UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA
DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS

OTTO LUCAS HEINZ

APLICAÇÃO DO FUNGO DE DEGRADAÇÃO BRANCA *Pleurotus ostreatus* (EB 016) NA BIORREMEDIAÇÃO DO EFLUENTE DA INDÚSTRIA DE COMPENSADO

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO
2017

OTTO LUCAS HEINZ

APLICAÇÃO DO FUNGO DE DEGRADAÇÃO BRANCA *Pleurotus ostreatus* (EB 016) NA BIORREMEDIAÇÃO DO EFLUENTE DA INDÚSTRIA DE COMPENSADO

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de "Mestre em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos".

Professor Orientador: Dr. Márcio Barreto Rodrigues
Professor Coorientador: Dr. Mário A. A. Cunha

PATO BRANCO
2017

H472a Heinz, Otto Lucas.
Aplicação do fungo de degradação branca *Pleurotus ostreatus* (EB 016) na biorremediação do efluente da indústria de compensado / Otto Lucas Heinz. -- 2017.
72 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Barreto Rodrigues
Coorientador: Prof. Dr. Mário Antônio Alves da Cunha
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Pato Branco, PR, 2017.
Bibliografia: f. 66 – 72.

1. Fungos – Aplicações industriais. 2. Resíduos industriais – Tratamento biológico. 3. Biorremediação. 4. Águas residuais - Purificação. I. Rodrigues, Márcio Barreto, orient. II. Cunha, Mário Antônio da, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. IV. Título.

CDD (22. ed.) 660.281

Ficha Catalográfica elaborada por
Suélem Belmudes Cardoso CRB9/1630
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco

TERMO DE APROVAÇÃO Nº 58

Título da Dissertação

"Aplicação do fungo de degradação branca *Pleurotus ostreatus* (EB 016) na biorremediação do efluente da indústria de compensado"

Autor
Otto Lucas Heinz

Esta dissertação foi apresentada às 09 horas e 30 minutos do dia 23 de fevereiro de 2017, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS – Linha de pesquisa em biotecnológica – no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. O autor foi arguido pela Banca Examinadora abaixo assinada, a qual, após deliberação, considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Márcio Barreto Rodrigues
UTFPR/PB
Presidente

Profa. Dra. Vidiany Aparecida Queiroz
UTFPR/PB
Examinadora

Prof. Dr. Lucas Ricardo Marcon
UNISEP/DV
Examinador

Visto da Coordenação

Prof. Dra. Cristiane Regina Budziak Parabocz
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos - PPGTP

O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do PPGTP

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pelo dom da vida.

Aos meus pais, José Elias Heinz e Leonir Berkembrock Heinz por me proporcionarem apoio, amor e principalmente por sempre acreditarem em mim.

A minha companheira Jéssica Amorim, pela paciência, amor, companheirismo e compreensão durante todo o mestrado.

De modo especial ao meu orientador Prof. Dr. Márcio Barreto Rodrigues e coorientador Prof. Dr. Mário A. A. Cunha pelos ensinamentos, paciência, auxilio, pela amizade e confiança em mim depositada.

Aos meus amigos e colegas de mestrado por terem dividido a amizade, as conquistas e pela experiência compartilhada.

Ao pessoal do Laboratório de biotecnologia(N009), pela amizade e pela ajuda durante a realização dos experimentos em especial a Natan, Michel, Gabrielle e Vidiany.

Ao Laboratório de Qualidade Agroindustrial (LAQUA) e a central de análises por disponibilizar tempo e espaço para a realização das análises, em especial aos técnicos responsáveis pelo mesmo Roberta Roncatti, Diego Henrique e Cíntia Boeiro Batista.

A todos os professores que participam do Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Bioquímicos e do Departamento de Química, da UTFPR campus Pato Branco.

A CAPES e ao CNPq pela bolsa concedida e a oportunidade de desenvolvimento deste trabalho.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desta pesquisa, os mais profundos agradecimentos.

EPÍGRAFE

"De tudo, ficaram três coisas:
A certeza de que estamos sempre começando...
A certeza de que precisamos continuar...
A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar....
Portanto devemos:
Fazer da interrupção um caminho novo ...
Da queda um passo de dança...
Do medo, uma escada...
Do sonho, uma ponte...
Da procura, um encontro..."

(Fernando Pessoa)

RESUMO

HEINZ, O., L. Aplicação do Fungo de Degradação Branca *Pleurotus Ostreatus* (EB 016) na Biorremediação do Efluente da Indústria de Compensado. 2017. 75 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Área de conhecimento: Biotecnologia). Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2017.

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar o efluente da Indústria de Compensado e avaliar a utilização do fungo filamentoso *Pleurotus ostreatus* no tratamento deste resíduo em reator *air lift*, além de verificar a potencialidade da complementação do tratamento do efluente utilizando um POA do tipo Fenton, a fim de ajustar valores em concordância com os padrões legais estabelecidos pelos órgãos regulamentadores. O efluente bruto apresentou 12.192 ± 100 mgO_2L^{-1} de DQO, 8.849 ± 60 mgO_2L^{-1} de $DBO_{5,20}$(Demanda Bioquímica de Oxigênio), 8.333 ± 30 unidades de cor, 1.220 ± 5 mgL^{-1} de fenóis totais e pH 4,63. O teor de sólidos totais no efluente foi de 18,45 ± 0,15 gL^{-1}, sendo que desse total 2,73 ± 0,04 gL^{-1} correspondia a cinzas, 1,36 ± 0,03 gL^{-1} a lignina klason solúvel, 49 ± 3 mgL^{-1} de lignina klason insolúvel e aproximadamente 71% de toxicidade aguda expressa em inibição de *E. coli.* A espectrometria por FTIR dos sólidos do efluente indicou bandas em 3430–3440 cm^{-1}, 2938 cm^{-1}, 1603 cm^{-1}, que puderam ser atribuídas aos grupos O-H, C-H e C=C, respectivamente. O tratamento biológico utilizando o fungo *Pleurotus ostreatus* inicialmente foi otimizado em incubadora orbital (*shaker*) por meio de delineamento fatorial(2^3) obtendo-se as melhores condições reacionais para a redução da DQO (pH 5,7, concentração de sacarose 7,5 gL^{-1} e concentração de nitrato de amônio igual a 4,0 gL^{-1}). O tratamento biológico após 40 dias em reator *air lift* foi capaz de remover 87 % da DQO, 92 % da DBO_5, 73 % de fenóis totais, 36 % de cor e ainda 99 % da toxicidade aguda. A análise espectrométrica por FTIR confirmou a degradação por meio da redução de picos característicos. Apesar dos resultados do tratamento fúngico terem se apresentados bastante significativos, houve necessidade de complementação com processo Fenton, o que resultou numa redução de 99 % da DQO, 92 % do teor de fenóis e 96 % da cor do efluente. Desta forma, a biorremediação utilizando o fungo *Pleurotus ostreatus* e a combinação com o processo Fenton, apresentou resultados promissores, para enquadramento dentro da maioria dos parâmetros exigidos pela legislação.

Palavras-chave: Efluente lignocelulósicos. Tratamento fúngico, Tratamento biológico. Processos combinados. Processos Fenton.

ABSTRACT

HEINZ, O., L. Application of White rot fungi *Pleurotus Ostreatus* (EB 016) in Bioremediation of the Effluent From Plywood Industry. 2017. f. 75. Master`s Dissertation (Master`s degree in Technology Chemical and Biochemical Process. Knowledge Area: Biotechnology). The Federal University of Technological Paraná. Pato Branco, 2017.

The present work had the objective of characterizing the effluent from the Plywood Industry and evaluate the use of filamentous fungus *Pleurotus ostreatus* in the treatment in an *air lift* reactor, besides verifying the potentiality of the complementation of effluent treatment using a POA, Fenton type, in order to adjust it to the legal parameters to release it into water bodies in accord to the regulatory authorities. The brute effluent present 12.192 ± 100 mgO_2L^{-1} of COD (Chemical Oxygen Demand), 8.849 ± 60 mgO_2L^{-1} of $BOD_{5,20}$ (Biochemical Oxygen Demand), 8.333 ± 30 color units, 1.220 ± 5 mgL^{-1} of total phenols and pH 4,63. The total solids content in the effluent was 18, 45 ± 0, 15 gL^{-1}, in this total 2,73 ± 0,04 gL^{-1} corresponds to ashes, 1,36 ± 0,03 gL^{-1} soluble klason lignin and 49 ± 3 mgL^{-1} of insoluble klason lignin and approximately 71% toxicity expressed as inhibition to *E.coli*. The FTIR spectrometry of the solids of the effluent, indicated bands in 3430-3440 cm^{-1}, 2938 cm^{-1}, 1603 cm^{-1}, that could be attributed to groups O-H, C-H, C=C. The biological treatment using the fungus *Pleurotus ostreatus* was initially optimized in an orbital incubator (*shaker)* by factorial design (2^3) that getting the best reactional conditions to COD reduction (pH 5,7 and sucrose concentration of 7,5 gL^{-1} and nitrate concentration of 4,0 gL^{-1}), being estimated a reduction of 64% of COD of effluent in 10 days. The biological treatment after 40 days in optimized conditions in *air lift* was capable of remove 87 % of COD of the effluent, 92 % of the $BOD_{5,20}$, 72 % of reduction of total phenols, 36 % of color removal and acute toxicity reduced. The spectrometric analysis by FTIR confirmed the biological degradation by the correspondent peak reduction in relation to the characteristic peaks. Despite the results of fungal treatment being quite significant, there was a need of a complementation of treatment using AOP Fenton type, showing a reduction of 99 % of COD, 92 % of phenols content and 96 % effluents color. In this way, the bioremediation using the *Pleurotus ostreatus* combined with the Fenton process, presented promising results, in order to fit the majority of the parameters required by the legislation.

Keywords: Lignocellulosic effluent. Biological treatment. Fungus treatment. Combined processes. Fenton processe.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos reportados na literatura utilizando fungos filamentosos para o tratamento de efluentes. 20
Tabela 2 – Estudos reportados na literatura utilizando processos Fenton no tratamento de efluentes. 24
Tabela 3 – Parâmetros de lançamentos para efluente industriais segundo Conama 430/2011 e Cema 70/2009. 26
Tabela 4 – Esquema da realização do ensaio de toxicidade com a bactéria *E. coli*. 35
Tabela 5 – Diluições do efluente usados nos testes de inibição do crescimento radial. 35
Tabela 6 – Composição do meio mínimo de Vogel. 36
Tabela 7 – Níveis utilizados para pH, concentração de sacarose e nitrato de amônia no planejamento experimental 2^3 com arranjo tipo estrela. 37
Tabela 8 – Caracterização físico-química do efluente bruto da indústria de compensado. 39
Tabela 9 – Matriz do planejamento fatorial para o tratamento. Avaliação da influência das variáveis pH, concentração de sacarose e concentração de nitrato na remoção de DQO do efluente da indústria de compensado. 46
Tabela 10 – Efeitos, coeficientes de regressão e interações para a resposta remoção de DQO. 47
Tabela 11 – Análise de variância para a remoção da DQO para regressão do modelo apresentado na Equação 08. 48
Tabela 12 – Parâmetros físico-químicos do tratamento em condições otimizadas em tempos prolongados. 52
Tabela 13 – Resultados obtidos para ecotoxicidade aguda frente a *E. coli* do efluente em diferentes tratamentos. 61
Tabela 14 – Comparação dos resultados finais de tratamento perante a legislação brasileira. 62

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fluxograma simplificado da produção de Compensados. 16
Figura 2 – Temperatura a ser utilizada em função da densidade da madeira. 17
Figura 3 – Os três monômeros fundamentais da lignina :a) Álcool sinapílico; b) álcool coniferílico; c) álcool p-cumarílico. 18
Figura 4 – Esquema do biorreator *air lift* com (a) recirculação externa e (b) recirculação interna. 22
Figura 5 – Fluxograma das atividades desenvolvidas para o estudo da utilização do fungo *Pleurotus ostreatus* no tratamento de efluentes. 27
Figura 6 – Aspecto visual do efluente da indústria de Compensado. 28
Figura 7 – Espectro UV-Vis do efluente bruto (diluído 50x) juntamente com o padrão lignina com destaque para a região do UV. 42
Figura 8 – Espetro de infravermelho para o efluente bruto e para o padrão lignina. 43
Figura 9 – Fungos isolados do efluente da indústria de compensado: (a) fungo unicelular (levedura); (b) Fungo pluricelular (filamentoso). 44
Figura 10 – Bactéria isolada do efluente da indústria de compensado: (a) Bactéria isolada; (b) Teste de Gram. 44
Figura 11 – Gráfico de Superfície de resposta para remoção de DQO do efluente, após tratamento pelo fungo *Pleurotus ostreatus*, em função do pH (X_1) e concentração de sacarose (X_2). 48
Figura 12 – Gráfico de efeitos de cada variável (X_1, X_2 e X_3) em função da porcentagem de remoção de DQO. 49
Figura 13 – Espectro UV-Vis do efluente bruto, juntamente com o efluente tratado (10 dias), (diluição 50x). 51
Figura 14 – Espectro UV-Vis para o efluente bruto e tratado em reator *air lift*, ao longo de 40 dias, (diluição 50x) (a); Espectro UV-Vis para o efluente bruto e tratado em *shaker*, ao longo de 30 dias, (diluição 50x)(b). 55
Figura 15 – Espectro de Infravermelho para o efluente bruto e após tratamento reator *air lift*. 56
Figura 16 – Aspecto do micélio do fungo *Pleurotus ostreatus* autoclavado: a) antes do estudo de adsorção; b) após estudo de adsorção. 57
Figura 17 – Redução de DQO durante a associação biológico (*air lift* 40 dias) X POA tipo Fenton (60 minutos). 58
Figura 18 – Redução de Fenóis totais durante a associação biológico (*air lift* 40 dias) X POA tipo Fenton (60 minutos). 59
Figura 19 – Resultados dos testes de inibição do crescimento radial realizado com *P. ostreatus* em placas de Petri a) efluente tratado em *air lift;* b) controle; c) efluente bruto. 62

