaram outros fungos ligninolíticos, *Phlebia radiata* e *Merulius tremellosus*, além do *P. chrysosporium*. E, avaliaram a descoloração do efluente do branqueamento por *P. radiata*, em biorreator e em fermentador.

Quando cultivados em meio contendo efluente, os três fungos produziram enzimas ligninolíticas, lacase, oxidase, ligninaperoxidase e Mn-dependente peroxidase, e descoloriram o efluente, sendo que entre os produtores de lacase, *M. tremellosus* descoloriu o meio menos que *P. radiata*.

Durante o cultivo de *P. radiata* no biorreator em meio contendo 20% de efluente, ocorreu remoção de 33% de cor e 27% de AOX, em seis dias. Entretanto, com pré-crescimento do fungo em meio sem efluente, a remoção de AOX foi de 40%, em cinco dias no biorreator, e, em seis dias no fermentador.

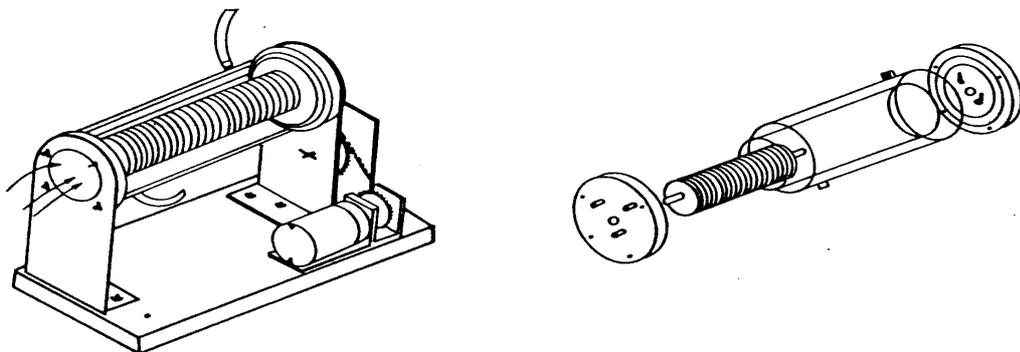
Wang e col. (1992) avaliaram o desempenho dos fungos *Ganoderma lacidum*, *Coriolus versicolor* e *Hericiium erinaceum*, no tratamento do efluente de cloração misturado ao de extração alcalina. Nas condições do experimento, *G. lacidum* e *C. versicolor* apresentaram os melhores resultados. Estes fungos diminuíram no máximo 90% de cor e 60% de halogênio orgânico total do efluente, e degradaram cloroligninas, diminuindo o peso molecular médio de 2400 para 1500 dalton, aproximadamente.

## II.4 - BIORREATORES

A seguir serão apresentados alguns biorreatores desenvolvidos, em escala laboratorial, para o tratamento de efluentes da indústria de papel e celulose.

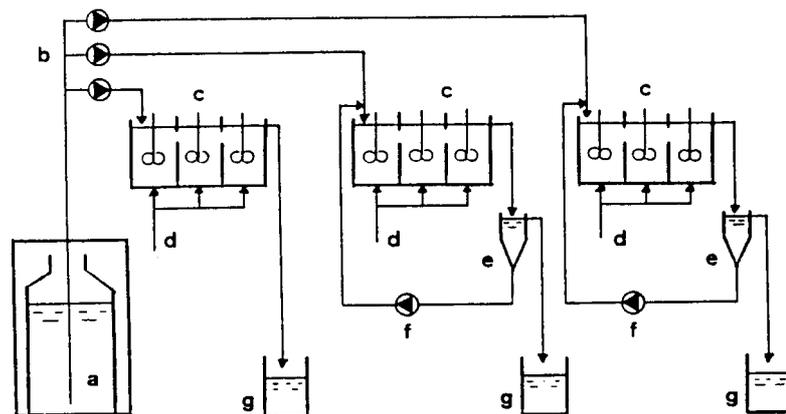
Um processo bastante conhecido é o sistema MyCor-RBC (“Mycelial Color Removal”). Este processo foi desenvolvido em conjunto pela USDA Forest Products Laboratory (Madison, Wisconsin) e pela North Caroline State University (Raleigh) e patentado, em 1987, por Chang e col. (Esposito, 1992). Neste sistema é utilizado o **Contactor Biológico Rotatório (RBC)**, onde o fungo é imobilizado em discos rotatórios, que ficam parcialmente submersos no efluente (Fig. II.5).

Foi utilizado com *Phanerochaete chrysosporium* para descolorir e desclorinar o efluente E1 (Huynh e col., 1985; Moo-Young e col., 1985; Pellinen e col., 1988). O fungo cobre a superfície dos discos como um filme fino fixo, e a rotação lenta dos mesmos promove aeração e mistura do sistema.

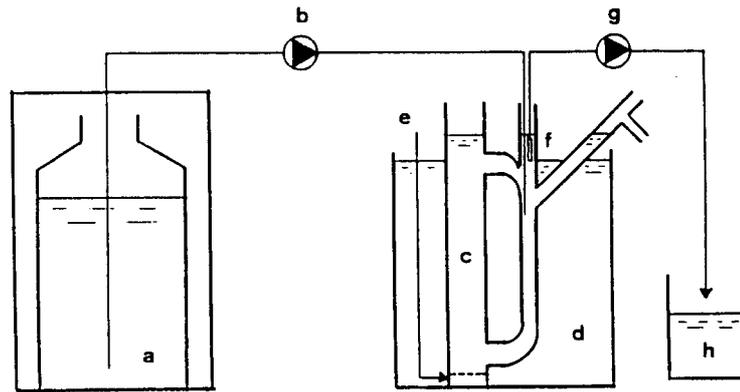


**Figura II.5** - Contactor biológico rotatório, em escala de bancada (Esposito, 1992).

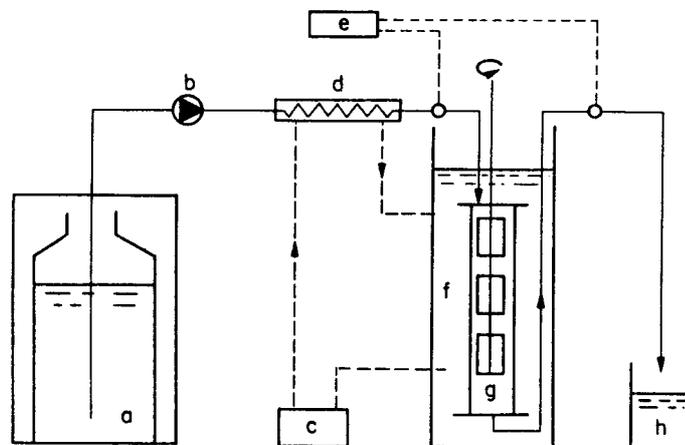
Boman e col. (1991) testaram a combinação de ultrafiltração com diferentes tratamentos biológicos para purificação dos efluentes do branqueamento. O efluente E1 foi filtrado em membrana com corte nominal de 8000 dalton, e tratado, a seguir, em lagoa aerada (Fig. II.6), reator fúngico (Fig. II.7) e filtro anaeróbico (Fig. II.8). A combinação de tratamento físico com biológico apresentou resultados bastante promissores, sendo que a lagoa aerada apresentou os melhores resultados, reduzindo 66% de AOX, 72% de DQO e 95% de DBO.



**Figura II.6** - Sistema de lagoas aeróbias. (a) Efluente a 4°C, (b) bombas de alimentação, (c) sistemas de lagoa aeróbias, (d) aeração, (e) unidades de sedimentação, (f) reciclo de sólidos e (g) coleta de efluente (Boman e col., 1991).



**Figura II.7** - Reator fúngico “airlift”. (a) Efluente a 4°C, (b) bomba de alimentação, (c) fermentador “airlift”, (d) banho termostalizado a 37°C, (e) suprimento de ar, (f) efluente, (g) bomba de efluente e (h) coleta de efluente (Boman e col., 1991).



**Figura II.8** - Filtro anaeróbio. (a) Efluente a 4°C, (b) bomba de alimentação, (c) aquecedor termostalizado, (d) trocador de calor, (e) sistema de medida de redução, (f) banho termostalizado a 30°C, (g) filtro anaeróbio com misturador lento e (h) coleta de efluente (Boman e col., 1991).

A redução de AOX e cor pelo fungo *Phlebia radiata* foi avaliada utilizando como biorreator uma garrafa de vidro de 2L. O fungo foi imobilizado em suporte plástico e o biorreator operado em regime semi-contínuo. Após um dia, ocorreu 33% de redução de cor e 10% de redução de AOX, o que sugere que os dois processos apresentam cinéticas diferentes (Lankinen e col. 1991).

Outro tipo de biorreator que utiliza o fungo imobilizado é o reator de leito recheado (Fig. II.9), utilizado por Cammarota (1991). Neste biorreator, com volume útil de 0.33L, o fungo *P. chrysosporium* foi imobilizado sobre espuma de poliuretano. Após um pré-crescimento do fungo, o reator foi operado em regime contínuo, com tempo de residência médio de 5.8 dias, promovendo 70% de remoção de cor e 64% de remoção de fenóis totais do efluente E1 durante o período experimental.

O reator de leito recheado também foi utilizado por Esposito (1992). Neste caso, foi utilizado o fungo *Lentinus edodes* imobilizado em nylon e em madeira, para descolorir e reduzir a quantidade de fenóis totais do efluente E1. O biorreator operou em batelada, sendo que a imobilização em nylon foi mais eficiente que em madeira. Após 120h, ocorreu 70% de descoloração e 36% de redução dos fenóis totais para a imobilização em nylon, e 42% e 25% de redução de cor e fenóis totais, respectivamente, para a madeira.

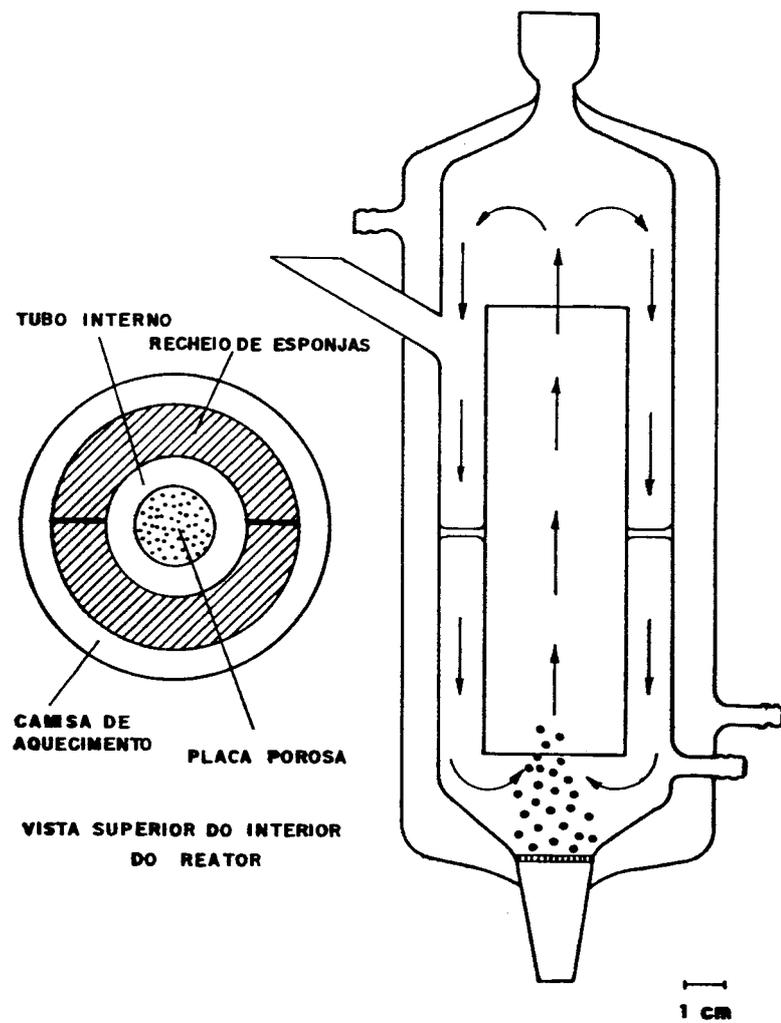


Figura II.9 - Reator de leito recheado (Cammarota, 1991).

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIAIS E MÉTODOS**

---

#### **III.1 - EFLUENTE**

O efluente utilizado nos experimentos foi o produzido pelo estágio de extração alcalina, efluente E1, da etapa de branqueamento de polpa kraft da Indústria Klabin de Papel e Celulose - Divisão Paraná (Telêmaco Borba, PR).

O efluente, após ser coletado na indústria, era filtrado para remoção de sólidos grosseiros e congelado até ser utilizado.

Foram coletadas duas amostras que apresentavam as características mostradas pela Tabela III.1.

**Tabela III.1** - Características das amostras de efluente E1 coletadas na indústria.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2
pH	9.9	9.5
DQO (mg/L)	1769.7	471.72
Cor (UC)	6628.79	6666.67
Fenóis Totais (mg/L)	78.62	40.92
Açúc. Redutores (mg/L)	não determinado	0.12
Lignina/Clorolig. (mg/L)	não determinado	42.35

### III.2 - MICRORGANISMO

O fungo utilizado no desenvolvimento do trabalho foi o *Pleurotus ostreatoroseus*, isolado n° 16 (CCBO16). Este fungo foi cedido pela Coleção de Culturas do Instituto de Botânica do Estado de São Paulo.

### III.3 - MEIO DE CULTIVO E PREPARO DO INÓCULO

O fungo foi cultivado em placas-de-petri contendo BDA (batata-dextrose-ágar) por um período de 7 a 10 dias a temperatura ambiente, na ausência de luz.

Após o período de cultivo em meio sólido (pré-inóculo), o fungo foi repicado para tubos de ensaio de 30mL contendo 10mL de meio

líquido (inóculo). O fungo foi cultivado em meio líquido, BD (batata-dextrose), por 10 dias à 30°C, na ausência de luz. Para cada tubo de ensaio foram transferidos, com auxílio de um tubo de cobre de 6mm de diâmetro, dois círculos do pré-inóculo.

O inóculo foi então transferido para erlenmeyers de 250ml contendo 90ml de meio líquido, sendo cultivado por 7 a 10 dias a 30°C, na ausência de luz, e sob agitação de 120rpm para formação de “pellets”. Ou, cultivado sem agitação, apenas para crescimento da massa micelial.

Como meio de indução do sistema enzimático do fungo, utilizou-se BDA contendo 5% de efluente, sendo os pellets formados em BD contendo 5% de efluente.

### **III.4 - EXPERIMENTOS EM REGIME BATELADA**

#### **III.4.1 - Experimentos com fungo peletizado**

Foram realizados cinco experimentos com o fungo peletizado, de acordo com as condições apresentadas pela Tabela III.2. Nestes experimentos, variou-se quantidade de fungo, agitação, indução enzimática e ajuste do pH inicial do efluente.

**Tabela III.2** - Condições dos experimentos com fungo peletizado.

Exp.	Quant. de fungo (% v/v)	Agitação	Indução	Ajuste de pH inicial
01	10	não	não	6.88
02	10	sim	não	6.70
03	20	sim	não	6.57
04	20	sim	sim	6.86
05	10	não	não	não

Após serem formados, os “pellets” foram filtrados em membrana millipore 0,45 $\mu$ m, e transferidos, nas quantidade indicadas na Tabela III.2, para o efluente.

Os ensaios foram realizados em beckers de 500mL, contendo 500mL de efluente, a temperatura ambiente por 5 dias. O pH foi ajustado com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e a agitação mantida com agitador magnético.

Durante os experimentos, foi coletado 10mL de amostra a cada 24h, para determinação de pH, DQO, cor e fenóis totais.

### III.4.2 - Experimentos com fungo em suspensão

Foram realizados três experimentos com o fungo em suspensão, os quais foram desenvolvidos da mesma forma que os experimentos com fungo peletizado.

A massa micelial formada após 5 dias de cultivo do fungo, sem agitação, foi filtrada à vácuo, e transferida para o efluente.

As condições utilizadas foram as mesmas dos experimentos 1, 3 e 5, apresentadas na Tabela III.2.

As amostras (15mL) coletadas foram utilizadas para determinação de pH, DQO, cor, fenóis totais e lignina/clorolignina.

### **III.5 - EXPERIMENTOS EM REGIME CONTÍNUO - BIORREATOR**

O biorreator utilizado para os experimentos em regime contínuo consistia de um tubo de acrílico de 22,0cm de altura e 14,0cm de diâmetro interno. O volume útil do reator era 2000ml. A Figura III.1 ilustra o módulo experimental utilizado.

A aeração do reator foi feita através de um tubo de vidro colocado no interior do reator pela sua parte superior. À extremidade do tubo foi colocado um aspersor para distribuir o ar, promovendo a mistura do meio. O ar, fornecido por um compressor, passava por um filtro para retenção de partículas de óleo e por um rotâmetro, onde sua vazão era ajustada e mantida em torno de 0,60L/min.

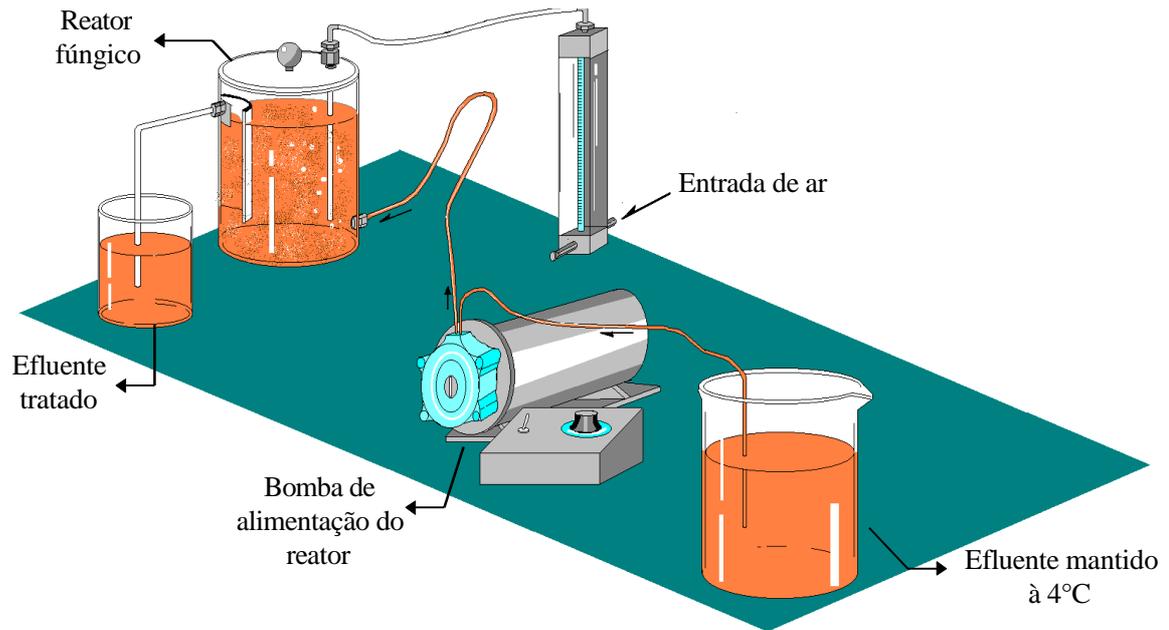
A alimentação era feita próximo à base do reator, através de uma bomba peristáltica. O efluente a ser tratado era mantido à 4°C.

O reator, assim como todas as mangueiras e recipientes utilizados no módulo experimental, eram lavados várias vezes com água fervente e álcool, antes de serem usados.

Os “pellets”, formados como descrito anteriormente, foram colocados no reator dentro de uma câmara de fluxo, previamente esterilizada, a uma proporção de 10% do volume útil do reator.

Após 1 dia de contato dos “pellets” com o efluente, iniciava-se a alimentação contínua do reator. A cada 24h, eram coletadas amostras da entrada e da saída do biorreator.

Foram realizados dois experimentos em regime contínuo. No primeiro, as amostras coletadas eram utilizadas para determinação de pH, DQO, cor e fenóis totais. E no segundo, eram feitas determinações de pH, DQO, cor, fenóis totais e lignina/clorolignina.



**Figura III.1** - Esquema do módulo experimental utilizado para os ensaios em regime contínuo.

## III.6 - MÉTODOS ANALÍTICOS

### III.6.1 - Determinação da Demanda Química de Oxigênio

A Demanda Química de Oxigênio (DQO) foi determinada de acordo com o micrométodo padrão APHA, adaptado por Tavares (1992).

Este método baseia-se na oxidação da matéria orgânica por dicromato de potássio em meio ácido (ácido sulfúrico).

### III.6.2 - Determinação de Cor

A cor foi determinada de acordo com o método padrão conforme descrito por Livernoche (1983). O efluente era filtrado em membrana Millipore 0.45µm e seu pH ajustado para 7.6 com tampão fosfato 0.1M. A absorvância do efluente era determinada a 465nm, contra água destilada.

As densidades óticas podem ser transformadas em unidades de cor, (UC) de acordo com a equação:

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

Em que,  $A_1$  é a absorvância de uma solução padrão de platina-cobalto de 500UC ( $A_{465nm}=0.132$ ), e  $A_2$  é a absorvância do efluente.

### III.6.3 - Determinação de Fenóis Totais

Os fenóis totais foram estimados colorimetricamente pelo método Folin-Ciocalteu, descrito por Scalbert e col. (1989).

Este método baseia-se na oxidação dos fenóis pelo reagente Folin-Ciocalteu, resultando na formação de um complexo azul a uma taxa proporcional à concentração de fenóis.

A formação do complexo foi monitorada pela leitura de absorvância à 760nm.

Utilizou-se fenol como padrão, e os resultados foram expressos em mg/l de fenol.

#### **III.6.4 - Determinação de Lignina/Clorolignina**

A concentração de lignina/clorolignina foi determinada segundo metodologia descrita por Wang. e col. (1992). Após a mostra ser filtrada, em membrana Millipore 0.45µm, e diluída adequadamente, sua absorbância foi lida a 280nm. A concentração de lignina/clorolignina pode ser obtida pela seguinte equação:

$$C = \frac{A}{a * D}$$

Em que, C é concentração de lignina/clorolignina (g/l), A é a absorbância a 280nm, D é o fator de diluição e *a* é a absortividade (20L/g\*cm)

#### **III.6.5 - Determinação de Açúcares Redutores**

Para determinação de açúcares redutores utilizou-se o método do DNS-Berckley/modificado (Moraes & Zanin, 1987).

Este método baseia-se na redução do ácido 3,5-dinitrosalicílico a ácido 3-amino-5-nitrosalicílico, ao mesmo tempo em que ocorre oxidação do grupo aldeído do açúcar a grupo carboxílico, com

desenvolvimento de coloração avermelhada, lida espectrofotometricamente a 600nm.

Utilizou-se glicose como padrão e os resultados forma expressos em g/L de glicose.