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
APHA	American Public Health Association
ABIMCI	Associação Brasileira da Indústria de Madeira Processada Mecanicamente
$C_6H_8O_7.\ H_2O$	Ácido cítrico monohidratado
CO_2	Dióxido de carbono
CPPA	Canadian Pulp and Paper Association
$CuSO_4.5H_2O$	Sulfato de cobre pentahidratado
°C	Graus Celsius
$DBO_{5,20}$	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DDT	1,1,1-tricloro-2,2-di (4-clorofenil) etano
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$	Sulfato de amônio ferroso hexahidratado
Fe_2O_3	Óxido de ferro (III)
g	Grama
gcm^{-3}	Grama por centímetro cúbico
H_3BO_3	Ácido bórico anidro
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
KH_2PO_4	Fosfato de potássio monobásico anidro
mL	Mililitros
$MgSO_4.7H_2O$	Sulfato de magnésio heptahidratado
$mg\ O_2\ L^{-1}$	Miligrama de oxigênio dissolvido por litro
$MnSO_4.H_2O$	Sulfato de manganês monohidratado
$Mol.L^{-1}$	Mol por litro
Mo_8O_{23}	Óxido de molibdênio
N	Normalidade
$Na_2MoO_4.2H_2O$	Molibidato de sódio dihidratado
$Na_3C_6H_5O_7.5H_2O$	Citrato de sódio pentahidratado
NH_4NO_3	Nitrato de amônia anidro
nm	Nanômetro
$OD_{inicial}$	Oxigênio dissolvido inicial
OD_{final}	Oxigênio dissolvido final
·OH	Radical hidroxila
pH	Potencial Hidrogênionico
PO_4	Fosfato
POA's	Processos oxidativos avançados
Rpm	Rotação por minuto
SST	Sólidos Solúveis Totais
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta-Visível
$\mu S\ cm^{-1}$	Microsiemens por centímetro
W_8O_{23}	Óxido de tungstênio
$ZnSO_4.7H_2O$	Sulfato de zinco heptahidratado
%	Porcentagem
$\lambda_{máx}$	Comprimento de onda máximo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13
2 OBJETIVOS 15
2.1 OBJETIVO GERAL 15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 15
3 REFERENCIAL TEÓRICO 16
3.1 A INDÚSTRIA DO COMPENSADO 16
3.2 PROCESSOS DE TRATAMENTO BIOLÓGICO 18
3.2.1 Biorremediação com Fungos Filamentosos 19
3.2.2 Utilização do fungo do Gênero *Pleurotus* em Biorremediação 20
3.2.3 Biorreatores *Air lift* 21
3.3 PROCESSOS DE TRATAMENTO TERCIÁRIO 22
3.3.1 Processos Oxidativos Avançados do Tipo Fenton 23
3.4 INTEGRAÇÃO DE PROCESSOS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES 24
3.5 LEGISLAÇÃO AMBIENTAL PARA LANÇAMENTO DE EFLUENTES 26
4 METODOLOGIA 27
4.1 COLETA DO EFLUENTE 28
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE 28
4.2.1 Analise de pH 29
4.2.2 Série de Sólidos 29
4.2.3 Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO) 29
4.2.4 Determinação de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO_5) 30
4.2.5 Razão de Biodegradabilidade (DBO_5/DQO) 30
4.2.6 Determinação de Fenóis Totais 31
4.2.7 Série Nitrogenada 31
4.2.8 Determinação de Cor 31
4.2.9 Espectroscopia UV-Visível (UV-Vis) 32
4.2.10 Espectroscopia no Infravermelho (FT-IR) 32
4.2.11 Determinação de Lignina 32
4.2.12 Isolamento de Microrganismos Autóctones 33
4.2.13 Determinação da Ecotoxicidade Aguda Utilizando *Escherichia coli* 34
4.2.14 Determinação da Toxicidade Aguda do Efluente Através da Inibição do Crescimento Radial do Fungo *Pleurotus ostreatus* 35

4.3 TRATAMENTO BIOLÓGICO UTILIZANDO *P. ostreatus* 36
4.3.1 Cepa Fúngica 36
4.3.2 Preparo e Padronização do Inóculo 36
4.3.3 Biotratamento do Efluente em Agitador Orbital (*Shaker*) 37
4.3.4 Estudo da Adsorção Micelial 37
4.3.5 Biotratamento do Efluente em Reator *Air lift* 37
4.4 ASSOCIAÇÃO DO PROCESSO OXIDATIVO AVANÇADO DO TIPO FENTON AO PROCESSO BIOLÓGICO 38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 39
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE 39
5.1.1 Caracterização Físico-Química do Efluente 39
5.1.2 Determinação de Microrganismos Autóctones 43
5.1.3 Aspecto Ecotoxicológico do Efluente 45
5.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL APLICADO A REDUÇÃO DE DQO 45
5.2.1 Analise Estatística do Delineamento Experimental 46
5.2.2 Redução de Cor e Fenóis Totais 50
5.3 BIOTRATAMENTO EM CONDIÇÕES OTIMIZADAS 51
5.3.1 Parâmetros Físico-químicos Avaliados Durante o Tratamento 52
5.3.2 Redução da Cor e de Absorbância 54
5.3.3 Avaliação da Degradação de Compostos do Efluente Via Análise do Infravermelho 55
5.3.4 Estudo da Adsorção Micelial 56
5.4 ASSOCIAÇÃO DO TRATAMENTO FÚNGICO COM PROCESSO OXIDATIVO AVANÇADO DO TIPO FENTON 58
5.5 ASPECTO ECOTOXICOLÓGICO DO EFLUENTE BRUTO E TRATADO 61
5.6 ASPECTOS LEGAIS DO EFLUENTE TRATADO 62
6 CONCLUSÃO 64
7 PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS 65
8 REFERÊNCIAS 66

1 INTRODUÇÃO

Entre os problemas ambientais, a poluição das águas é um dos mais preocupantes, sendo que os mais diferentes setores industriais, contribuem para este problema, incluindo, a indústria madeireira (indústria de papel e celulose, indústria de compensado, serrarias), que além de utilizar recursos naturais, geram resíduos sólidos diversos (maravalha, serragem), gasosos (material particulado) e efluentes líquidos.

Na indústria de compensados são gerados efluentes líquidos durante o processo de cozimento das toras, o qual auxilia na obtenção de lâminas com composição mais uniformes após o processo de laminação. O volume de efluente gerado é dependente do processo de ~~o~~ cozimento (vapor direto ou indireto) e da quantidade de toras processadas. Quanto a composição, tal efluente apresenta alta carga orgânica e quantidade elevada de compostos fenólicos derivados da lignina, sendo estes tipicamente biorecalcitrantes aos sistemas de tratamento convencionais como as lagoas de estabilização.

A pressão da opinião pública e o crescimento da consciência e responsabilidade ambiental, tem estimulado o desenvolvimento de pesquisas focadas em tratamentos mais eficientes, buscando atingir os padrões de qualidade para lançamento de efluente em corpos hídricos.

Processos biotecnológicos eficazes para tratamento de efluentes são cada vez mais requisitados, pois, além de apresentarem boa eficiência também podem proporcionar redução de custos. Nesse sentido, a utilização de fungos de degradação branca tem se mostrado eficiente na remoção da cor, redução da demanda química de oxigênio (DQO) e dos fenóis totais em efluentes da indústria de celulose e papel, que assim como as águas residuárias da indústria de compensado, pertencem a categoria de efluentes lignocelulósicos. A redução de tais parâmetros se deve ao sistema enzimático único que inclui uma vasta gama de enzimas ligninolíticas (SHIRKAVAND et al., 2016). Dentro desta classe de fungos, o *Pleurotus ostreatus* tem se destacado em diversas aplicações como: biorremediação de solo contaminado com DDT (PURNOMO et al., 2010), remediação de efluente sintético contendo heptacloro (PURNOMO et al., 2013), remediação de efluentes petroquímicos (PALLI et al., 2014), remediação de efluente contendo Bisfenol A (ZHANG et al., 2015), remediação de bifenil policlorados (ŠRÉDLOVÁ; KŘESINOVÁ; CAJTHAML, 2016). Entretanto, as potencialidades de bioprospecção do *P. ostreatus* no tratamento de efluente da indústria de compensado tem sido pouco explorada.

Embora o tratamento de efluentes com fungos de degradação branca possam ser vantajosos em relação às tecnologias convencionais, também podem apresentar limitações relacionadas principalmente às dificuldades de reduzir altos níveis de carga orgânica, levando muitas vezes à incompleta degradação dos fragmentos de lignina, exigindo em alguns casos tempos elevados de tratamento e promovendo o acúmulo de intermediários reacionais no efluente tratado. Nestas condições, alguns especialistas recomendam o uso de Processos Oxidativos Avançados (POA's) como alternativa de tratamento terciário.

Os POA´S são definidos como processos que envolvem espécies radicalares de alto poder oxidante e baixa seletividade, possibilitando a degradação/mineralização de um grande número de substâncias recalcitrantes em tempos relativamente curtos. Estes radicais podem ser formados em diferentes processos, sendo estes classificados em homogêneos e heterogêneos (EPA, 1998, TEIXEIRA; JARDIM, 2004), e sua utilização como tratamento complementar a processos biológicos vem se mostrando eficaz em diversos estudos, como na remediação de pesticidas (BALLESTEROS MARTÍN et al., 2009), no tratamento de águas residuárias de vinícolas (SANTOS et al., 2014) e no tratamento de efluentes da indústria da celulose (FERNANDES et al., 2014).

Nesse contexto, foi avaliada a capacidade de degradação do efluente da indústria de compensado pelo fungo de degradação branca *Pleurotus ostreatus* em reator *air lift* e sua associação a um processo oxidativo avançado do tipo Fenton.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a capacidade de degradação do efluente da indústria de compensado utilizando o fungo de degradação branca *Pleurotus ostreatus* em reator *air lift* e sua associação a um processo oxidativo avançado do tipo Fenton.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar o efluente da indústria de compensado quanto aos parâmetros: pH, série de sólidos, demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio ($DBO_{5,20}$), razão de biodegradabilidade, fenóis totais, série nitrogenada (nitrogênio amoniacal, nitratos, nitritos, nitrogênio total), espectroscopia UV-visível, espectroscopia de Infravermelho FTIR, lignina solúvel e insolúvel e ecotoxicidade;

Otimizar o tratamento biológico do efluente utilizando o fungo *Pleurotus ostreatus* em ensaios conduzidos em incubadora orbital (*shaker*);

Avaliar a necessidade e potencialidade da complementação do tratamento do efluente utilizando um processo oxidativo avançado (POA) do tipo fenton;

Caracterizar os efluentes tratados quanto aos parâmetros DQO, fenóis totais, cor e ecotoxicidade.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A INDÚSTRIA DO COMPENSADO

Compensado é o nome dado a um painel constituído de lâminas de madeira sobrepostas de forma cruzadas entre si, as quais são unidas por adesivos e/ou resinas, através da utilização de pressão e calor (ABIMCI, 2009). A ampla utilização do compensado se deve a suas características mecânicas e sua adaptação a diferentes usos, desde aplicação na construção civil até o uso na indústria moveleira.

A fabricação do compensado é relativamente simples, conforme demonstrado no fluxograma da Figura 1. A matéria-prima (toras de pinus, eucalipto ou madeira tropical), inicialmente armazenada em pátio aberto e submetidas ao cozimento. O tempo de aquecimento ideal para obter uma laminação adequada da madeira, varia conforme a densidade e diâmetro das toras, temperatura do vapor, método aplicado (vapor direto ou indireto) e a eficiência do processo de aquecimento. A temperatura ideal de cozimento para cada espécie é definida em função da sua massa específica, conforme demonstrado na Figura 2.

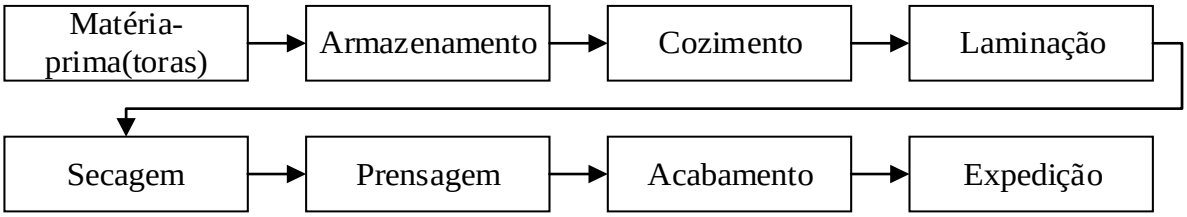


Figura 1 – Fluxograma simplificado da produção de Compensados.
Fonte: autoria própria.

Após o cozimento, as toras seguem para o torno laminador, onde são transformadas em lâminas, em seguida, são secas em secador aquecido com vapor da caldeira. Posteriormente seguem para as guilhotinas-para adequação do tamanho e seguem para o setor de compensados. As lâminas secas, são coladas umas às outras formando o compensado, com a disposição das lâminas em camadas, em sentidos opostos. A seguir, são levados à prensa, esquadrejadeira, lixadeira e em seguida, são levadas para as seções de acabamento, classificação, embalagem e expedição.

O cozimento das toras tem a finalidade de tornar a madeira mais flexível, por meio de mudanças físicas na lignina (estrutura responsável pela rigidez à madeira) e liberação de parte dos extrativos da madeira, o que atua reduzindo alguns defeitos inerentes à madeira,

minimizando desta forma, a ocorrência de fendas superficiais e a aspereza da lâmina durante o processo de corte, além disso há melhora no processo de laminação (REMADE, 2004).

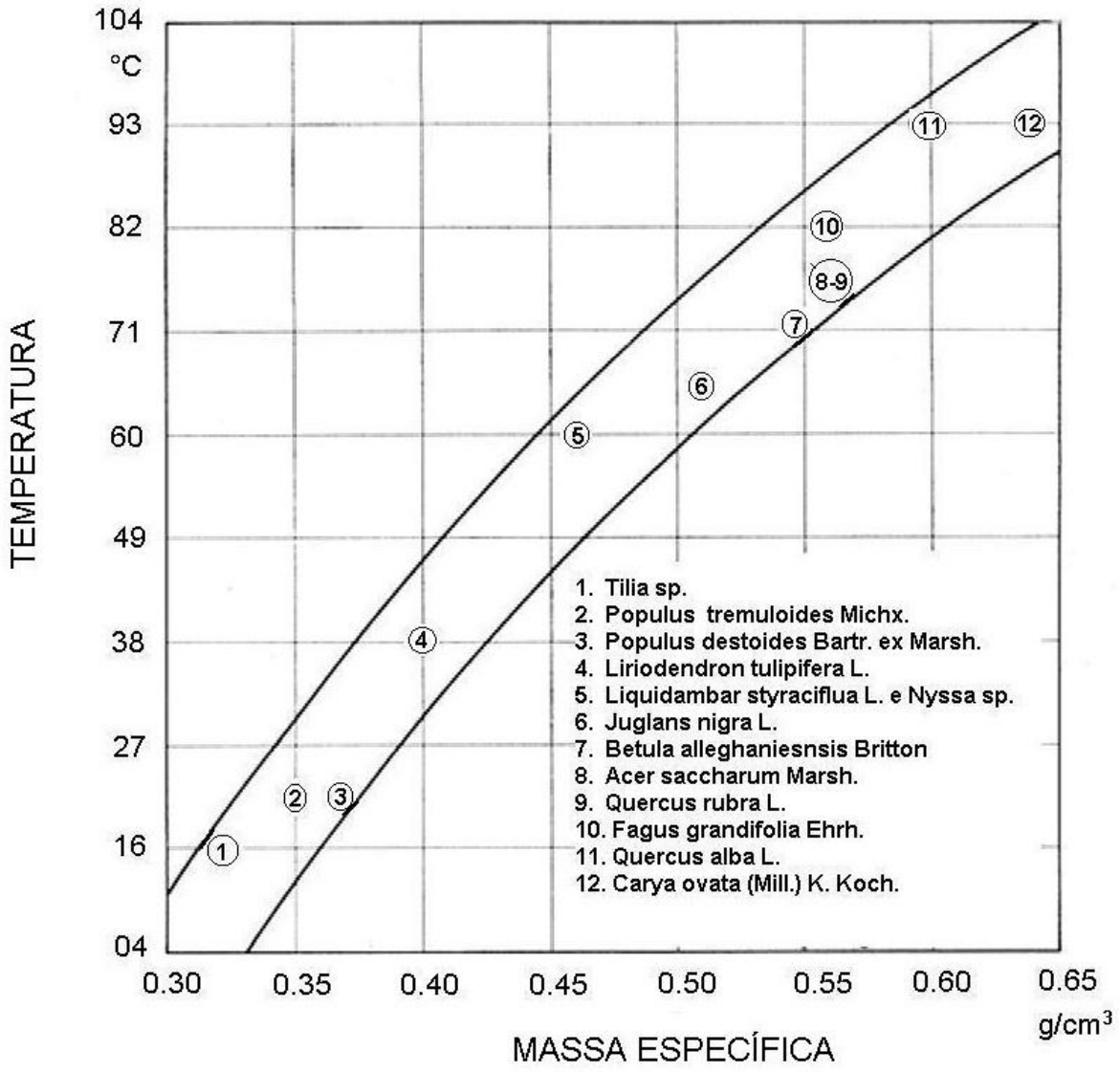


Figura 2 – Temperatura a ser utilizada em função da densidade da madeira.
Fonte: Iwakiri, (2005).

A lignina é uma macroestrutura fenólica, amorfa, tridimensional, associada à celulose na parede celular tendo como função conferir rigidez, impermeabilidade e resistência a ataques microbiológicos e mecânicos aos tecidos vegetais, além de ser um dos compostos naturais mais recalcitrantes na natureza e quimicamente complexa. A lignina tem como base estrutural unidades de fenil-propano (álcool sinapílico, álcool coniferílico e álcool p-cumarílico), conforme Figura 3, sendo o terceiro componente mais abundante na madeira, variando entre 15 e 35% de seu peso. (COHEN; PERSKY; HADAR, 2002, LUPOI et al., 2015).

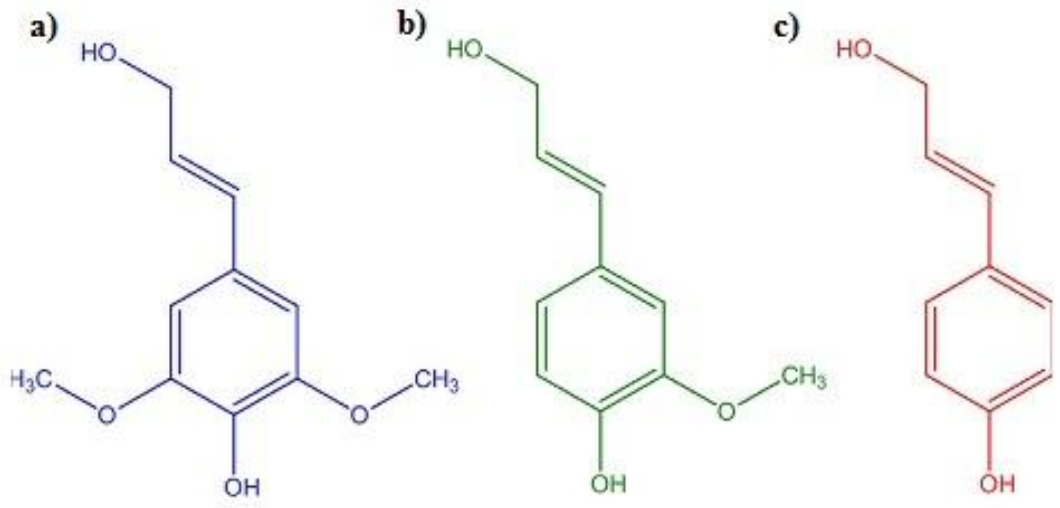


Figura 3 – Os três monômeros fundamentais da lignina :a) Álcool sinapílico; b) álcool coniferílico; c) álcool p-cumarílico.
Fonte: (LUPOI et al., 2015).

Os efluentes da indústria de compensado gerados na etapa de cozimento das toras, são geralmente tratados por métodos convencionais (lagoas de estabilização) que podem contribuir para uma redução significativa da demanda bioquímica de oxigênio ($DBO_{5,20}$), sólidos suspensos totais (SST) e toxicidade. No entanto, estes métodos têm se mostrado ineficiente para a remediação de compostos biorecalcitrantes presentes neste tipo de efluente (BARRETO-RODRIGUES, AGUIAR, CUNHA, 2009).

3.2 PROCESSOS DE TRATAMENTO BIOLÓGICO

Biorremediação é definida como a técnica que utiliza organismos vivos para o tratamento de ambientes contaminados, visando a redução de poluentes a níveis não detectáveis, não tóxicos ou aceitos pela legislação ambiental (SALVI, 2011). Sendo assim, qualquer processo que envolva a utilização de bactérias, fungos ou plantas na remoção ou degradação de contaminantes do meio, é considerado biorremediação (HUANG et al., 2017). Alguns exemplos de técnicas de biorremediação são: atenuação natural, lagoas de estabilização, bioestimulação, bioenriquecimento, biofiltros, bioventilação, *Landfarming*, compostagem e biorreatores (LITCHFIELD, 2005, HUANG et al., 2017).

Lagoas de estabilização são os sistemas de tratamento biológicos mais comumente empregados. Neste caso, a estabilização da matéria orgânica é realizada pela oxidação bacteriana e redução fotossintética por algas, levando a degradação de componentes complexos em compostos mais simples (CO_2, água e minerais). A utilização deste tipo de

tratamento de efluentes busca reproduzir os fenômenos biológicos em reatores projetados, e sua classificação é realizada em função de como a matéria é degradada em: lagoas anaeróbias, lagoas facultativas, lagoas aeradas e lagoas de polimento (VON SPERLING, 1996). O sistema de lagoas é muito utilizado no tratamento de efluentes da agroindústria.

3.2.1 Biorremediação com Fungos Filamentosos

Apesar da ampla aplicação dos diferentes tipos de lagoas de estabilização no tratamento de efluentes, sua utilização é restrita, pois há demanda de grandes áreas, e elevado estresse ambiental causado por baixos teores de nutrientes, pH, elevadas concentrações dos contaminantes e grande variação da temperatura ao longo do ano. Estes parâmetros fazem com que o sistema de tratamento possa não apresentar a eficiência projetada. Diante disso estudos utilizando fungos basidiomiscetos em biorremediação tem sido conduzidos, pois mesmo sobre condições de estresse ambiental, tais microrganismos conseguem manter sua atividade enzimática, de modo a degradar compostos orgânicos e compostos recalcitrantes (LITCHFIELD, 2005).

Os fungos são capazes de decompor os componentes de madeira, sendo divididos em três grupos, conforme sua morfologia: fungos de degradação branca, marrom e branda (BARRETO-RODRIGUES; AGUIAR; CUNHA, 2009). Os fungos de degradação branca, decompõem com velocidades similares os três componentes da madeira – lignina, celulose, hemicelulose. Tal habilidade deve-se ao fato de produzirem diversas enzimas extracelulares lignocelulolíticas, principalmente lacases, manganês peroxidase e peroxidases versáteis, sendo capazes de atuar sobre vários compostos xenofóbicos com características lignolitícas (ALEXANDRINO et al., 2007, ŠRÉDLOVÁ; KŘESINOVÁ; CAJTHAML, 2016).

Industrialmente estes fungos filamentosos são de suma importância, pois apresentam inúmeras aplicações, tais como: a ação direta sobre a madeira~~,~~ como uma etapa de pré-tratamento aos processos de fabricação de celulose e papel, até processos que usam os fungos decompositores de materiais lignocelulósicos como agentes indutores da degradação de compostos xenobióticos, tanto em solos contaminados ou em efluentes industriais e na produção de enzimas (AGUIAR; FERRAZ, 2011).

Na literatura são encontrados diversos trabalhos utilizando fungos para a biorremediação de diferentes efluentes, sendo alguns descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Estudos reportados na literatura utilizando fungos filamentosos para o tratamento de efluentes.