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

---

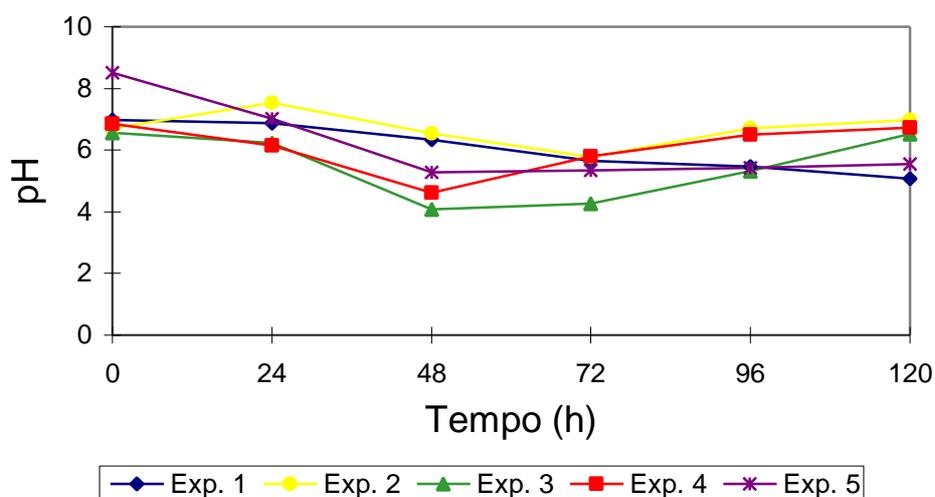
#### **IV.1 - EXPERIMENTOS COM O FUNGO PELETIZADO**

Nestes experimentos avaliaram-se os parâmetros: quantidade de fungo, agitação, indução e ajuste inicial do pH, buscando condições adequadas de operação do reator de leito turbulento, escolhido para os experimentos em regime contínuo.

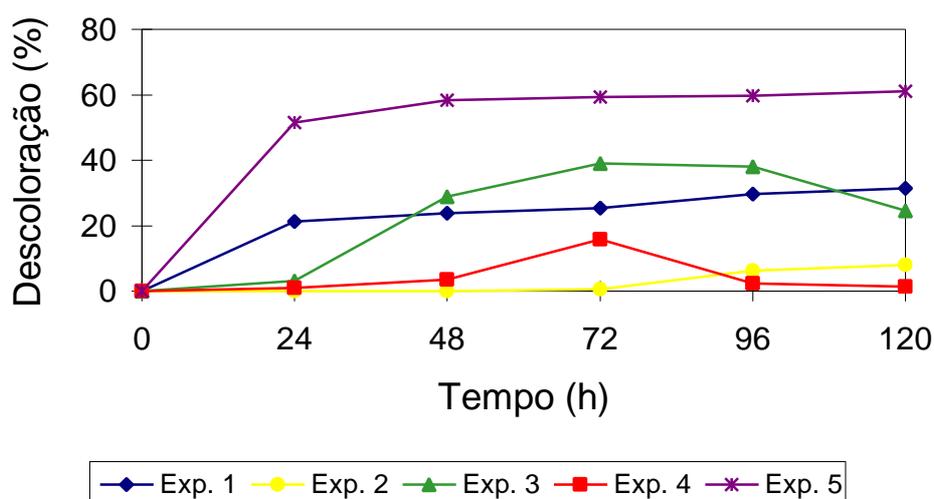
Os resultados dos experimentos, com relação a variação de pH, percentagem de descoloração e de redução de fenóis totais, são ilustrados pelas Figuras IV.1, IV.2 e IV.3.

O ajuste inicial do pH foi feito com o intuito de fornecer ao fungo um meio com pH mais próximo ao do meio de cultura, geralmente entre 6 e 7, e das condições adequadas para sua sobrevivência.

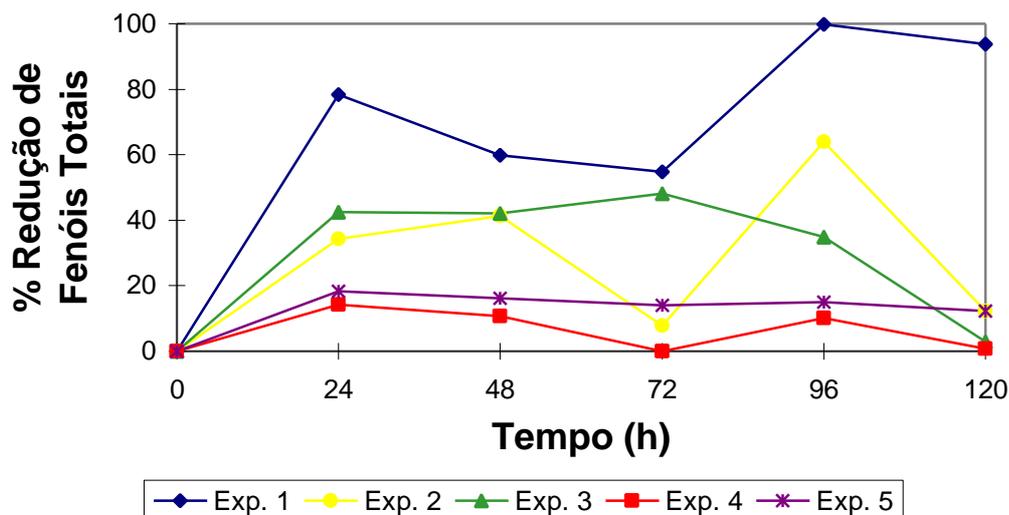
Durante os experimentos, o pH do efluente diminuiu, alcançando valores próximo a 4, ou manteve-se próximo ao valor inicial. A redução de pH pode ser atribuída à liberação no meio, pelo fungo, de substâncias com caráter ácido, ou ainda, à formação de compostos ácidos resultantes da degradação de compostos cromóforos e/ou fenólicos pelo sistema ligninolítico do fungo.



**Figura IV.1** - Variação de pH em função do tempo, em dias.



**Figura IV.2** - Redução de cor em função do tempo.



**Figura IV.3** - Redução de fenóis totais em função do tempo.

De acordo com a Figura IV.1, o pH manteve-se entre 4,0 e 7,5, sendo que dentro desta faixa ocorreram bons e maus resultados de descoloração e redução de fenóis totais. A variação do pH ao longo do experimento não influenciou de maneira significativa nem a remoção de cor nem a de fenóis totais.

Eaton e col. (1980) estudaram as condições ótimas de pH para a descoloração do efluente E1 por *Phanerochaete chrysosporium*. Os seus resultados indicaram que a descoloração era prejudicada em pH abaixo de 4,0 e acima de 5,0. Entretanto, se o fungo fosse inicialmente cultivado na faixa de pH ótimo, 4,3-4,8, a descoloração ocorria sem problemas, mesmo em valores de pH próximos a 3,0. Os autores obtiveram redução de cor em torno de 60%, para pH entre 3,0 e 5,0. Para valores de pH entre 5,0 e 7,0, a situação era menos clara visto que a descoloração fúngica resultou na formação de ácidos, os quais reduziam rapidamente o pH para

a faixa ótima, a menos que grandes quantidades de padrão fossem utilizadas.

Archibald e col. (1990) utilizaram o fungo *Coriolus versicolor* para tratar o efluente E1, e concluíram, de acordo com seus experimentos, que a descoloração do efluente E1 por este fungo requer mono- ou dissacarídeos e O<sub>2</sub>, e é ótima à 20°C e pH entre 3,9 e 4,8. A descoloração obtida estava em torno de 80%.

Observando-se os resultados dos experimentos 1 e 2, nos quais mudou-se apenas a agitação, verifica-se que o experimento 1 apresentou os melhores resultados. Após 120h, a redução de cor e fenóis totais foi, aproximadamente, 31 e 94% para o experimento 1, e 8 e 12% para o experimento 2, respectivamente. Estes resultados indicam que a agitação afetaria negativamente a redução de cor e fenóis totais, nas condições deste experimento.

Eaton e col. (1980) utilizaram ensaios agitados a 150rpm para determinação das condições ótimas de pH, temperatura, adição de fonte de carbono e nitrogênio, para descoloração do efluente E1. Cerca de 60% de redução de cor foi alcançada em 2 a 4 dias de ensaio.

De acordo com os resultados de Eaton e col. (1980), a agitação não prejudica a descoloração do efluente por *Phanerochaete chrysosporium*. E de acordo com os resultados obtidos por Archibald e col. (1990), que utilizaram ensaios agitados à 200rpm, também não há influência negativa da agitação na descoloração por *Coriolus versicolor*.

Cammarota (1991) cita que estudos, com *Phanerochaete chrysosporium*, utilizando culturas submersas agitadas em frascos erlenmeyer ou em fermentadores de tanque agitado conduzem a um bom crescimento na forma de “pellets” mas, obtém-se somente traços ou nenhuma atividade ligninase, que seria uma das enzimas envolvidas na descoloração do efluente E1.

A inibição da atividade ligninase citada acima pode ter ocorrido no experimento 2, prejudicando a descoloração do efluente e a redução dos compostos fenólicos.

Buscando-se ainda condições adequadas de operação do reator de leito turbulento escolhido, realizou-se outro experimento (experimento 3) com agitação, já que os estudos citados acima indicam que a agitação não prejudica a descoloração. Neste experimento aumentou-se a quantidade de fungo para 20%.

Analisando-se os resultados, verifica-se que o melhor resultado de remoção de cor, cerca de 39%, ocorre após 72h durante o experimento 3, indicando uma cinética de remoção mais rápida e que, mesmo com agitação, maior quantidade de fungo propicia maior percentagem de descoloração. Quanto à remoção de fenóis totais, tem-se que o experimento 2 apresenta o melhor resultado, cerca de 64%, após 96h, enquanto que no experimento 3 a maior redução foi de 48,23%, após 72h de experimento. O primeiro experimento, embora tenha sido um pouco mais lento, foi melhor do que o segundo, indicando que quantidades maiores de fungo não melhoram a remoção de fenóis totais.

Como o experimento 3 apresentou melhores resultados quanto à descoloração, manteve-se suas condições mudando-se apenas a indução. Utilizou-se no experimento 4 “pellets” preparados com meio de indução, o que teoricamente serviria para ativar o sistema ligninolítico do fungo. Comparando-se os resultados dos dois experimentos, verifica-se que o experimento 3 apresentou os melhores resultados tanto para descoloração quanto para remoção de fenóis totais, indicando que nestas condições a indução enzimática não melhora a atuação do fungo.

Estes resultados são diferentes dos obtidos por Cammarota (1991) e por Esposito (1992). Os dois autores utilizaram o fungo *Phanerochaete chrysosporium*, sendo que Cammarota (1991) utilizou como meio de indução enzimática uma mistura de efluente com vários nutrientes, e Esposito (1992) utiliza agar-extrato de malte diluído com efluente.

A utilização de meios de indução mais complexos ou mais concentrados em relação ao efluente pode ter levado aos resultados obtidos nos dois trabalhos. Esposito (1992) afirma que a indução enzimática levou a melhores resultados de descoloração. Cammarota (1991) cita que o meio de indução utilizado ativa a produção de enzimas ligninolíticas.

Neste trabalho o meio de indução foi preparado com batata-dextrose diluído com 5% de efluente. A pequena quantidade de efluente utilizado pode não ter sido suficiente para melhorar a atuação do *Pleurotus ostreoroseus*. Ou, para o sistema enzimático do *P. roseus* ser ativado é necessário um meio de indução com outra composição.

Para verificar se o ajuste inicial do pH afetaria os resultados, realizou-se o último experimento (experimento 5), nas condições do experimento 1 sem ajuste inicial de pH. Observando-se os resultados dos experimentos 1 e 5, verifica-se que o experimento 5 apresenta os melhores resultados quanto à descoloração, e que o 1 apresenta os melhores resultados de remoção de fenóis totais. Assim, o ajuste inicial de pH, afeta de maneira negativa a descoloração e positivamente a remoção de fenóis totais.