Tipo de efluente	Condições de tratamento	Eficiências observadas	Referência
Efluente da Indústria de Celulose e Papel	*Merulius aureus*, *Phlebia* sp, *Fusarium sambucinum* em incubadora orbital (*shaker*) , em 4 dias de tratamento.	78% de redução de cor, 79% de redução de lignina e 89% de redução de DQO.	MALAVIYA; RATHORE, (2007)
Efluente da indústria de Compensado	*Lentinula. edodes* UEC 2019 em incubadora orbital (*shaker*) em 30 dias de tratamento.	92% de remoção de compostos fenólicos 97% da cor e 99% da DQO.	BARRETO-RODRIGUES; AGUIAR; CUNHA, (2009)
Efluente da Indústria de Celulose e Papel	*Emericella nidulans* em incubadora orbital (*shaker*) em 24 horas de tratamento.	71 % de remoção de cor e redução de 60% da toxicidade.	SINGHAL; THAKUR, (2009)
Efluente de branqueamento de papel	*Trichoderma harzianum* em em incubadora orbital (*shaker*), em 12 das de tratamento.	91,2 % da redução de DBO_5 e 88,1% da redução de DQO.	SADHASIVAM; SAVITHA; SWAMINATHAN, (2010)
Efluente de branqueamento de papel	*Trametes pubescens* em incubadora orbital (*shaker*), em 10 dias de tratamento.	87% da remoção de carbono orgânico total.	BÓTIA; RODRIGUEZ; SARIA, (2012)
Efluente de polpa kraft	*Geotrichum candidum* em incubadora orbital (*shaker*), em 10 dias de tratamento.	77% de redução de cor	SHINTANI; SHODA, (2013)
Efluente da Indústria de Celulose e Papel	*Phanerochaete chrysosporium* em biorreator, em 7 dias de tratamento.	78% de remoção de cor e 98% de remoção de DBO_5, 98% de redução de DQO.	SHARARI, et al., (2013)
Efluente da Indústria de Celulose e Papel	*Serratia liquefaciens* em incubadora orbital (shaker), em 144 horas de tratamento.	72% de remoção de cor, 85% de remoção de DQO e 95% de redução de fenólicos.	HAQ et al., (2016)

Fonte: autoria própria.

3.2.2 Utilização do fungo do Gênero *Pleurotus* em Biorremediação

Os fungos do gênero *Pleurotus*, são conhecidos como cogumelos ostra e possuem cerca de 40 espécies pertencentes a este gênero, ocupando o terceiro lugar (25 %) na produção mundial. Exemplos desta espécie incluem o *Pleurotus florida*, *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus sajor-caju* e *Pleurotus ostreatus.* Este último é conhecido como shimeji e contem altas quantidades de proteínas, carboidratos, sais minerais, vitaminas e baixo teor de gordura, sendo um cogumelo muito importante comercialmente (MAITY et al., 2011; PURNOMO et al., 2010; WANG et al., 2015).

Os microrganismos do gênero *Pleurotus* de modo geral são encontrados em florestas tropicais e subtropicais de todo o mundo, podendo ser cultivados artificialmente, devido à sua capacidade de degradar uma ampla variedade de substratos que contêm celulose,

hemicelulose e lignina e utilizando no seu desenvolvimento, pois possui um complexo enzimático composto de celulases, hemicelulases, legninases, peroxidases, lacases, proteases, entre outras enzimas (FERNANDES et al., 2014).

São encontrados na literatura alguns estudos que reportam o uso do gênero *Pleurotus* em biorremediação. Kamida et al. (2005) estudaram a biorremediação de efluente sintético (corante têxtil – índigo) com *Pleurotus sajor-caju*, e obtiveram o em 14 dias de tratamento a total remoção da cor do meio. Purnomo et al. (2010) estudaram a biorremediação de solo contaminado com 1,1,1-tricloro-2,2-di(4-clorofenil) etano – DDT utilizando o fungo *Pleurotus ostreatus*, tais autores verificaram que em 28 dias de incubação houve 80% de remoção do inseticida de solo não esterilizado. Hadibarata; Kristanti, (2013) estudaram a biorremediação de efluente sintético de fluoreno utilizando o fungo *Pleurotus eryngii*, e durante de 23 dias de tratamento obtiveram total remoção do contaminante. Purnomo et al. (2013) estudaram a remediação de efluente sintético contendo heptacloro, utilizando o fungo *Pleurotus ostreatus* em incubadora orbital (*shake*r) em 14 dias houve total remoção do contaminante. Palli et al., (2014) estudaram a remediação de efluentes petroquímicos com *Pleurotus ostreatus*, sendo verificada eficiência de remoção de até 70%, com 20 a 24% da remoção atribuída à adsorção micelial. Zhang et al., (2015) estudaram a remediação de efluente bisfenol A por *Pleurotus ostreatus* e o fungo degradou eficientemente 10 mgL^{-1} de bisfenol A, em 7 dias. Šrédlová; Křesinová; Cajthaml, (2016) estudaram a remediação de bifenil policlorados, obtendo 72 a 80% de remoção do conteúdo total de bifenil policlorados, após uma semana de tratamento com o fungo *Pleurotus ostreatus*.

3.2.3 Biorreatores *Air lift*

Biorreator pode ser definido como um reator no qual irá ocorrer uma série de reações catalisadas por biocatalisadores (enzimas ou células), podendo ser classificados em função do tipo do biocatalizador utilizado (reatores enzimáticos e reatores biológicos); da disposição do biocatalizador no meio (livres ou imobilizados); ou da dinâmica de agitação do líquido no mesmo (agitação mecânica ou pneumática) (SCHMIDELL; FACCIOTTI, 2001).

Os biorreatores de agitação pneumática se caracterizam basicamente pela ausência de agitador mecânico, podendo o líquido ser agitado pelo borbulhamento de gás (normalmente ar) ou recirculação do líquido. O reator do tipo coluna de bolhas apresenta

movimentação aleatória do meio e o reator tipo *air lift* possui movimentação cíclica do líquido dentro do reator.

Os reatores *air lift* (Figura 4) são classificados em dois tipos principais: a) reator de recirculação externa, em que a circulação do meio ocorre em tubo separado do tubo ao qual está sendo injetando ar, b) reator de recirculação interna o qual apresenta um tubo interno onde é injetado o ar que flui para o topo do reator, e o espaço anular onde o líquido flui para baixo (AL-MASHHADANI, WILKINSON, ZIMMERMAN, 2015).

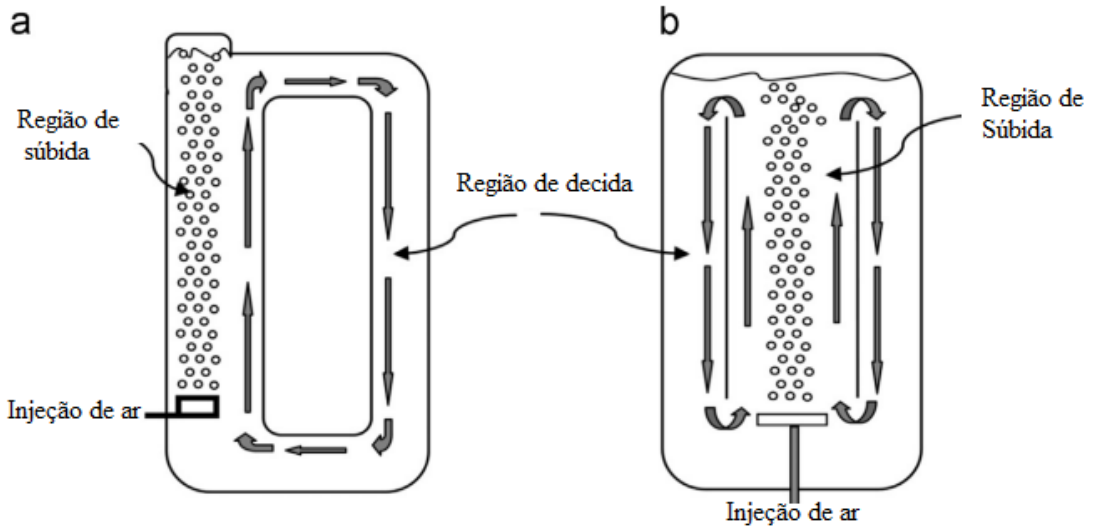


Figura 4 – Esquema do biorreator *air lift* com (a) recirculação externa e (b) recirculação interna.
Fonte: Modificado de (AL-MASHHADANI, WILKINSON, ZIMMERMAN, 2015).

O reator *air lift* é amplamente utilizado devido a suas características hidrodinâmicas e transferência de massa e energia, não causando grandes danos de cisalhamento, em relação aos reatores tradicionais de tanque agitado e colunas de bolhas (DRANDEV, PENEV, KARAMANEV,2016). Levando em consideração estes fatos, o tratamento de efluentes com o fungo *Pleurotus ostreatus* em reator *air lift* pode ser uma boa alternativa de estudo, devido à engenharia do reator e, principalmente, pelos resultados promissores de estudos já realizados.

3.3 PROCESSOS DE TRATAMENTO TERCIÁRIO

Os processos de tratamento terciário objetivam a remoção de compostos de difícil degradação ou a remoção complementar de poluentes não removidos pelo tratamento aplicado anteriormente (VON SPERLING, 1996).

Entre os processos que podem ser aplicados como processos complementares de tratamento, estão a adsorção, a floculação e a precipitação. A adsorção consiste na retirada de compostos orgânicos da matriz de interesse pelo princípio da adsorção dos mesmos na matriz adsorvente, sendo produzidos muitas vezes, resíduos sólidos perigosos cuja, disposição final poderá causar problemas ambientais. A floculação e a precipitação química, também são bons métodos de tratamento terciário, os quais, frequentemente geram lodos de difícil destinação (TEIXEIRA; JARDIM, 2004). Outra alternativa que apresenta grande potencial para ser utilizado como tratamento terciário é a tecnologia de membranas, porém as elevadas pressões de trabalho e os custos de manutenção podem dificultar algumas aplicações.

A característica comum dos processos de tratamento supracitados é que os mesmos se fundamentam em processos não destrutivos, ou seja, não degradam os poluentes presentes no efluente, mas sim os transferem para um nova fase, a qual deverá conter toda a carga de contaminação para posterior remediação ou disposição adequada. Uma tecnologia que contorna este problema e tem ganhado destaque são os processos oxidativos avançados (POA's), que são reportados como métodos capazes de degradar efetivamente os constituintes orgânicos do efluente, mostrando-se, em condições ideais, eficaz até mesmo para a mineralização de compostos refratários, obtendo como produto final apenas CO_2 e H_2O (SOTORRIVA, 2006).

3.3.1 Processos Oxidativos Avançados do Tipo Fenton

Os processos oxidativos avançados - POA's - são definidos como processos que envolvem espécies transitórias de elevado poder oxidante e baixa seletividade, como o radical hidroxila (·OH) que possui alto poder oxidante (E^0=2,73V), possibilitando a degradação de um grande número substâncias recalcitrantes, em compostos orgânicos menores ou mineralizando-os completamente em dióxido de carbono (CO_2) e água (H_2O), em tempos relativamente curtos (RIBEIRO et al., 2015, WANG et al., 2016). Sua eficiência é atribuída a fatores termodinâmicos, pois há um elevado potencial de redução envolvido no meio, e fatores cinéticos, pela elevada velocidade das reações radicalares (MORAIS, 2005).

Dentre os vários processos oxidativos avançados (POA's) existentes, destaca-se o processo Fenton o qual apresenta baixo custo, ausência de toxicidade dos reagentes utilizados no processo e a simplicidade operacional. Sendo descrito pela primeira vez no ano de 1894, onde foi relatado que o peróxido de hidrogênio poderia gerar radicais hidroxilas ao entrar em

contato com íons ferro (II) (Equação 1) na oxidação do ácido tartárico (GAMA, 2012, NOGUEIRA et al., 2007, BABUPONNUSAMI; MUTHUKUMAR, 2014).

O sistema Fenton está baseado na geração de radicais hidroxila a partir da reação entre um sal ferroso e peróxido de hidrogênio, em meio ácido (Equação 1), onde cada mol de peróxido de hidrogênio gera um mol de radicais livres. A cinética desta reação é favorecida, tendo uma constante k = 76 $mol.L^{-1}s^{-1}$, à 30 °C e pH 3 (NOGUEIRA et al., 2007).

$$Fe^{+2} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{+3} + (OH)^{-} + \cdot OH \qquad \text{Equação 1}$$

Nesse contexto, diversos trabalhos realizados utilizando o reagente Fenton são reportados na literatura, conforme pode ser visto na Tabela 2.

Tabela 2 – Estudos reportados na literatura utilizando processos Fenton no tratamento de efluentes.

Tipo de efluente	Condições de tratamento	Eficiências observadas	Referência
Efluentes de tratamento de madeira	$[Fe^{2+}]_0$ = 812 mgL^{-1}; $[H_2O_2]_0$= 5646 mgL^{-1}, sob irradiação	Descoloração de 97,59% a 660 nm	BORBA, SOTTORIVA, MÓNDENES, (2008)
Efluente da indústria de papel e celulose	$[Fe^{2+}]_0$=530 mgL^{-1}; $[H_2O_2]_0$= 2183 mgL^{-1}.	Redução de 60 % de DQO	HERMOSILLA et al., (2012)
Efluente da indústria de papel e celulose	$[Fe^{2+}]_0$= 50 mgL^{-1}; $[H_2O_2]_0$= 50 mgL^{-1}.	Remoção de 36 % de COT	LUCAS et al., (2012)
Efluente da indústria de papel e celulose	$[Fe^{2+}]_0$= 500 mgL^{-1}; $[H_2O_2]_0$= 1000 mgL^{-1}.	Redução de 60 % de DQO	SEVIMLI et al., (2012)
Efluentes de tratamento de madeira	$[Fe^{2+}]_0$=25 mgL^{-1}; $[H_2O_2]_0$= 25 mgL^{-1}, múltiplas adições ao longo da reação; reação a 120°C.	Remoção de 80% de COT	MUNOZ et al. (2014)

Fonte: autoria própria.