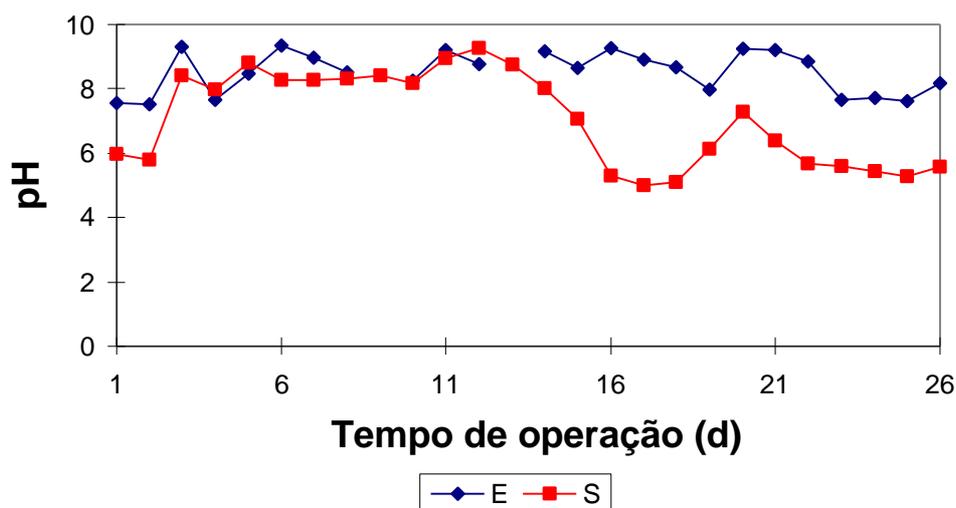
Observando-se as Figuras IV.2 e IV.3, nas quais estão representados os resultados de todos os experimentos, verifica-se que o experimento 5 apresenta os melhores resultados de descoloração, com um valor médio em torno de 58%, e 61,17% ao final de 120h; e, que o experimento 1, apresenta remoção média de fenóis totais em torno de 77%, com remoção de 99,9% após 96h.

## IV.2 - EXPERIMENTOS COM O BIORREATOR

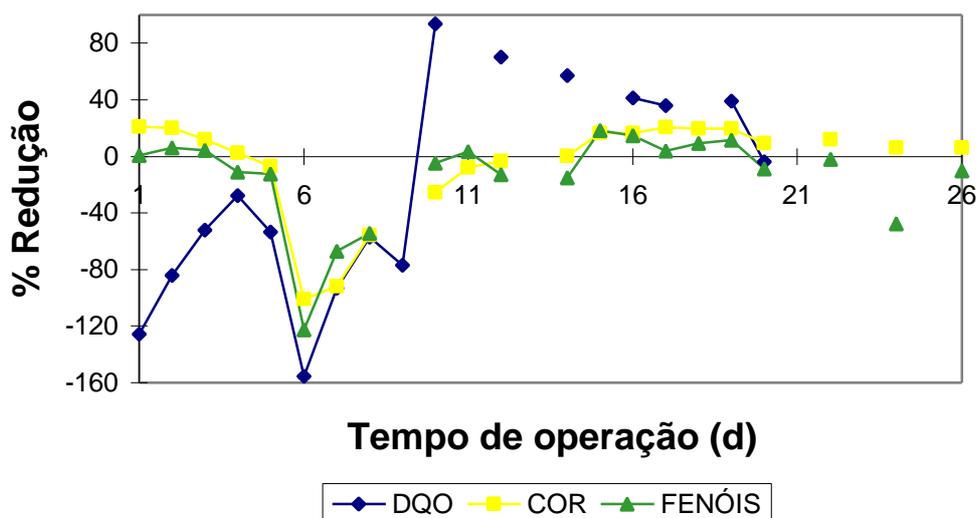
Avaliando-se os resultados obtidos com os experimentos em batelada, determinaram-se as condições de operação do biorreator, em regime contínuo, considerando-se os melhores resultados de remoção de cor.

Inoculou-se o reator com 10% de fungo, sem agitação, sem indução e sem ajuste do pH inicial do efluente, e manteve-se o fungo em contato com o efluente por 3 dias antes do início da alimentação contínua. No quarto dia, o primeiro de operação do reator, iniciou-se a alimentação contínua e a coleta de amostras para análise de DQO, cor e fenóis totais, e determinação de pH.

Os resultados obtidos com o biorreator são ilustrados pelas Figuras IV.4 e IV.5.



**Figura IV.4** - Resultados da variação de pH, na entrada (E) e saída (S) do biorreator, em função do tempo de operação.



**Figura IV.5** - Percentagem de redução de DQO, cor e fenóis totais em função do tempo de operação do biorreator. Os valores negativos indicam aumento dos valores de DQO, cor e fenóis no efluente do biorreator.

Durante todo experimento, não houve ajuste do pH do efluente a ser tratado, sendo que o pH diminuía quando o fungo estava ativo no meio, reduzindo cor e fenóis totais.

Inicialmente, o reator foi alimentado com efluente puro e mantido sem agitação durante os quatro primeiros dias de operação. Neste período, a remoção de cor caiu de 20,92% para 2,42%, e a de fenóis totais não passou de 6%, ocorrendo aumento de fenóis totais no quarto dia de experimento.

Após isto, devido à aglomeração dos “pellets” na superfície do efluente, iniciou-se a aeração, com auxílio de aspensor, diretamente no efluente. Isto propiciou a distribuição dos “pellets” por todo volume útil

do reator, entretanto, também provocou a diminuição do tamanho dos mesmos, devido aos choques entre os ‘pellets’ e contra a parede do biorreator.

Devido ao mau desempenho do biorreator, no quinto dia alimentou-se efluente diluído, na proporção de 1:2, na tentativa de diminuir a carga poluidora a ser tratada pelo fungo. Entretanto, os valores de DQO, cor e fenóis totais na saída continuaram a ser maiores do que no efluente de entrada.

Para recuperar a atividade do fungo, no nono dia alimentou-se efluente, diluído 1:2, com 10g/L de glicose. No décimo dia, a DQO ao invés de aumentar foi reduzida em 93,7%, indicando o consumo de glicose pelo fungo. Entretanto, a redução de cor e fenóis totais só voltou a ocorrer no décimo quinto dia, quando a redução de DQO estava em torno de 40%. No décimo nono dia, não houve mais redução de DQO, e considerou-se que o fungo não consumia mais a glicose adicionada. Assim, passou-se a alimentar efluente diluído sem glicose.

Entre o décimo quinto e décimo nono dia, a remoção média de cor foi de 18,6%, ocorrendo diminuição gradativa da descoloração até o último dia do experimento, quando 5,9% da cor foi reduzida pelo fungo.

Quanto aos fenóis totais, ocorreu 18,3% de remoção no décimo quinto dia, sendo que a redução diminuiu gradativamente até o décimo nono dia. Após isto houve aumento dos fenóis totais no efluente de saída do reator.

De acordo com estes resultados, verifica-se que é necessário acrescentar uma fonte adicional de carbono ao efluente. Provavelmente, em concentrações menores do que a utilizada neste experimento visto que o fungo diminuiu gradativamente o consumo, e diminuiu a redução de cor e fenóis após a retirada da fonte de carbono.

Quanto à DQO, só houve redução durante o período de alimentação de glicose, indicando que a redução era devida ao consumo de glicose pelo fungo e que a DQO relativa apenas ao efluente não diminuía. Isto poderia ter sido verificado analisando-se a quantidade de glicose na saída do biorreator.

Os resultados deste experimento, em torno de 20 e 18% de descoloração e, no máximo, 6 e 18% de remoção de fenóis, nos dois períodos de remoção, não foram tão satisfatórios quanto aos dos experimentos em batelada, que apresentaram remoção de cor e fenóis totais em torno de 61 e 99%, respectivamente. E, considerando ainda trabalhos com outros fungos em outros biorreatores, os resultados obtidos neste experimento não foram muito promissores.

Pellinen e col. (1988) utilizaram o *Phanerochaete chrysosporium* imobilizado em um RBC e obtiveram 65% de descoloração e 33% de redução de DQO, em dois dias, utilizando uma mistura de efluente com soluções nutriente e mineral, além de 10g/L de glicose.

Cammarota (1991) utilizou o *P. chrysosporium* imobilizado em espuma de poliuretana em um biorreator de leito recheado. Utilizando uma mistura de efluente diluído e nutriente, o autor obteve 70% de

descoloração, 64% de remoção média de fenóis totais e 50% de remoção média de DQO, para um tempo médio de residência de 5,8 dias.

O biorreator de leito recheado também foi utilizado por Esposito (1992), no qual o efluente E1 puro foi tratado com o fungo *Lentinus edodes* imobilizado em nylon e em madeira, em regime batelada. Após 120h de experimento com o fungo imobilizado em nylon, ocorreu 70% de descoloração, 36% de redução de fenóis totais e 67% de redução de DQO. E, após o mesmo período, a imobilização em madeira resultou em 42% de descoloração e 25% de redução de fenóis totais.

Nestes experimentos realizados com o *P. chrysosporium* em regime contínuo, sempre foram adicionadas ao efluente soluções nutriente e mineral e glicose.

No experimento em regime contínuo realizado com o *Pleurotus ostreatoroseus*, inicialmente, foi adicionado efluente puro ao reator. A seguir, o efluente foi diluído, e apenas após 10 dias de contato do fungo com o mesmo sem nenhum nutriente, o efluente foi alimentado ao reator com 10g/L de glicose. Após isto, o fungo recuperou sua atividade promovendo a remoção de cor e fenóis totais. Os resultados obtidos podem não ter sido melhores devido a demora na adição da fonte de carbono, e também devido à falta de nutrientes.

Com o intuito de melhorar os resultados obtidos, realizou-se um segundo experimento contínuo. Neste experimento, o efluente foi alimentado ao reator diluído por uma corrente de alimentação de solução

de glicose, o que resultou em efluente diluído, aproximadamente, 1:2 e com cerca de 10g/L de glicose.

A agitação foi, inicialmente, feita em shaker a 50rpm, apenas para promover a distribuição dos “pellets” por todo volume do reator. A temperatura foi mantida em 30°C e o tempo de residência foi de 2 dias.

As Figuras IV.6 E IV.7, ilustram os resultados obtidos.

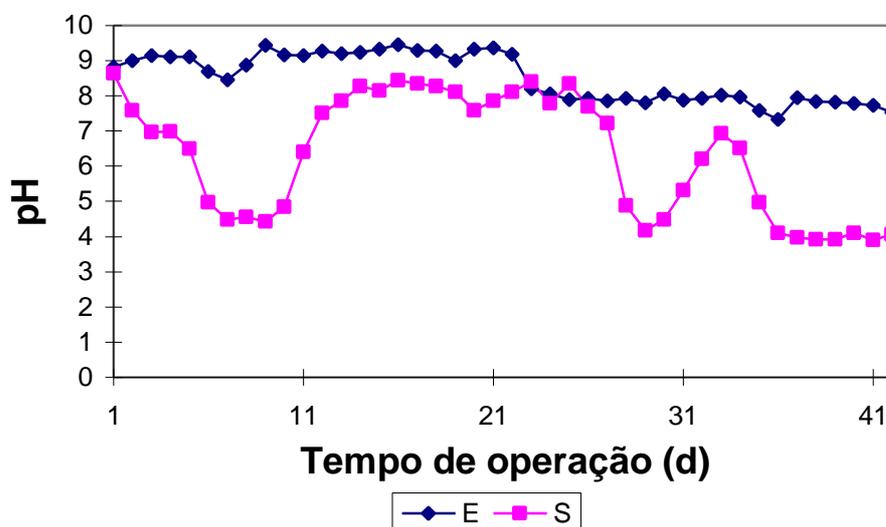
Nos primeiros seis dias de operação, apesar de o fungo estar consumindo parte da glicose alimentada, o que é indicado pela redução de açúcares redutores (AR), na Figura IV.7, não ocorreu redução de cor e fenóis totais.

A quantidade de lignina/clorolignina atingiu redução de 73.28% no segundo dia, mas após isto a redução diminuiu gradativamente até próximo de zero no quinto dia.

Quanto à DQO, neste mesmo período, verifica-se que há redução de até 60%, a qual é relativa apenas ao consumo de glicose. Isto pode ser observado considerando-se a DQO e a quantidade de AR no efluente de saída do biorreator, sabendo que 1g de glicose corresponde a 1067mg/L de O<sub>2</sub>. Fazendo a correção da DQO, considerando a glicose residual, verifica-se que ocorre aumento e não diminuição da DQO do efluente.

Como o fungo estava apenas consumindo glicose e não estava atuando sobre o efluente, passou-se a alimentar efluente puro a partir do

sexto dia de operação. A glicose presente no reator só foi totalmente consumida no décimo primeiro dia.



**Figura IV.6** - Resultados da variação de pH, do segundo experimento com o biorreator, em relação ao tempo de operação.

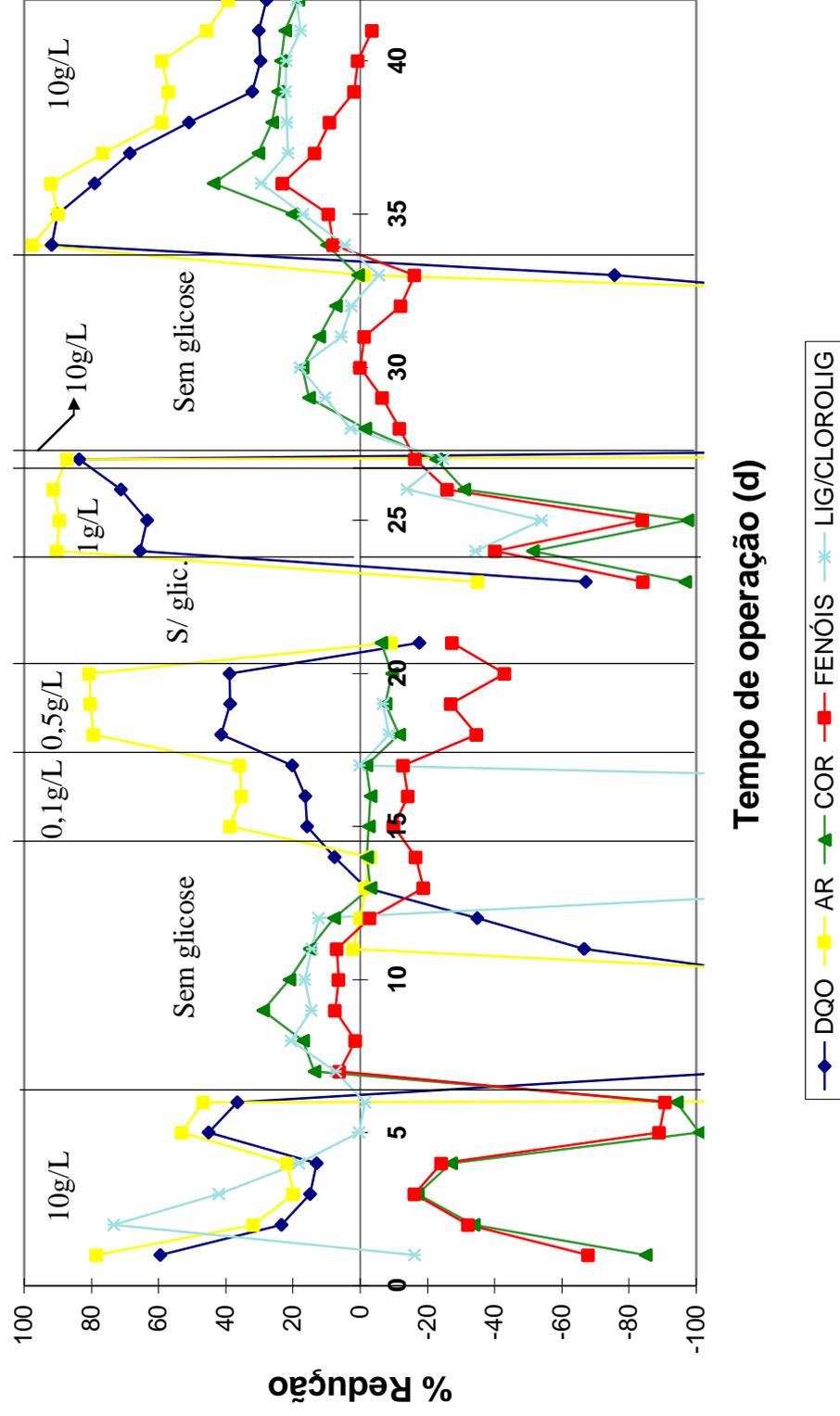
Entre o sétimo e o décimo primeiro dia, ocorreu um máximo de descoloração, no nono dia, de 29%, após o qual a redução diminuiu gradualmente. Neste período, a redução média de fenóis foi 5% e de lignina/clorolignina 15%, não considerando o valor do sétimo dia. Observando-se a Figura IV.6, tem-se que o pH diminuiu atingindo valores próximos a 4,5, o que pode ser atribuído à liberação, pelo fungo, de compostos de caráter ácido e/ou à acidificação por compostos resultantes da degradação de compostos cromóforos, fenólicos e da lignina/clorolignina.

Observando-se a Figura IV.7, verifica-se que entre o décimo segundo e o vigésimo oitavo dia não houve redução de cor, fenóis totais ou lignina/clorolignina. E, até o trigésimo terceiro não ocorreu redução e fenóis totais. O que também é evidenciado pelos valores de pH ilustrados pela Figura IV.6, que neste período apresentou um valor médio de 8,03.

Durante todo este período, tentou-se reativar o fungo acrescentando glicose ao efluente.

Entre o décimo quinto e décimo sétimo dia, alimentou-se efluente com 0,1g/L de glicose. Como não houve melhora na redução nem ocorreu diminuição do pH, e o fungo consumiu cerca de 36% da glicose alimentada, alimentou-se nos três dias seguintes efluente com 0,5g/L de glicose. Apesar do fungo passar a consumir cerca de 80% de glicose, ocorreu aumento de cor, fenóis totais e lignina/clorolignina no efluente do biorreator.

A DQO, apresentou aumento de redução durante os dois períodos, atingindo valores em torno de 40% no segundo. Entretanto, descontando-se do valor da DQO, a quantidade referente à glicose, tem-se que a redução da DQO do efluente ocorreu somente no primeiro período, em que ficou em torno de 12%.



**Figura IV.7 -** Redução de DQO, açúcares redutores, cor, fenóis totais e lignina/clorolignina em função do tempo de operação do biorreator, durante o segundo experimento contínuo. As linhas tracejadas indicam os períodos de adição de glicose e sua concentração no efluente.

Devido aos resultados negativos obtidos, no vigésimo segundo dia alimentou-se efluente diluído 1:2, e novamente, no vigésimo quarto dia, aumentou-se a concentração de glicose. Até o vigésimo sexto dia, a concentração de glicose foi 1g/L.

Apesar do efluente diluído, a cor e a concentração de fenóis e lignina/clorolignina na saída do reator aumentaram, diminuindo gradualmente até o vigésimo oitavo dia. O consumo de glicose aumentou para 89,6%, e a redução de DQO atingiu 83,72%. Novamente, descontando a DQO relativa aos açúcares redutores, tem-se cerca de 13% de remoção da DQO do efluente.

No vigésimo sétimo dia alimentou-se 10g/L de glicose, e ocorreu 83,72% de redução da DQO, sendo que apenas 40,1% dessa redução é relativa ao efluente.

Entre o vigésimo sétimo e o trigésimo terceiro dia, alimentou-se apenas efluente diluído. Neste período, aumentou a remoção de cor e lignina/clorolignina. Entretanto, apesar de ficar próximo de zero, a concentração de fenóis aumentou no efluente do biorreator. No trigésimo dia, as reduções de cor e lignina/clorolignina apresentaram valor máximo de 17,24 e 17,88%, respectivamente.

O comportamento do processo de remoção foi semelhante tanto para remoção de cor como de fenóis e lignina/clorolignina, após cessar a adição de glicose, qual seja, a decaída até o trigésimo dia para depois aumentar.

A remoção de cor, de fenóis e de lignina/clorolignina atingiram valor máximo no trigésimo sexto dia, quando foi removido 43,75% de cor, 23,08% de fenóis e 29,4% de lignina/clorolignina. Após isto, a remoção de fenóis diminuiu, atingindo valores próximos de zero. A de cor diminuiu lentamente, chegando a 18,49% no último dia de experimento; e, a de lignina/clorolignina ficou em torno de 20% nos últimos dias.

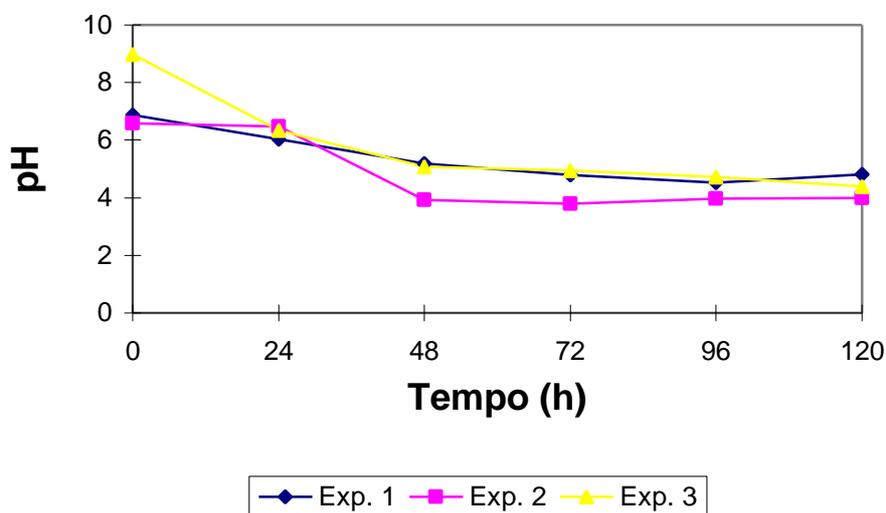
Este comportamento pode indicar que a atividade do fungo em “pellets” para o tratamento deste efluente nas condições operacionais de um reator de fluxo turbulento, necessita de choques e limitações de fonte suplementar de carbono, para que se mantenha dentro de uma faixa razoável. Estas afirmações necessitam no entanto, serem confirmadas por testes com período de duração maior.

### IV.3 - EXPERIMENTOS COM O FUNGO EM SUSPENSÃO

Estes experimentos foram realizados com o intuito de verificar o desempenho do fungo quando utilizado em suspensão, ou seja, sem ser peletizado ou imobilizado sobre qualquer suporte.

Para estes experimentos foram escolhidas as condições dos três melhores experimentos realizados com o fungo peletizado. As condições utilizadas foram, então, as dos experimentos um, três e cinco.

Os resultados obtidos com relação ao pH e às remoções de cor, fenóis totais e lignina/clorolignina, são apresentados pelas Figuras IV.8, IV.9, IV.10 e IV.11.