3.4 INTEGRAÇÃO DE PROCESSOS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES

A integração de processos consiste em tratamentos que se complementem na redução dos níveis de contaminantes presentes em efluentes industriais, de modo a permitir o descarte e/ou reuso da água, respeitando a legislação ambiental. Fernandes et al. (2014), relatam que a indústria de papel e celulose gera efluentes contendo compostos orgânicos biodegradáveis de elevado peso molecular e também matéria orgânica recalcitrante de baixo peso molecular, sendo assim, a aplicação de um único processo de tratamento dificilmente obterá sucesso. Novas tendências concentram-se na incorporação de tratamento alternativos,

como processos avançados de oxidação (AOP), que podem ser capazes de remover compostos recalcitrantes, aumentado sua biodegrabilidade ou como etapa de complementar ao efluente de modo a aumentar a eficiência global do tratamento.

A utilização dos POA’s está sendo muito estuda, pois estes podem eliminar ou modificar compostos recalcitrantes favorecendo uma maior eficiência na aplicação de processos biológicos como tratamento subsequente (MÉNDEZ et al., 2015).

Porém, quando efluentes apresentam alta carga orgânica o custo de aplicação dos POA’s se torna demasiadamente elevado, sendo desta forma recomendado a aplicação de um tratamento biológico convencional de baixo custo inicialmente e caso não seja obtidos os parâmetros previstos pela legislação, é recomendável a utilização dos POA’s como polimento para viabilizar o reuso ou o lançamento de efluentes (HUANG et al., 2017).

Barreto-Rodrigues et al. (2009) realizaram um estudo associando processo oxidativo avançado fotocatalítico e tratamento fúngico para tratar efluentes da indústria de nitrocelulose. Estes autores observaram que a aplicação do tratamento fúngico seguido do tratamento fotocatalitico foi mais eficiente, removendo 62% do carbono orgânico total (COT) do efluente, do que a associação de tratamento fotocatalítico seguido do tratamento biológico, que removeu 49 % do COT do efluente.

Merayo et al. (2013) realizaram um estudo associando POA`s e tratamento biológico (lodo ativado) para tratar efluentes da indústria de reciclagem de papel, caracterizados com elevada concentração de matéria orgânica e baixa recalcitrância. Os autores reportaram que a aplicação do tratamento biológico seguido de POA foi 10% mais eficaz que a associação de POA seguido de tratamento biológico, que removeu 80 % da DQO do efluente.

Neste contexto, diversos trabalhos são reportados na literatura utilizam das diferentes combinações de processos de tratamento do tipo POA`s e biológico em diferentes matrizes. Santos et al. (2014), estudaram o tratamento de efluentes de vinícolas com a combinação de tratamento biológico utilizando *Cryptococcus laurentii* e o POA tipo Fenton. Méndez et al. (2015), avaliaram a detoxicação de efluente sintético contendo fenol, formaldeído e fenol-formaldeído utilizando POA’s e tratamentos biológicos e suas combinações. Rodrigues et al., (2016) estudaram a combinação de coagulação química, POA do tipo foto Fenton e processo biológico no tratamento de efluente da indústria de álcool.

3.5 LEGISLAÇÃO AMBIENTAL PARA LANÇAMENTO DE EFLUENTES

No Brasil, os parâmetros para lançamento de efluentes em meios aquáticos, são regulamentados pela resolução Conama 357/2005, que foi complementada e alterada pela resolução 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA (BRASIL, 2011).

A legislação Conama 430/2011, além de estabelecer parâmetros físicos e químicos para lançamento de efluentes, conforme Tabela 3, também, estabelece que o mesmo não deverá causar ou possuir efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, devendo os testes de ecotoxicidade utilizar organismos aquáticos de pelo menos dois níveis tróficos diferentes, sendo que, os critérios de ecotoxicidade devem ser estabelecidos pelos órgãos estaduais competentes. (BRASIL, 2011).

A legislação Federal brasileira não apresenta valores específicos de lançamento para DQO e DBO_5 especifico para este tipo de indústria, porém o Conselho Estadual do Meio Ambiente (CEMA) do Paraná, através da Resolução Cema 70/2009, estabelece parâmetros de DQO (300,0 mgO_2L^{-1}) e $DBO_{5,20}$ (50,0 mgO_2L^{-1}) e ecotoxicicidade para o lançamento da indústria de papel e celulose. Em função da similaridade do efluente estudado adotaremos estes como parâmetros de lançamento.

Tabela 3 – Parâmetros de lançamentos para efluente industriais segundo Conama 430/2011 e Cema 70/2009.

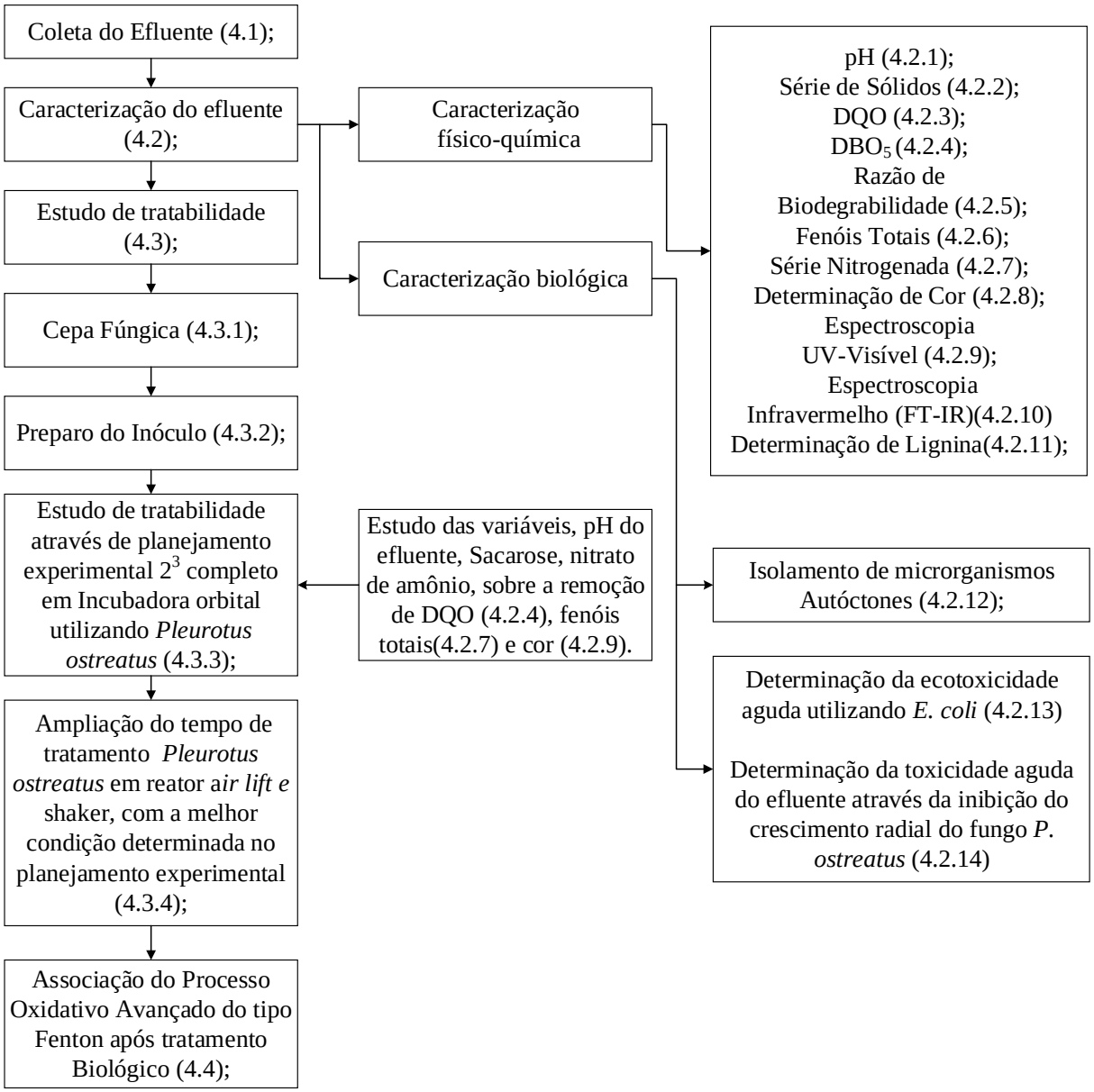
Parâmetro	Limite de Lançamento
pH	entre 5 a 9
Temperatura de lançamento	Inferior a 40°C
Sólidos sedimentáveis	1 mLL^{-1}
Vazão Máxima de Lançamento	1,5 vezes a vazão média
Óleos minerais	20 mgL^{-1}
Óleos vegetais e gorduras animais	50 mgL^{-1}
DQO	300 mgO_2L^{-1}**
DBO (5 dias a 20°C)	Remoção Mínima de 60 % 50 mgO_2L^{-1}**
Fenóis totais	0,5 mgL^{-1}
Toxicidade aguda	FTd para *Daphnia magna*: 8 (12,5%)** FTbl para *Vibrio fischeri*: 8 (12,5%)
Toxicidade crônica	FTd para *Scenedesmus subspicatus*: 8 (12,5%)** FTbl para *Vibrio fischeri*: 8 (12,5%)

Fonte: Brasil, 2011, **Paraná, 2009.

4 METODOLOGIA

A metodologia deste trabalho se fundamentou na coleta, caracterização físico-química, ecotoxicológica e estudos de tratabilidade do efluente. As diversas etapas desenvolvidas estão representadas, de forma geral, no fluxograma ilustrado na Figura 5 e descritas a seguir.

Figura 5 – Fluxograma das atividades desenvolvidas para o estudo da utilização do fungo *Pleurotus ostreatus* no tratamento de efluentes.



*Os números entre parênteses identificam a descrição do tópico metodológico.
Fonte: autoria própria.

4.1 COLETA DO EFLUENTE

A coleta foi realizada diretamente no tanque de acúmulo de efluente em uma empresa de compensados, localizada na região sudoeste do Estado do Paraná que funciona 24 horas por dia sem interrupções no processo. Foram coletados 20 litros de efluente em uma bombona de polipropilieno, a qual foi levada ao laboratório, sendo seu conteúdo homogeinizado e integralmente fracionado em frascos plásticos com capacidade de 2L, os quais foram mantidos sob congelamento (-18°C) até posterior uso. O aspecto visual deste efluente pode ser verificado na Figura 6. Uma amostra também foi coletada em frasco esterilizado para o isolamento da microbiota autóctone presente no efluente.

Figura 6 – Aspecto visual do efluente da indústria de Compensado.
Fonte: autoria própria.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE

A caracterização do efluente foi realizada junto ao Laboratório de Qualidade Agroindustrial – LAQUA, e as análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram realizada na Central de Análises da UTFPR. As demais análises e ensaios de tratabilidade foram desenvolvidos no laboratório de biotecnologia N-009 da UTFPR, campus Pato Branco.

4.2.1 Analise de pH

As leituras do potencial hidrogeniônico (pH) foram realizadas utilizando potenciômetro digital de bancada calibrado com soluções de pH 4,0 e 7,0 (APHA, 2005).

4.2.2 Série de Sólidos

Na série de sólidos foram analisados, sólidos suspensos, sólidos dissolvidos totais, sólidos totais e de cinzas ou compostos minerais, por gravimetria, conforme metodologia padrão APHA, (2005).

4.2.3 Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A Demanda Química de Oxigênio(DQO) é o parâmetro que mede a quantidade de matéria orgânica suscetível à oxidação por meios químicos. Tal método é realizado empregando o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) em meio ácido, como agente oxidante em amostras líquidas, sendo o resultado expresso em miligramas de oxigênio por litro.

Em tubos de ensaio foram adicionados 3,0 mL do efluente diluído, 1,5 mL de solução digestora (preparada com 10,12 g de dicromato de potássio; 33,3 g de sulfato de mercúrio II; 167,0 mL de H_2SO_4, completado para 1000,0 mL com água destilada) e 3,50 mL de solução catalítica (preparada na proporção de 5,5 g de $AgSO_4$, por kg de H_2SO_4 concentrado). Em seguida, os tubos foram colocados em bloco digestor e mantidos a temperatura de 150 $^{\circ}$C por 2 horas. Após resfriamento, foi realizada leitura de absortividade, no comprimento de onda de 600 nm. A concentração da demanda de O_2 da amostra, em mg/L, foi obtida pela interpolação dos dados obtidos em curva de calibração utilizando biftalato de potássio como padrão (APHA, 2005).