**Figura IV.8** - Variação de pH em função do tempo.

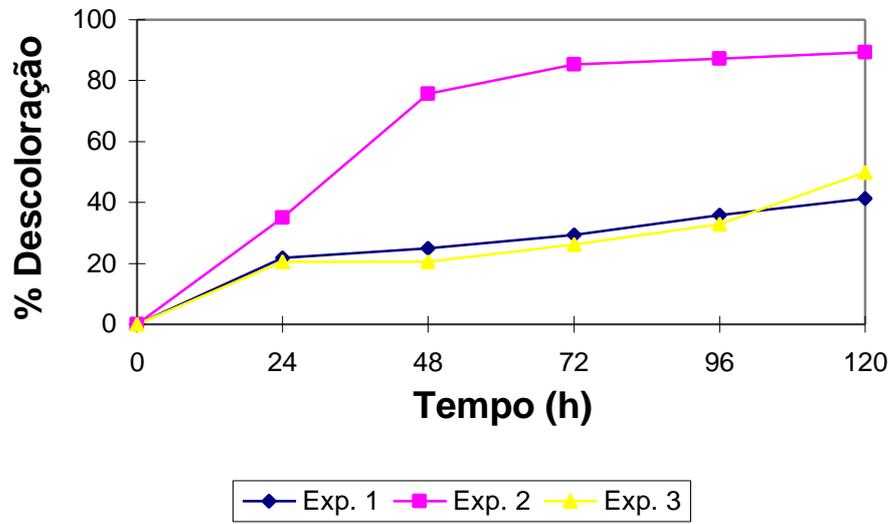


Figura IV.9 - Redução de cor em função do tempo.

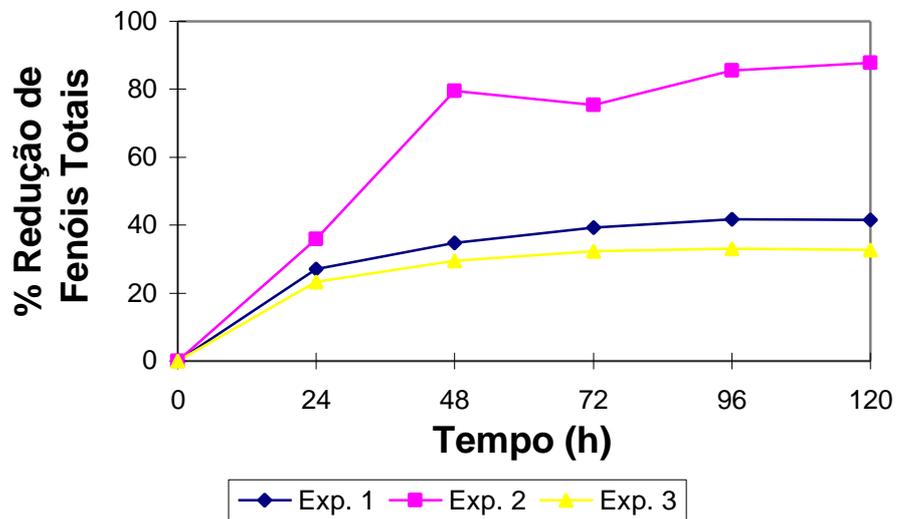
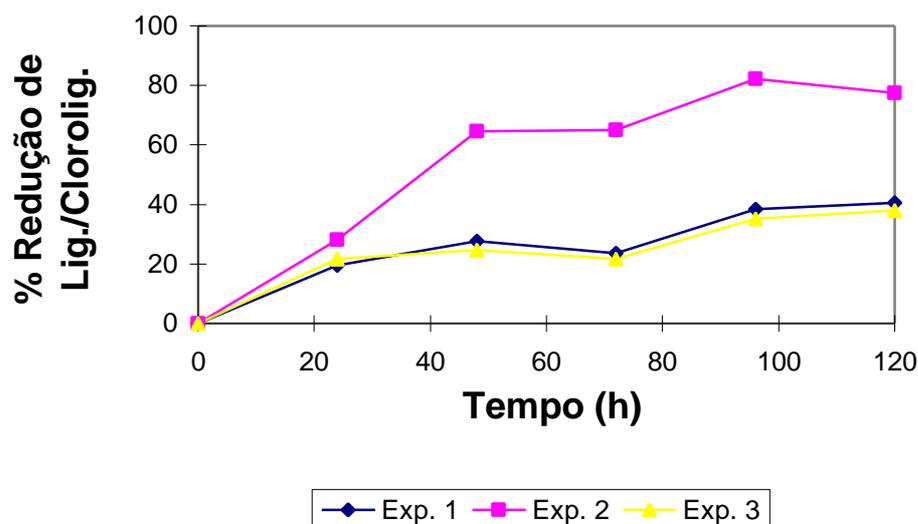


Figura IV.10 - Redução de fenóis totais em função do tempo.



**Figura IV.11** - Redução de lignina/clorolignina em função do tempo.

Nestes experimentos, o pH manteve-se entre 3,8 e 5,0, aproximadamente, após o segundo dia de experimento. Estes resultados são diferentes dos experimentos com fungo peletizado, que após o mesmo período apresentou pH entre 4,1 e 7,5, aproximadamente. Entretanto, os resultados dos experimentos com o fungo em suspensão, são comparáveis aos de outros fungos ligninolíticos, utilizados sob a forma de “pellets”. *Coriolus versicolor*, reduziu cerca de 80% da cor do efluente E1 para valores de pH entre 3,9 e 4,8 (Archibald e col., 1990), e *Phanerochaete chrysosporium* reduziu 60%, aproximadamente, para pH na faixa de 3,0-5,0, ambos sob agitação (Eaton e col., 1980).

Observando-se as figuras apresentadas acima, verifica-se que os melhores resultados obtidos com o fungo em suspensão foram os do segundo experimento, após o terceiro dia, em que o pH manteve-se entre 3.8 e 4.0, aproximadamente. Durante todo período experimental, o fungo em suspensão apresentou melhores resultados que o peletizado. Pode-se

dizer que, em um dia o fungo em suspensão atingiu o resultado obtido apenas no terceiro dia do experimento com o fungo peletizado. Além de mais rápido, o fungo em suspensão foi mais eficiente. Após 120h de experimento, obteve-se descoloração e redução de fenóis em torno de 89 e 87%, respectivamente. A redução de lignina/clorolignina foi 77.6%.

Devido à agitação utilizada no segundo experimento, todo micélio do fungo foi fragmentado, sendo transformado em pequenas partículas sedimentáveis, que foram mantidas em suspensão no efluente pela agitação. Esta fragmentação do micélio, aumentando a área de contato com o efluente, associada à maior quantidade de fungo, provavelmente, foi responsável pelos melhores resultados obtidos.

Os experimentos 1 e 3, apresentaram, além de comportamento, resultados semelhantes. Ao fim de 120h, ocorreu 41,3 e 50,0% de descoloração; 41,5 e 32,8% de redução de fenóis totais; e, 40,6 e 37,9% de remoção de clorolignina, respectivamente, para os experimentos 1 e 3.

O comportamento semelhante e os resultados próximos, não diferindo mais que 10%, indicam que o ajuste inicial do pH não interfere nos resultados, ao se utilizar o fungo em suspensão, nas condições dos experimentos 1 e 3.

Estes resultados diferem dos experimentos com o fungo peletizado, nos quais o ajuste inicial de pH afetou positivamente a descoloração e negativamente a redução de fenóis. Além disso, a descoloração e a redução de fenóis foi melhor com o fungo peletizado, nos experimentos 5 e 1, respectivamente, que foram realizados com 10% de fungo, sem

agitação e indução, sendo o experimento 5 realizado sem ajuste inicial de pH e o 1 com pH inicial igual a 6,88.

Os resultados de descoloração obtidos com o *Pleurotus ostreatoroseus* em suspensão, nas condições do segundo experimento, são melhores que os obtidos com outros fungos ligninolíticos.

Esposito (1991), obteve 73% de remoção de cor, após cinco dias de tratamento do efluente E1 diluído, utilizando *Lentinus edodes*, sem fonte adicional de carbono.

Utilizando *Coriolus versicolor*, Livernoche e col. (1983) obtiveram 60% de descoloração com o fungo em cultura líquida, e 80% com o fungo imobilizado em alginato de cálcio, utilizando efluente suplementado com glicose.

Os resultados obtidos neste experimento, também são melhores do que os obtidos por Archibald e col. (1990). Os autores utilizaram *Coriolus versicolor* e efluente com 20mM de glicose, obtendo 80% de descoloração.

O resultados de descoloração do segundo experimento, são comparáveis aos obtidos por Wang e col. (1992), que utilizaram o fungo *Ganoderma lacidum*. Em experimentos com o efluente E1 diluído e enriquecido com nutrientes e 5g/L de glicose, os autores obtiveram 88% de redução de cor, após 4 dias de tratamento.

Livernoche e col. (1983) e Archibald e col. (1990), utilizaram em seus experimentos fungo cultivado em meios enriquecidos com vários nutrientes, e efluente suplementado com glicose. Wang e col. (1992), além de meio enriquecido com vários nutrientes, utilizou efluente diluído e suplementado com nutrientes e glicose.

Nos experimentos realizados com o fungo em suspensão, utilizou-se efluente puro, sem diluição ou adição de fonte extra de carbono ou nutrientes. E, o fungo se desenvolveu em meio de cultura, BDA, sem adição de nutrientes. Considerando estes fatos, os resultados obtidos indicam que o desempenho do *Pleurotus ostreatoroseus* foi ainda melhor que resultados obtidos em outros trabalhos.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSÕES E SUGESTÕES

---

Este trabalho com o fungo *Pleurotus ostreatoroseus* que pretendia ser um ponto inicial para utilização deste, em processos de tratamento de efluentes da indústria de papel e celulose, contribuindo para o avanço na área de biotecnologia, permitiu as seguintes conclusões:

✓ Nos experimentos em batelada com o fungo peletizado, os resultados obtidos indicam que a remoção de cor é prejudicada pela agitação e pelo ajuste inicial do pH, sendo melhorada por quantidades maiores de fungo. E, a remoção de fenóis é melhorada apenas pelo ajuste inicial do pH.

✓ Os melhores resultados de remoção de cor foi obtido com 10% de fungo, sem agitação, sem indução e sem ajuste inicial do pH. E, o melhor resultado de remoção de fenóis totais, 97%, ocorreu com 10% de fungo, sem agitação, sem indução e com pH inicial igual a 6,88.

✓ Quanto aos experimentos em regime contínuo, os resultados obtidos não foram tão bons quanto os do experimento em batelada.

✓ No primeiro experimento a remoção a remoção de cor não ultrapassou 20%, e a de fenóis totais não passou de 18%. Os resultados obtidos no decorrer do experimento indicam a necessidade da adição de uma fonte extra de carbono ao efluente, provavelmente em concentrações menores que 10g/L.

✓ Durante o segundo experimento, o qual iniciou-se com adição de glicose ao efluente, os resultados melhoraram. Entretanto, não atingiram os bons resultados obtidos com o fungo em batelada.

✓ A remoção de cor, fenóis totais e lignina/clorolignina foi no máximo de 43,7, 23,0 e 29,4%, respectivamente, ocorrendo em períodos de ausência de glicose no efluente ou quando o fungo não consumia toda glicose alimentada. Isto reafirma a necessidade da fonte extra de carbono, provavelmente entre 1 e 10g/L.

✓ No decorrer do experimento, o comportamento da remoção de cor, fenóis totais e lignina/clorolignina foi semelhante, indicando que estes processos estão interligados.

✓ Durante os períodos em que houve remoção de lignina/clorolignina, cor e fenóis totais o pH manteve-se entre 3,9 e 5,0, indicando que estes processos ocorrem em meio ácido.

✓ Com relação aos experimentos com o fungo em suspensão, verificou-se que o pH manteve-se entre 3,8 e 5,0, e ainda que, os melhores resultados de descoloração, redução de fenóis e lignina/clorolignina foram 89, 87 e 78%, respectivamente, obtidos com 20% de fungo, com agitação, sem indução e sem ajuste inicial do pH.

✓ Para os experimentos com o fungo em suspensão, a maior quantidade de fungo e a agitação proporcionaram melhores resultados. E, o ajuste inicial do pH não prejudicou o desempenho do fungo.

Todos estes resultados mostram a potencialidade de utilização do fungo *Pleurotus ostreatoroseus*, para o tratamento do efluente do branqueamento da indústria de celulose e papel, sobretudo porque além de ser facilmente cultivado, seu cultivo para este fim não exigiu condições especiais, o que já o torna potencialmente aplicável para o controle de poluição. Esta pesquisa, no entanto, necessita de algumas confirmações e de otimização no processo de tratamento.

Neste sentido, são assinaladas a seguir algumas sugestões para trabalhos futuros:

✓ Estudar outras fontes de carbono a serem adicionadas ao efluente, bem como otimizar suas concentrações;

✓ Verificar o desempenho do fungo na presença de nutrientes, em experimentos contínuos, a fim de se obter um processo de tratamento auto-sustentável;

- ✓ Verificar o desempenho do reator de fluxo turbulento utilizando o fungo em suspensão;
  
- ✓ Estudar a cinética de consumo de substratos no reator de fluxo turbulento;
  
- ✓ Testar outros fungos em suspensão;
  
- ✓ Estudar a associação do tratamento fúngico do efluente E1 com outros tipos de processos de tratamento de efluente;
  
- ✓ Avaliar o desempenho do fungo em experimentos com pH abaixo de 5,0, visto o melhor desempenho deste fungo e de outros ligninolíticos em pH ácido.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

ARCHIBALD, F.; PAICE, M. G. & JURASEK, L. (1990). Decolorization of kraft bleachery effluent chromophores by *Coriolus (trametes) versicolor*. Enzyme Microb. Technol. 12: 846-853.

BOMAN, B.; EK, M.; HEYMAN, W. & FROSTELL, B. (1991). Membrane filtration combined with biological treatment for purification of bleach plant effluents Wat. Sci. Tech. 24: 219-228.

BURLA, A. M.; GARZILLO, A. M.; LUNA M.; CARDELLI, E. L. & SCHIESS A. (1992). Effects of different growth conditions on enzyme production by *Pleurotus ostreatus* in submerged culture. Bioresource Technology 42: 89-94

CAMMAROTA, M. C. (1991). Avaliação de um bio-reator fúngico para remoção de cor do efluente do branqueamento de polpa kraft. Dissertação M. Sc., ESCOLA DE QUÍMICA/UFRJ, Rio de Janeiro - RJ.

- D'ALMEIDA, M. L. O. (1981). Celulose e papel: tecnologia de fabricação da pasta celulósica. SENAI/IPT, São Paulo.
- EATON, D.; CHANG, H-M. & KIRK, T.K. (1980). Fungal decolorization of kraft bleach plant effluents Tappi 63: 103-106.
- ERIKSSON, K. E. & KOLAR, M. C. (1985). Microbial degradation of chlorolignin Environ Sci Technol 19: 1086-1089
- ESPOSITO, E.; CANHOS V. P. & DURÁN, N.(1991). Screening of lignin-degrading fungi for removal of color from kraft mill wastewater with no additional extra carbon-source Biotechnol. Letters 13: 571-576.
- ESPOSITO, E. (1992). Processos envolvidos no tratamento biológico de efluentes: utilização de um biorreator de leito recheado. Dissertação M. Sc., FEQ/UNICAMP, Campinas - SP.
- HUYNH, V-B.; CHANG, H-m.; JOYCE, T.W. & KIRK, T. K. (1985). Dechlorination of chloro-organics by a white-rot fungus Tappi Journal 68: 98-102.
- KRINGSTAD, K. P.; LINDSTRÖM, K. (1984). Spent liquors from pulp bleaching Environ. Sci. Technol. 18: 236A-248A
- LANKINEN, V. P.; INKERÖINEN, M. M.; PELLINEN, J. & HATAKKA, A. I. (1991). The onset of lignin-modifying enzymes,

decrease of AOX and color removal by white-rot fungi grown on bleach plant effluents. Wat. Sci. Tech. 24: 189-198.

LIVERNOCHE, D.; JURASEK, L.; DESROCHERS, M. & DORICA, J. (1983). Removal of color from kraft mill wastewaters with cultures of white-rot fungi and with immobilized mycelium of *Coriolus versicolor*. Biotech. and Bioeng. 25: 2055-2065.

MOO-YOUNG, M.; CAMPBELL, R. W. & HOWELL, J. A. (1985). The principles, applications and regulations of biotechnology in industry, agriculture and medicine. Pergamon Press, Ontario.

MORAES, F. F. & ZANIN, G. M. (1987). Tecnologia de imobilização de células e enzimas aplicada à produção de álcool de biomassa. Relatório n° 2, DEQ-UEM. Maringá-PR.

PELLINEN, J.; JOYCE T. W. & CHANG H-m. (1988). Dechlorination of high-molecular-weight chlorolignin by the white-rot fungus *P. chrysosporium*. Tappi journal 71: 191-194.

PROUTY, A. L. (1990). Bench-scale development and evaluation of a fungal bioreactor for color removal from bleach effluents Appl Microbiol 32: 490-493.

RAJARATHNAM, S., SHASHIREKA, M. N. & BANO, Z. (1992). Biopotentialities of the basidiomycetes Advances in Appl Microbiol 37:233-361.

- SCALBERT, A.; MONTIES, B. & JANIN G( 1989). Tannin in wood: comparison of different estimation methods J. Agric. Food Chem. 37: 1324-1329.
- TAVARES, C. R. G (1992). Tratamento aeróbio de efluentes em bio-reatores de leito fluidizado trifásico. Tese de D. Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro - RJ.
- VOSS, R. H. (1983). Chlotinated neutral organics in biologically treated bleached kraft mill effluents Environ Sci Technol 17:530-537.
- WANG, S-H.; FERGUSON, J. F. & McCARTHY, J. L. (1992). The decolorization and dechlorination of kraft bleach plant effluent solutes by use of three fungi: *Ganoderma lacidum*, *Coriolus versicolor* and *Hericium erinaceum*. Holzforschung 46: 219-223.

# ANEXOS

## ANEXO I

### Procedimento Experimental de Determinação de DQO por Micro-Método

#### REATIVOS

##### a) Solução Oxidante

Colocar em um balão volumétrico de 1000mL 10,216g de  $K_2Cr_2O_7$  seco a  $100^\circ C$ , 167mL de  $H_2SO_4$  concentrado, 33,3g de  $HgSO_4$  e 500mL de água destilada, esperar esfriar e após, completar o volume com água destilada.

##### b) Solução de Catálise

Solução de sulfato de prata em ácido sulfúrico concentrado. 10g de sulfato de prata em 1L de ácido sulfúrico concentrado.

##### c) Solução de Padronização

Preparar uma série de soluções padrão a partir de uma solução à 0,8509g KHP/L, que corresponde a uma concentração de 1000mg O<sub>2</sub>/L.

## REAÇÃO

Colocar em tubos de oxidação 1,5mL de solução oxidante (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>); 2,5mL de amostra (DQO < 600mg O<sub>2</sub>/L); 3,5mL de solução catálise. Fechar e misturar duas ou três vezes. Colocar no reator (COD-REACTOR HACH) a 150°C durante duas horas. Ler a absorbância à 600nm após ligeiro resfriamento.

Obs.: Se a mostra contiver íons Cl<sup>-</sup>, a leitura deve ser feita quando o tubo ainda estiver quente, pois os íons Cl<sup>-</sup> precipitam com prata, a frio, falseando a leitura.

## ANEXO II

### Determinação de Fenóis Totais

#### REATIVOS

a) Reativo A: Reagente de Folin-Ciocalteu diluído 10 vezes. Manter à 4°C, ao abrigo da luz.

b) Reativo B: Solução de Carbonato de Sódio a uma concentração de 75g/L.

#### PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Adicionar em tubo de ensaio: 2,5mL do reativo A

2mL do reativo B

0,5mL de amostra (FT < 80mg/L)

Tampar, agitar, e colocar o tubo, por cinco minutos, em banho-maria à 50°C.

Transferir o tubo para água fria e, a seguir, fazer leitura a 760nm. Se necessário, centrifugar a mistura antes de fazer a leitura. Para o branco utilizar água destilada no lugar da amostra.

A curva de calibração é feita com soluções aquosas de fenol, com concentração de 8 a 80mg/L de fenol, preparadas a partir de uma solução com 1g de fenol/L.

## ANEXO III

### Determinação de Açúcares Redutores pelo Método DNS-modificado

REAGENTES(PA): Ácido dinitrosalicílico

Hidróxido de sódio

Fenol

Tartarato de sódio e potássio  
( $C_4H_4O_6KNa \cdot 4H_2O$ )

Sulfito ácido de sódio ( $NaHSO_3$ ) ou sulfito de  
sódio ( $Na SO_3$ )

#### PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

✓ Preparação do reagente DNS

a) Solução 1: Dissolver, com auxílio de agitador magnético, 24g de NaOH em aproximadamente 200mL de água destilada e deixar resfriar à temperatura ambiente, ou em banho à temperatura ambiente.

b) Solução 2: Dissolver, com auxílio de agitador magnético, 8,0g de DNS (ácido monohidrato ou sal monossódico) em aproximadamente 500mL de água destilada. Dissolver o mais completamente possível.

c) Solução 3: Pesar 5,0g de fenol e dissolvê-lo em aproximadamente 80mL de água. Usar banho-maria (45-50°C) para facilitar a dissolução do fenol.

d) Solução 4: Adicionar, no agitador magnético, 15mL da solução 1 na solução 3.

e) Solução 5: Adicionar lentamente, o restante da solução 1 na solução 2 e misturar para dissolver.

f) Solução 6: Adicione 200g de tartarato de sódio e potássio na solução 5 e misture até dissolver completamente e não mais se observe liberação de bolhas e gás.

g) Solução 7: Adicionar 5g de  $\text{NaHSO}_3$ , ou 6,1g de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , na solução de fenol (solução 4) e misturar até dissolver.

h) Solução 8: Adicionar a solução 7 na solução 6 e misturar. Completar o volume para 1L de solução e misturar.

i) Filtrar a solução 8 em funil de vidro de fundo sinterizado de 100mL. Adicionar ao filtrado 5g de  $\text{NaHSO}_3$ , ou 6,1g de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , e misturar até dissolver.

j) Guardar a solução de DNS em frasco inerte, escuro, em condições mínimas de luz até uso.

Obs.: Todas as transferências devem ser quantitativas. Lavar o recipiente que as continha com pequenas porções de água destilada, cuidando para não ultrapassar o volume final de 1000mL.

✓ Preparação da Curva Padrão de Glicose

Preparar uma série de soluções padrão de glicose de 0 a 1g/L de glicose a partir de uma solução de glicose de 1g/L.

✓ Determinação de açúcares redutores

a) Adicionar em tubo de ensaio 0,5mL de amostra e 2,5mL do reagente DNS e tampar o tubo.

b) Levar os tubos a um banho de água fervente, por dez minutos, cuidando para que o nível de água esteja acima do nível de amostra nos tubos.

c) Retirar do banho fervente e colocar em um banho com água à temperatura ambiente, e deixar resfriar por 3-5 minutos.

d) Adicionar 3mL de água destilada. A cor é estável por 30 minutos.

e) Agitar em agitador “vórtex” e ler a absorbância a 600nm, zerando o aparelho com o branco preparado com água destilada.