4.2.4 Determinação de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO_5)

A demanda bioquímica de oxigênio (DBO_5) corresponde à quantidade de oxigênio consumido na degradação da matéria orgânica no meio aquático por processos biológicos, sendo o resultado expresso em miligramas de oxigênio por litro.

A quantidade de matéria orgânica biodegradável na amostra foi determinada pela diferença de concentração de oxigênio dissolvido, antes ($OD_{inicial}$) e após a incubação por 5 dias (OD_{final}) do efluente a 20 ± 1 ºC, ao abrigo da luz em incubadora do tipo B.O.D (marca Nova Técnica, modelo RDE34) (APHA, 2005). Este ensaio foi realizado em quatro etapas:

i) Inicialmente determinada a DQO (Conforme item 5.2.4) do efluente, corrigindo o pH para 7,1 – 7,3 com solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) ou hidróxido de sódio (NaOH);

ii) Com o resultado da DQO foi verificada a necessidade de diluição da amostra, com solução nutriente (para 1000 mL de água, 1,0 mL de solução tampão fosfato 1,0 mL de sulfato de manganésio, 1,0 mL de cloreto de cálcio e 1,0 mL de cloreto férrico);

iii) As amostras foram incubadas em frascos Winkler (5 dias a 20 ± 1 ºC, ao abrigo da luz), em seguida foi determinada a quantidade de oxigênio final;

iv) Com os resultados dos teores da OD inicial e OD final, o valor da DBO_5, foi determinado conforme a Equação 02:

$$DBO_5(mgO_2.L^{-1}) = \frac{(OD_{inicial} - OD_{final})}{\%(diluição)} x100 \qquad \text{Equação 02}$$

4.2.5 Razão de Biodegradabilidade (DBO_5/DQO)

A razão de biodegradabilidade foi obtida pela divisão do valor da demanda bioquímica de oxigênio(DBO_5) e a demanda química de oxigênio (DQO) do efluente, conforme Equação 03, nos efluentes bruto e tratado, visando a verificação do aumento ou diminuição de biodegradabilidade do mesmo.

$$\text{Razão de Biodegradabilidade} = \frac{DBO_5}{DQO} \qquad \text{Equação 03}$$

4.2.6 Determinação de Fenóis Totais

A concentração de fenóis totais foi determinada colorimetricamente através do procedimento de Folin-Ciocalteau (Merck) (APHA, 2005).

O método espectroscópico Folin-Ciocalteu é um dos mais utilizados para a determinação de fenólicos totais e é baseado na redução dos ácidos fosfomolibdico-fosfotungstico pelas hidroxilas fenólicas, originando óxidos azuis de tungstênio (W_8O_{23}) e de molibdênio (Mo_8O_{23}), um complexo que absorve em $\lambda_{máx}$ = 740 nm. A reação ocorre em meio alcalino, sendo a solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a base mais indicada.

Em tubos de ensaio foram acrescentados 0,5 mL do efluente e, em seguida 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteau 10 % e 2,0 mL de carbonato de sódio 4%. Posteriormente a solução permaneceu em repouso ao abrigo da luz por 2 horas. Após foi então realizada a leitura de absorção em espectrofotômetro a 740 nm utilizando como branco água. Os resultados foram calculados com base na equação da reta obtida a partir de curva padrão obtida com ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100,0 mL de amostra.

4.2.7 Série Nitrogenada

Na série nitrogenada foram determinados, nitratos e nitritos por colorimetria, nitrogênio amoniacal e nitrogênio total Kjedahl por titrimetria, conforme metodologia padrão APHA, (2005).

4.2.8 Determinação de Cor

A cor foi determinada de acordo com metodologia padrão CPPA (1975). Em todas as determinações, os efluentes foram previamente centrifugados por 15 min a 3.000 rpm e o pH ajustado para 7,6 com tampão fosfato 0,1 $molL^{-1}$. A absorbância da solução no espectro visível foi determinada em 465 nm, empregando como branco água destilada. Os valores de absorbância foram transformados em unidades de cor (UC) de acordo com a Equação 06:

$$UC = 500\frac{A_2}{A_1}$$ Equação 06

Onde:

A_1= absorbância de uma solução padrão de platina-cobalto de 500 UC (A_{465} = 0,132);

A2= absorbância do efluente, medida em 465 nm.

4.2.9 Espectroscopia UV-Visível (UV-Vis)

As analises espectroscópicas foram realizadas em espectrofotômetro Thermo Scientific modelo Evolution 60S – UV – Visible Spectrophotometer, utilizando cubetas de quartzo com um caminho óptico de 1,0 cm. Água destilada foi utilizada como referência (branco). A varredura foi realizada de 190 - 800 nm. Os efluentes foram previamente centrifugados por 15 min a 3.000 rpm e o pH ajustado para 7,6 com tampão fosfato 0,1 $molL^{-1}$ e então diluídos para que se adaptem a faixa de absorbância do aparelho.

4.2.10 Espectroscopia no Infravermelho (FT-IR)

Uma alíquota do efluente foi previamente liofilizada e mantida em dessecador até o momento da análise. Para a obtenção dos espectros IV foram preparadas pastilhas de KBr contendo 1% de amostra, compactadas a 8-10 $kgf.cm^{-1}$. A seguir, foram obtidos os espectros na região de 4.000 a 400 cm^{-1}, com 32 acumulações, resolução de 2 cm^{-1} em equipamento Perkin-Elmer, modelo FT-IR Frontier.

4.2.11 Determinação de Lignina

4.2.11.1 Lignina Klason Insolúvel

A determinação de lignina foi realizada de acordo com o método Klason (ASTM, 1966) modificado. Amostra de 0,3 g de efluente liofilizado foi transferida para um béquer e tratada com 5,0 mL de H_2SO_4 72 % sob vigorosa agitação, em banho termostatizado a 45 °C por 7 minutos, sendo então a reação interrompida com a adição de 79,0 mL de água destilada.

A amostra então foi transferida para Erlenmeyer de 250 mL e autoclavado a 110 °C por 30 minutos a 1,05 bar, para a completa hidrólise dos oligômeros restantes. Após está etapa a mistura reacional foi filtrada e o hidrolisado transferido e diluído com água destilada em um balão volumétrico de 100,0 mL e armazenado para análise posterior.

Os sólidos retidos no papel de filtro, previamente tarado, foram lavados com aproximadamente 2 L de água destilada e secos em estufa a 105 ± 3 º C até massa constante.

4.2.11.2 Lignina Klason Solúvel

A quantidade de lignina Klason Solúvel foi determinada conforme metodologia descrita por Ruzane, (2005). Onde uma alíquota de 5,0 mL do hidrolisado obtida no item 4.2.11.1, foi alcalinizada com NaOH (6,5 mol.L^{-1}) até pH 12,5 e após diluída com água destilada em balão volumétrico de 100 mL.

A absorbância foi determinada em 280 nm, utilizando-se a solução de NaOH (6,5 mol.L^{-1}) como branco. A concentração de lignina solúvel foi determinada pela equação 07.

$$[Lig] = (41{,}87.Abs_{280} - 0{,}3279)10^{-3} \qquad \text{Equação 07}$$

Onde:

[Lig]= Concentração de lignina no hidrolisado

Abs_{280}= Absorbância a 280 nm

4.2.12 Isolamento de Microrganismos Autóctones

O isolamento de microrganismos autóctones teve por objetivo a verificação da microbiota do efluente. Para o isolamento de microrganismos o efluente foi diluído de forma asséptica 10 vezes e inoculado (100 µL) por espalhamento com auxílio da alça de Drigalski em meio ágar BHI (*Brain Heart Infusion*) para isolamento de bactérias. As placas foram ~~e~~ incubadas em estufa a 35°C por 24 horas para o crescimento bacteriano~~.~~

Após crescimento foi realizado repique até a obtenção de cultura pura, em seguida realizado coloração de Gram. Para o isolamento de fungos, 100 µL da diluição foram plaqueadas (inoculação por superfície) em ágar *Sabouraud* contendo cloranfenicol, com

auxílio de alça de Drigalski e incubados em estufa a 28°C por 48 horas. Após crescimento foram realizados repiques sucessivos, até a obtenção de cultura pura.

4.2.13 Determinação da Ecotoxicidade Aguda Utilizando *Escherichia coli*

A toxicidade aguda do efluente bruto e dos efluentes tratados foi verificada empregando a bactéria *Escherichia coli* como bioindicador, sendo avaliada a redução ou inibição do seu crescimento pelo agente estressante (efluente bruto e tratado). O sinal analítico medido e considerado proporcional à concentração celular bacteriana foi absorbância em 600 nm, conforme metodologia modificada de Sottorriva (2006). Para realização deste teste foram observadas as seguintes etapas:

4.2.13.1 Cultura da *E. coli* e Padronização do Inóculo

Para a realização do ensaio de toxicidade, uma cultura da bactéria *E. coli* inicialmente foi repicada em placas contendo meio ágar-nutriente e incubada a 37ºC por 24 horas. Para a realização do experimento, o inóculo foi padronizado, sendo transferido às bactérias do meio sólido para tubo de ensaio contendo 10 mL de água peptonada (0,9%) esterilizada, com uma alça de platina até obtenção de absorbância próxima a 0,132 a 600 nm, utilizando como branco, água peptonada (0,9%).

4.2.13.2 Realização do Ensaio de Ecotoxicidade

O ensaio foi realizado em frascos de 100 mL com tampa, contendo volume máximo de 50 mL, o meio utilizado foi caldo EC. De maneira esquemática, o ensaio de toxicidade com *E. coli* está representado na Tabela 4. Sendo que no tempo inicial foi introduzido ao meio 100 µL de inóculo padronizado e mantidos a 37 °C por 24 horas, sendo medido a absorbância em 600 nm utilizando espectrofotômetro e cubeta de quartzo de 1 cm de caminho ótico, no tempo inicial e final do experimento.

Tabela 4 – Esquema da realização do ensaio de toxicidade com a bactéria *E. coli.*

	Meio de Cultura caldo EC(mL)	Volume de Amostra (mL)
Controle	50,0	---
Amostras	45,0	5,0

4.2.14 Determinação da Toxicidade Aguda do Efluente Através da Inibição do Crescimento Radial do Fungo *Pleurotus ostreatus*

Este método relaciona a toxicidade aguda do efluente para o fungo em relação a sua capacidade de desenvolver halo de crescimento radial em função do tempo. O método foi adaptado de Rodrigues, (2005). Este método foi adotado considerando a intensão de estudar o fungo *Pleurotus ostreatus* como um potencial biorremediador do efluente da indústria de compensado.

Os ensaios foram realizados com diluições do efluente para a composição de meio sólido ágar *Sabouraud* com cloranfenicol, conforme descrito na Tabela 5. Inicialmente o fungo foi cultivado em placas de Petri contendo meio ágar durante três dias a 28°C. Em seguida, 1 cilindro de 0,8 cm da cultura retiradas da zona de crescimento do fungo, e transferido para a parte central das placas contendo o meio de crescimento com as diferentes concentrações do efluente da placa de Petri.

Tabela 5 – Diluições do efluente usados nos testes de inibição do crescimento radial.

Concentração de efluente (%)	Volume de H_2O (mL)	Volume de efluente (mL)
0	100	0
20	80	20
40	60	40
60	40	60
80	20	80
100	0	100

O fungo inoculado então parte central de placa de petri contendo o efluente em diferentes diluições foi incubado a 28ºC por 5 dias. O monitoramento diário do diâmetro do halo fúngico, permitiu a avaliação da medida do crescimento radial. O halo fúngico foi medido em triplicata.

4.3 TRATAMENTO BIOLÓGICO UTILIZANDO *P. ostreatus*

4.3.1 Cepa Fúngica

Neste trabalho foi utilizado o fungo *Pleurotus ostreatus* (EB 016), cedido pela Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia – CENARGEN. O fungo foi mantido em meio Ágar *Sabouraud* com cloranfenicol a 4ºC.

4.3.2 Preparo e Padronização do Inóculo

O preparo do inóculo seguiu metodologia modificada de Steluti, Giese e Piggato, (2004), onde inicialmente, foi transferida uma alçada de micélio do fungo para placas de Petri contendo meio ágar *Sabouraud* com cloranfenicol. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 28 ºC por 72 horas.

Os micélios crescidos na superfície do meio foram transferidos para frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de meio mínimo de Vogel (VOGEL, 1956) (Tabela 6) e glicose (10,0 gL^{-1}), sendo cultivados por 72 horas a 28 ºC sob agitação (150 rpm).

Tabela 6 – Composição do meio mínimo de Vogel.

Nutrientes	Quantidade
Citrato de sódio pentahidratado ($Na_3C_6H_5O_7.5H_2O$)	150 $g.L^{-1}$
Fosfato de potássio monobásico anidro (KH_2PO_4)	250 $g.L^{-1}$
Nitrato de amônia anidro (NH_4NO_3)	100 $g.L^{-1}$
Sulfato de magnésio heptahidratado ($MgSO_4.7H_2O$)	5 g L^{-1}
Solução de elementos traços**	5 $mL.L^{-1}$
Solução de biotina (0,1 mg L^{-1})	2,5 $mL.L^{-1}$
**Solução de elementos traços	-
Ácido cítrico monohidratado ($C_6H_8O_7$. H_2O)	5 $g.L^{-1}$
Sulfato de zinco heptahidratado ($ZnSO_4.7H_2O$)	5 $g.L^{-1}$
Sulfato de amônio Ferroso hexahidratado ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$)	1 $g.L^{-1}$
Sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_4.5H_2O$)	0,25 $g.L^{-1}$
Sulfato de manganês monohidratado ($MnSO_4.H_2O$)	0,05 $g.L^{-1}$
Ácido bórico anidro (H_3BO_3)	0,05 $g.L^{-1}$
Molibidato de sódio dihidratado ($Na_2MoO_4.2H_2O$)	0,05 $g.L^{-1}$

Fonte: Vogel (1956). Obs: Para o uso, este meio é diluído cinquenta vezes com água destilada.

Posteriormente, a pré-cultura foi centrifugada a 3500 rpm por 20 minutos e então, o micélio recuperado, foi homogeneizado assepticamente em mixer por 30 segundos e ressuspendido em água destilada esterilizada para originar uma solução padrão com absorbância entre 0,4 e 0,5 a 400 nm.

4.3.3 Biotratamento do Efluente em Agitador Orbital (*Shaker*)

Os ensaios preliminares de tratabilidade em *Shaker* empregando o fungo *Pleurotus ostreatus*, foram realizados, com base em um planejamento composto completo 2^3, para quantificar a influência de três variáveis independentes sobre a remoção de DQO (item 4.2.4), cor (item 4.2.9) e fenóis totais (item 4.2.7). As variáveis dependentes foram o pH do meio (X_1), a concentração inicial de sacarose (X_2) e concentração inicial de nitrato de amônio (X_3). O tempo de tratamento foi fixado em 10 dias, sendo empregada temperatura de 28 °C, agitação de 150 rpm e 10 % de volume de inóculo padronizado (10,0 mL).

O delineamento foi realizado de acordo com os níveis apresentados na Tabela 7, sendo realizados 16 experimentos no total, com duplicata no ponto central e seis pontos axiais.

Tabela 7 – Níveis utilizados para pH, concentração de sacarose e nitrato de amônia no planejamento experimental 2^3 com arranjo tipo estrela.

Níveis			-1,68	-1	0	+1	+1,68
pH	(X_1)		4,6	5,0	5,5	6,0	6,3
Concentração inicial de sacarose	(X_1)	gL^{-1}	0,0	3,0	7,5	12,0	15,0
Concentração inicial de NH_4NO_3	(X_1)	gL^{-1}	0,0	1,0	2,5	4,0	5,0

4.3.4 Estudo da Adsorção Micelial

O estudo da adsorção micelial foi realizado utilizando o micélio de *Pleurotus ostreatus* autoclavado por 20 min a 121°C o qual foi utilizado como adsorvente. O tempo de tratamento foi fixado em 24 horas, sob temperatura de 28 °C, agitação de 150 rpm e 10 % de volume de inóculo. Neste teste foi verificado o efeito da biomassa inativa sobre a redução de DQO, fenóis totais e cor do efluente.

4.3.5 Biotratamento do Efluente em Reator *Air lift*

O reator *air lift* utilizado nos ensaios de tratabilidade possui capacidade de 400,0 mL. Este apresenta um fluxo cíclico através do tubo interno (“riser”), onde o ar e o líquido fluem para cima e o espaço anular (“downcomer”), onde o líquido ou a mistura líquido-gás fluem para baixo. A temperatura (28ºC) foi controlada pela circulação de água por uma

camisa externa de refrigeração. O fungo foi incoculado no espaço anular ("*downcomer*") do reator *air lift*.

Nos ensaios de tratabilidade biológica em reator *air lift* foi empregado o fungo *Pleurotus ostreatus*, o efluente teve o pH ajustado e foi suplementado com sacarose e nitrato de amônio em concentrações definidas pelos ensaios do item 4.3.3. O tempo de tratamento foi de 40 dias e foram avaliados os parâmetros remoção de DQO (item 4.2.4), cor (item 4.2.9) e fenóis totais (item 4.2.7), sendo retiradas amostras a cada 10 dias.

4.4 ASSOCIAÇÃO DO PROCESSO OXIDATIVO AVANÇADO DO TIPO FENTON AO PROCESSO BIOLÓGICO

Para fins de complemento ao tratamento biológico e promoção da degradação de eventuais compostos refratários ao tratamento biológico, foi proposta a utilização do Processo Oxidativo Avançado do tipo Fenton como polimento ao efluente pós tratamento biológico, sendo utilizada a metodologia modificada de Munoz et al., (2014).

Para a aplicação do POA do tipo Fenton, 100 mL de efluente obtido após o tratamento biológico teve seu pH ajustado para 3,0, sendo adicionado ao mesmo 100,0 $mg.L^{-1}$ de Fe(II) na forma de sulfato ferroso hepta-hidratado ($FeSO_4.7H_2O$) e duas concentrações peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (100,0 e 500,0 $mg.L^{-1}$), para avaliação do efeito da razão molar [Fe]:[H_2O_2] 1:1 e 1:5 sobre a eficiência do tratamento. A reação foi realizada sob temperatura ambiente e homogeinização proporcionada por agitador magnético. No momento da adição do H_2O_2 foi iniciado a contagem do tempo, sendo retiradas amostras a cada 20 minutos até integralização do tempo total de tratamento que correspondeu a 60 minutos, sendo que para a interrupção da reação de Fenton o pH da amostra foi elevado até 9,0 utilizando hidróxido de sódio (NaOH) 2,0 $mol.L^{-1}$. Ao final do processo foram estudados a remoção de DQO (item 4.2.4), cor (item 4.2.9) e fenóis totais (item 4.2.7).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE

5.1.1 Caracterização Físico-Química do Efluente

Os parâmetros de caracterização físico-química do efluente bruto coletado na Indústria de compensados estão apresentados na Tabela 8, assim como os limites legais de lançamento de acordo com as resoluções 357/2005, complementada e alterada pela resolução 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) (BRASIL, 2011). Os resultados obtidos demonstram que os valores dos parâmetros avaliados estão acima dos valores permitidos pela legislação brasileira, revelando o potencial poluente do efluente estudado.

Tabela 8 – Caracterização físico-química do efluente bruto da indústria de compensado.

Parâmetros	Resultados	Legislação*
pH	4,63	5 a 9
DQO	12.192 ± 100 mgO_2L^{-1}	300 mgO_2L^{-1}
DBO_5	8.849 ± 60 mgO_2L^{-1}	Rem. de 60%** - 50 mgO_2L^{-1}
Razão de Biodegradabilidade DBO_5/DQO	0,72	NP
Cor	8.333 ± 30 UC	NP
Fenóis Totais	1.220 ± 5 mgL^{-1}	0.5 mgL^{-1}
Nitratos	263 ± 9 mgL^{-1}	NP
Nitritos	159 ± 3 mgL^{-1}	NP
Nitrogênio Amoniacal	141 ± 10 mgL^{-1}	20 mgL^{-1}
Nitrogênio Total Kjedahl	280 ± 10 mgL^{-1}	NP
Lignina Klason solúvel	1360 ± 3 mgL^{-1}	NP
Lignina Klason insolúvel	49 ± 3 mgL^{-1}	NP
Sólidos Suspensos	52 ± 2 mgL^{-1}	NP
Sólidos Dissolvidos Totais	15 ± 0,30 gL^{-1}	NP
Sólidos Suspensos	0,52 ± 0,02 gL^{-1}	NP
Cinzas	2,73 ± 0,04 gL^{-1}	NP
Sólidos totais	18,45 ± 0,15 gL^{-1}	NP

*Valores preconizados pela legislação CONAMA 430/2011 e CEMA 70/2009;
**Eficiência de remoção mínima de 60%; NP- Parâmetros não preconizados pela legislação;

Como reportado na Tabela 8, o efluente da indústria de compensado apresentou pH de 4,63 ± 0,1 estando o mesmo em desacordo com os padrões de lançamento estabelecidos pela legislação do Conama 430/2011, o qual preconiza pH na faixa de 5 a 9 para a emissão do efluente em corpo receptor.

A Demanda Química de Oxigênio (DQO) encontrada no efluente foi de 12.192 mgO_2L^{-1} e a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO_5) de 8.849 mgO_2L^{-1}. Estes resultados estão relacionados diretamente com a elevada recalcitrância e estruturas químicas complexas como a lignina que não promove elevação de DBO_5, mas contribuem para a elevação da

DQO, bem como para a coloração escura do efluente. Os valores encontrados são semelhantes aos relatados por Barreto-Rodrigues, Aguiar, Cunha, (2009), os quais relataram valores de DQO de 12.477 mgO_2L^{-1} e DBO_5 de 8.450 mgO_2L^{-1} em efluente do mesmo tipo de processo. Por outro lado, Borba, Sottoriva, Móndenes (2008) estudando um efluente da indústria madeireira (conservação de madeira), e encontraram valor de DQO 35% inferior ao obtido no presente estudo (7.957 $mg.L^{-1}$). Tais autores também observaram valor de DBO_5 93,0% menor ao presente estudo (611 mgO_2L^{-1}), sendo tal resultado justificado pela presença de fungicidas (tribromofenol e pentaclorofenol) no efluente, oriundos do processo de conservação da madeira.

Os elevados níveis de DQO e DBO encontrados no efluente, causam duas preocupações quanto ao seu lançamento em corpos hídricos sem o devido tratamento. A primeira está relacionada com o potencial aumento da carga orgânica no corpo receptor, e a segunda com a possível ecotoxicidade e persistência no ambiente dos compostos recalcitrantes presentes no efluente.

A razão de biodegradabilidade (DBO_5/DQO) tem sido utilizada para expressar a biodegradabilidade dos efluentes, sendo este parâmetro uma ferramenta auxiliar na definição do procedimento técnico para o tratamento de efluentes. Apesar do efluente estudado apresentar alta carga de fenóis totais, a razão DBO_5/DQO encontrada foi de 0,72, valor este superior ao descrito por Barreto-Rodrigues, Aguiar, Cunha, (2009) neste mesmo tipo de efluente (0,6).

Jardim e Canela, (2004) reportam que efluentes com razão DBO_5/DQO superiores a 0,4 são biodegradáveis, e neste sentido os valores de DBO_5/DQO observados no efluente estudado, sugerem que tratamentos biológicos podem ter sucesso quanto à redução de carga orgânica do mesmo.

O efluente apresentou coloração intensa (8.333 ± 30 UC), conforme observado na Figura 6, sugerindo desta forma que o efluente causaria danos ao corpo hídrico receptor se fosse lançado sem o devido tratamento, uma vez que poderia contribuir para a redução da ~~a~~ penetração da radiação solar.

Elevadas concentrações de fenóis totais foram encontradas no efluente, o qual apresentou conteúdo de 1.220 mgL^{-1} é superior ao permitido pela legislação (0.5 mgL^{-1}). O conteúdo de fenóis totais, bem como a presença de cor, pode ser atribuído à presença de lignina e seus derivados, além de possíveis extrativos da madeira que foram transportados pelo vapor no momento do cozimento.

Barreto-Rodrigues, Aguiar, Cunha, (2009) encontraram neste mesmo tipo de efluente concentrações de 358 mgL^{-1}. Raj et al., (2014) verificaram concentração de 42 mgL^{-1} de fenóis totais em efluente da indústria de papel e celulose e Souza, et al., (2014) reportaram concentrações de 16,5 mgL^{-1} em efluente de branqueamento de polpa Kraft de uma indústria de papel e celulose. De fato, o efluente analisado apresentou concentrações de fenóis totais bem superiores às observadas na literatura, tanto em relação a efluentes oriundo de processo de laminação como de outros processos de beneficiamento da madeira.

O teor de nitritos encontrado foi de 159 ± 3 mgL^{-1}, o que indica que o efluente foi gerado recentemente, visto que seu valor é elevado em relação ao teor de nitratos 263 ± 9 mg L^{-1}. O teor de nitrogênio amoniacal (141 ± 10 mgL^{-1}) está cerca de sete vezes superior ao limite imposto pela legislação que é de 20 mgL^{-1}. O teor de nitrogênio total Kjedahl (280 ± 10 mgL^{-1}) que que corresponde a soma do nitrogênio amoniacal e nitrogênio orgânico, é um parâmetro importante para a aplicação do tratamento biológico, tendo em vista que é necessário que no meio haja nitrogênio de fácil assimilação pelos microrganismos.