**ANEXO IV****TABELAS REFERENTES AOS GRÁFICOS  
APRESENTADOS NO CAPÍTULO IV****Tabela IV.1 - Resultados da variação de pH em função do tempo em dias.**

<b>Tempo (dias)</b>	<b>Exp. 1</b>	<b>Exp. 2</b>	<b>Exp. 3</b>	<b>Exp. 4</b>	<b>Exp. 5</b>
<b>0</b>	<b>6,97</b>	<b>6,70</b>	<b>6,57</b>	<b>6,86</b>	<b>8,50</b>
<b>1</b>	<b>6,88</b>	<b>7,53</b>	<b>6,23</b>	<b>6,14</b>	<b>7,01</b>
<b>2</b>	<b>6,34</b>	<b>6,54</b>	<b>4,08</b>	<b>4,62</b>	<b>5,28</b>
<b>3</b>	<b>5,66</b>	<b>5,78</b>	<b>4,26</b>	<b>5,80</b>	<b>5,35</b>
<b>4</b>	<b>5,47</b>	<b>6,71</b>	<b>5,32</b>	<b>6,50</b>	<b>5,42</b>
<b>5</b>	<b>5,07</b>	<b>6,97</b>	<b>6,52</b>	<b>6,73</b>	<b>5,54</b>

**Tabela IV.2 - Resultados de descoloração (%) em função do tempo em horas.**

<b>Tempo (horas)</b>	<b>Exp. 1</b>	<b>Exp. 2</b>	<b>Exp. 3</b>	<b>Exp. 4</b>	<b>Exp. 5</b>
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
24	21,33	0,00	3,14	0,91	51,56
48	23,81	0,00	28,97	3,43	58,38
72	25,43	0,57	39,03	15,77	59,38
96	29,71	6,29	37,97	2,26	59,80
120	31,43	8,00	24,57	1,31	61,17

**Tabela IV.3 - Resultados de redução de fenóis totais (%) em função do tempo em horas.**

<b>Tempo (horas)</b>	<b>Exp. 1</b>	<b>Exp. 2</b>	<b>Exp. 3</b>	<b>Exp. 4</b>	<b>Exp. 5</b>
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
24	78,44	34,22	42,54	14,19	18,26
48	59,92	41,42	42,20	10,69	16,15
72	54,75	7,77	48,23	0,00	14,05
96	99,89	63,88	34,98	10,11	15,10
120	93,68	12,25	2,89	0,77	12,36

**Tabela IV.4 - Resultados da variação de pH em função do tempo  
(dias) de operação do biorreator.**

<b>Tempo (dias)</b>	<b>Entrada</b>	<b>Saída</b>
1	7,54	5,96
2	7,52	5,78
3	9,29	8,41
4	7,66	7,98
5	8,47	8,80
6	9,35	8,28
7	8,97	8,27
8	8,50	8,30
9	- <sup>a</sup>	8,42
10	8,23	8,18
11	9,20	8,94
12	8,77	9,27
13	-	8,73
14	9,16	8,00
15	8,64	7,05
16	9,28	5,29
17	8,90	5,00
18	8,68	5,11
19	7,99	6,12
20	9,25	7,30
21	9,19	6,38
22	8,85	5,67
23	7,65	5,59
24	7,70	5,43
25	7,61	5,25
26	8,18	5,57

<sup>a</sup>Não determinado

**Tabela IV.5 - Resultados de redução de DQO, cor e fenóis totais em função do tempo (dias) de operação do biorreator.**

<b>Tempo (dias)</b>	<b>DQO</b>	<b>Cor</b>	<b>Fenóis</b>
1	-125,49	20,92	0,81
2	-84,33	20,07	6,09
3	-51,91	11,82	4,51
4	-27,89	2,42	-11,14
5	-53,53	-7,01	-12,36
6	-155,47	-100,72	-122,46
7	-93,02	-91,92	-67,09
8	-57,30	-55,77	-54,44
9	-77,09	- <sup>a</sup>	-
10	93,70	-25,63	-4,61
11	-	-8,02	3,23
12	70,34	-3,23	-12,89
13	-	-	-
14	56,96	0,04	-15,32
15	-	16,70	18,28
16	41,15	16,35	14,69
17	35,87	20,62	4,07
18	-	19,73	9,48
19	39,01	19,51	11,68
20	-3,77	9,20	-8,99
21	-	-	-
22	-	12,02	-2,16
23	-	-	-
24	-	5,90	-47,53
25	-	-	-
26	-	5,91	-9,96

<sup>a</sup>Não determinado.

**Tabela IV.6 - Resultados da variação de pH, do segundo experimento com o biorreator, em função do tempo (dias).**

<b>Tempo (dias)</b>	<b>Entrada</b>	<b>Saída</b>
1	8,82	8,63
2	9,00	7,58
3	9,14	6,97
4	9,11	6,98
5	9,11	6,50
6	8,70	4,97
7	8,45	4,49
8	8,87	4,55
9	9,44	4,42
10	9,16	4,84
11	9,15	6,40
12	9,28	7,51
13	9,21	7,86
14	9,23	8,27
15	9,33	8,14
16	9,45	8,44
17	9,30	8,35
18	9,27	8,28
19	9,00	8,12
20	9,32	7,59
21	9,36	7,85
22	9,19	8,12
23	8,20	8,41
24	8,05	7,78

**Tabela IV.6 - Continuação.**

<b>Tempo (dias)</b>	<b>Entrada</b>	<b>Saída</b>
25	7,89	8,34
26	7,94	7,70
27	7,86	7,23
28	7,94	4,89
29	7,81	4,17
30	8,06	4,49
31	7,87	5,31
32	7,93	6,20
33	8,02	6,94
34	7,96	6,52
35	7,58	4,97
36	7,33	4,11
37	7,95	3,98
38	7,84	3,92
39	7,82	3,92
40	7,79	4,11
41	7,73	3,90
42	7,53	4,06

**Tabela IV.7 - Resultados de redução de DQO, açúcares redutores, cor, fenóis totais e lignina/clorolignina em função do tempo (dias) de operação do biorreator, durante o segundo experimento contínuo.**

<b>Tempo (dias)</b>	<b>DQO</b>	<b>Açúcares Redutores</b>	<b>Cor</b>	<b>Fenóis</b>	<b>Lignina/ clorolignina</b>
1	59,59	78,57	-84,95	-67,79	-16,17
2	23,47	31,79	-33,78	-32,08	73,28
3	15,00	19,91	-17,12	-16,23	42,08
4	12,89	21,74	-27,05	-24,10	18,22
5	45,20	53,13	-100,90	-88,99	0,43
6	36,67	46,77	-94,07	-90,78	-1,46
7	-115,33	-5941,22	13,69	6,29	7,32
8	-586,70	-2907,92	17,02	1,41	20,57
9	-540,01	-496,98	29,01	7,51	14,49
10	-133,40	-178,96	21,22	6,31	16,46
11	-66,66	2,09	15,07	6,97	14,32
12	-34,89	0,00	7,78	-2,93	12,35
13	-1,77	-1,60	-3,03	-18,89	-166,67
14	7,59	-3,08	-1,90	-16,49	- <sup>a</sup>
15	15,88	38,75	-2,46	-10,00	-
16	16,37	35,26	-3,05	-14,20	-398,31
17	20,21	35,85	-1,72	-12,77	0,20
18	41,30	79,47	-11,53	-34,70	-8,48
19	38,67	80,30	-7,51	-27,05	-6,70
20	38,96	80,63	-9,42	-42,97	-
21	-17,62	-9,31	-6,15	-27,34	-

Tabela IV.7 - Continuação.

<b>Tempo (dias)</b>	<b>DQO</b>	<b>Açúcares Redutores</b>	<b>Cor</b>	<b>Fenóis</b>	<b>Lignina/ clorolignina</b>
22	-	-	-	-	-
23	-67,22	-34,98	-96,57	-84,25	-
24	65,60	90,16	-51,35	-40,09	-34,31
25	63,38	89,54	-97,30	-84,02	-54,01
26	71,15	91,32	-30,89	-25,94	-13,87
27	83,72	87,25	-22,62	-16,42	-24,68
28	-783,45	-3006,50	-1,49	-11,81	2,80
29	-214,68	-1276,94	15,35	-6,53	10,47
30	-174,45	-732,82	17,24	0,00	17,88
31	-435,32	-471,83	12,25	-1,18	5,69
32	-184,07	-291,97	7,22	-12,03	2,68
33	-75,69	-1,10	0,74	-16,20	-5,45
34	91,90	97,58	9,93	7,97	4,58
35	90,12	89,90	20,20	9,50	17,14
36	79,06	92,07	43,75	23,08	29,40
37	68,55	76,57	30,43	13,50	21,42
38	51,06	59,03	26,28	9,09	21,81
39	32,18	57,08	24,45	1,77	22,24
40	29,74	58,97	23,64	0,70	21,97
41	30,25	45,72	22,30	-3,50	17,74
42	27,96	39,26	18,43	-	18,98

<sup>a</sup>Não determinado.

**Tabela IV.8 - Resultados da variação de pH em função do tempo em horas.**

<b>Tempo (horas)</b>	<b>Exp. 1</b>	<b>Exp. 2</b>	<b>Exp. 3</b>
<b>0</b>	<b>6,87</b>	<b>6,59</b>	<b>8,98</b>
<b>24</b>	<b>6,02</b>	<b>6,48</b>	<b>6,34</b>
<b>48</b>	<b>5,18</b>	<b>3,93</b>	<b>5,08</b>
<b>72</b>	<b>4,79</b>	<b>3,79</b>	<b>4,94</b>
<b>96</b>	<b>4,53</b>	<b>3,98</b>	<b>4,72</b>
<b>120</b>	<b>4,82</b>	<b>3,99</b>	<b>4,40</b>

**Tabela IV.9 - Resultados de descoloração (%) em função do tempo em horas.**

<b>Tempo (horas)</b>	<b>Exp. 1</b>	<b>Exp. 2</b>	<b>Exp. 3</b>
<b>0</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>
<b>24</b>	<b>21,87</b>	<b>35,00</b>	<b>20,62</b>
<b>48</b>	<b>25,00</b>	<b>75,62</b>	<b>20,62</b>
<b>72</b>	<b>29,37</b>	<b>85,31</b>	<b>26,25</b>
<b>96</b>	<b>35,94</b>	<b>87,19</b>	<b>32,81</b>
<b>120</b>	<b>41,25</b>	<b>89,37</b>	<b>50,00</b>

**Tabela IV.10 - Resultados de redução de fenóis totais (%) em função do tempo (horas).**

<b>Tempo (horas)</b>	<b>Exp. 1</b>	<b>Exp. 2</b>	<b>Exp. 3</b>
<b>0</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>
<b>24</b>	<b>27,16</b>	<b>35,97</b>	<b>23,31</b>
<b>48</b>	<b>34,79</b>	<b>79,59</b>	<b>29,56</b>
<b>72</b>	<b>39,27</b>	<b>75,36</b>	<b>32,30</b>
<b>96</b>	<b>41,76</b>	<b>85,56</b>	<b>33,05</b>
<b>120</b>	<b>41,51</b>	<b>87,80</b>	<b>32,80</b>

**Tabela IV.11 - Resultados de redução de lignina/clorolignina (%) em função do tempo horas.**

<b>Tempo (horas)</b>	<b>Exp. 1</b>	<b>Exp. 2</b>	<b>Exp. 3</b>
<b>0</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>
<b>24</b>	<b>19,60</b>	<b>28,10</b>	<b>21,61</b>
<b>48</b>	<b>27,63</b>	<b>64,58</b>	<b>24,68</b>
<b>72</b>	<b>23,61</b>	<b>65,05</b>	<b>21,61</b>
<b>96</b>	<b>38,49</b>	<b>82,29</b>	<b>35,18</b>
<b>120</b>	<b>40,61</b>	<b>77,57</b>	<b>37,90</b>