Os resultados obtidos para a série de sólidos indicaram que os sólidos totais presentes foram constituídos de 14,79 % de material inorgânico e 85,21 % de material orgânico. Baixos teores de sólidos inorgânicos já eram esperados, considerando que no processo de no cozimento da madeira não são empregados reagentes inorgânicos. A avaliação complementar para determinação da composição dos sólidos totais do efluente indicou um conteúdo de Lignina Klason solúvel de 1,36 ± 0,03 gL^{-1} e insolúvel em ácido de 0,49 ± 0,03 gL^{-1}, sendo tais compostos os prováveis causadores da recalcitrância, cor e toxicidade do efluente em função de sua complexidade.

A presença de lignina também pode ser observada na Figura 7, a qual apresenta o espectro UV-visível do efluente bruto (diluído 50 x) e da solução de lignina (100 mgL^{-1}). Pode ser observado que o efluente possui perfil semelhante ao espectro UV-vis da solução de lignina, sendo que este apresenta uma banda intensa de absorção na região do ultravioleta. Tal banda indica a presença de substâncias aromáticas, possivelmente fenólicas, provenientes da degradação da lignina. O espectro apresenta ainda um ombro em aproximadamente 280 nm, característico da lignina, sendo este também influenciado pela presença de compostos como furfural e hidroximetilfurfural oriundos da degradação de açúcares provenientes de polissacarídeos presentes na madeira. Tais compostos também possuem o máximo de absorção em 280 nm. Após 280 nm a absorbância diminui continuamente, sem quaisquer características claras (LUPOI et al. 2015; HEITNER; DIMMEL; SHIMTD, 2010).

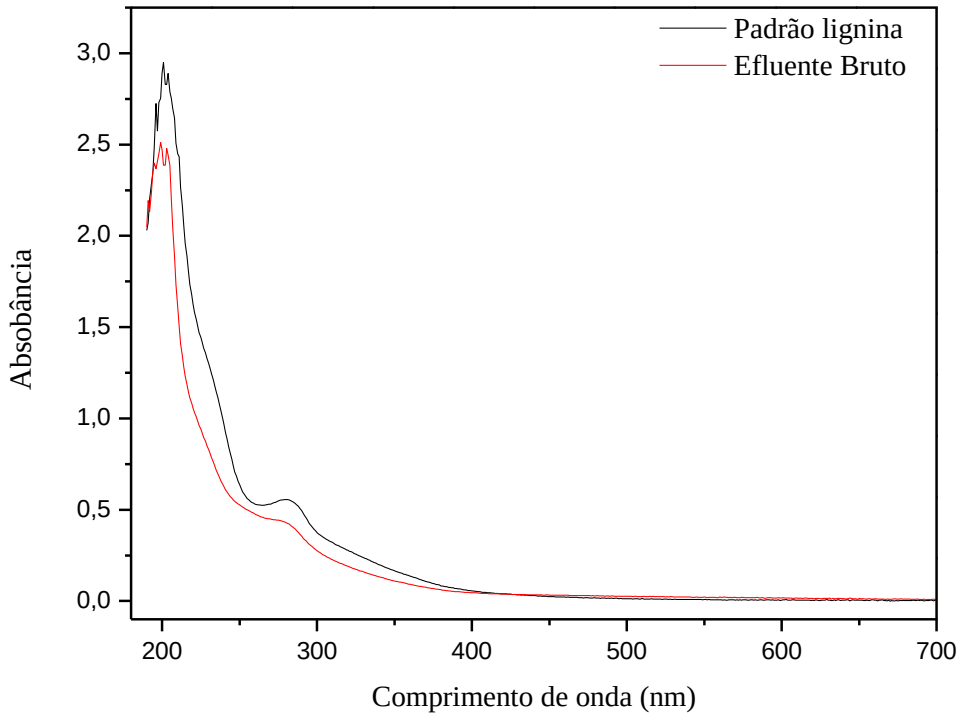


Figura 7 – Espectro UV-Vis do efluente bruto (diluído 50x) juntamente com o padrão lignina com destaque para a região do UV.

Os espectros no infravermelho do efluente e do padrão de lignina estão demonstrados na Figura 8. Neste caso, também é evidenciada relativa similaridade entre o padrão de lignina e a amostra em estudo, mesmo considerando o fato de que possivelmente vários componentes do efluente contribuíram para as bandas observadas.

O espectro infravermelho, mostrou bandas em 3430–3440 cm^{-1} atribuídas a absorção do grupo OH; em 2938 cm^{-1} a banda é atribuída ao estiramento C-H, na região 1603 cm^{-1} a banda é atribuída a ligação C=C. Não foi possível observar o grupo carbonila (C=O), devido a intensidade (banda larga) da banda em 1603 cm^{-1} que possivelmente encobriu as bandas da ligação C=O. Na região de 1330 cm^{-1} a banda é atribuída ao estiramento da ligação C-O (LUPOI et al, 2015).

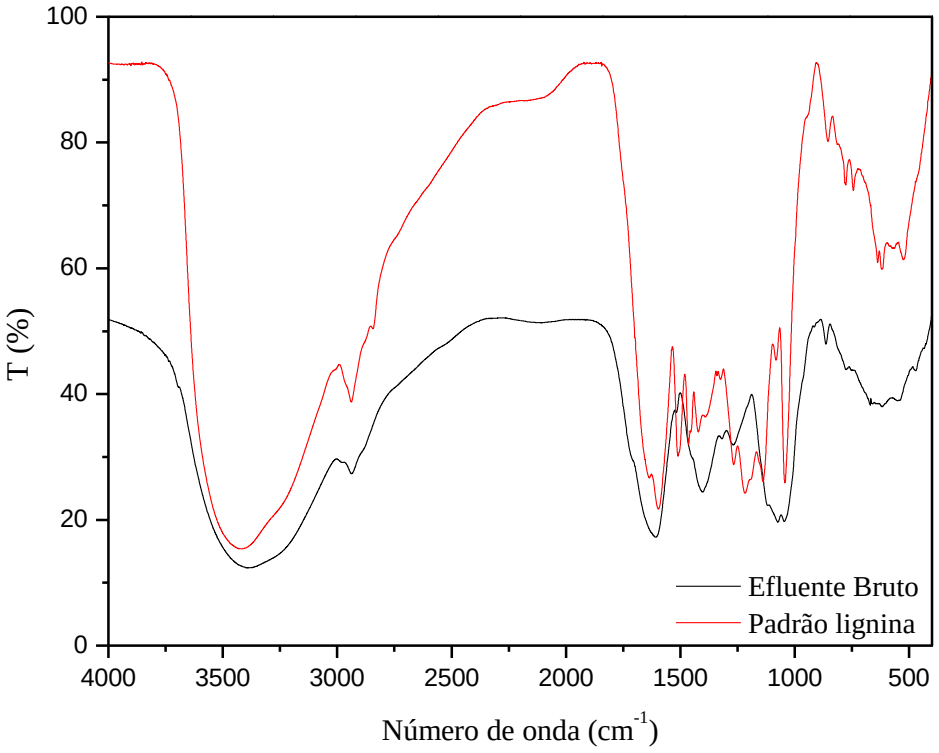


Figura 8 – Espetro de infravermelho para o efluente bruto e para o padrão lignina.

5.1.2 Determinação de Microrganismos Autóctones

Após 24 horas de incubação em meio ágar BHI e *Sabouraud* com cloranfenicol já foi possível verificar crescimento de colônias de fungos, porém sem distinção entre as mesmas, sendo então mantida a incubação das placas por período maior (48 horas).

No momento em que foi iniciada a etapa de repique para o isolamento, foi verificado que no ágar BHI, houve crescimento de dois fungos, mesmo a temperatura de 35-37 °C, e apenas uma cepa de bactéria foi isolada do efluente. Já no meio ágar *Sabouraud*, verificou-se a presença de dois fungos e ausência de bactérias, o que indica que o antibiótico cloranfenicol mesmo não sendo um antibiótico de grande espectro foi capaz de inibir o desenvolvimento bacteriano.

Pela comparação morfológica os fungos isolados a partir do ágar BHI e *Sabouraud*, foi possível verificar que se tratava de um fungo unicelular (levedura) e um fungo filamentoso, conforme pode ser visto Figura 9.

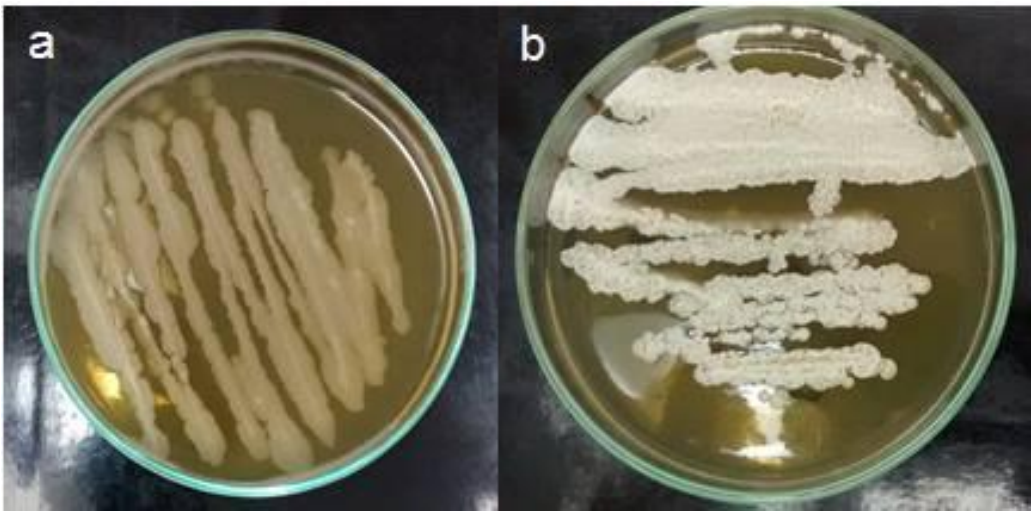


Figura 9 – Fungos isolados do efluente da indústria de compensado: (a) fungo unicelular (levedura); (b) Fungo pluricelular (filamentoso).

Quanto à bactéria isolada, foi realizado o teste de coloração de Gram que indicou ser uma bactéria cocos Gram negativa, conforme pode ser observado na Figura 10.

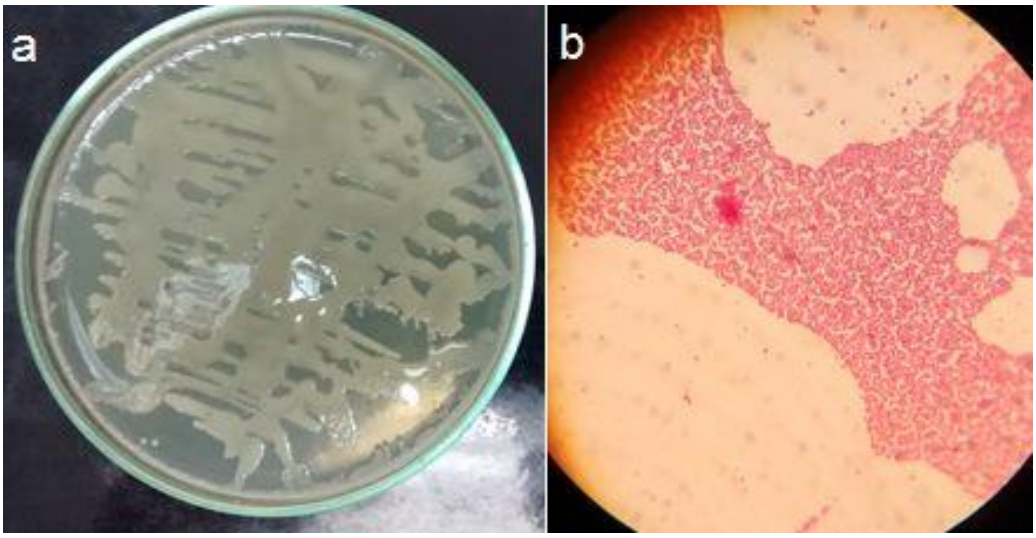


Figura 10 – Bactéria isolada do efluente da indústria de compensado: (a) Bactéria isolada; (b) Teste de Gram.

O pressuposto de que a presença de uma microbiota diversificada indica baixa recalcitrância e maior biodegradabilidade e, portanto, baixa diversidade microbiota indica o contrário, não é aplicado ao efluente estudado. Isto ocorre em função das condições em que o mesmo é gerado e mantido na indústria, visto que permanece quase que em constante aquecimento, o que dificulta a manutenção e viabilidade microbiana. Desta forma, a relativa baixa diversidade microbiana observada do efluente estudado, não indica necessariamente baixa recalcitrância ou possível ineficiência de tratamentos biológicos.

Souza, (2004) isolou doze fungos filamentosos de lodo ativado adaptado da indústria de celulose e papel, sendo o gênero das linhagens isoladas *Aspergillus*, *Penicillium* sp. e *Paecilomyce*s sp. Tais autores ressaltam que estes gêneros são conhecidos na biotecnologia industrial como bons produtores de enzimas hidrolíticas, desta forma são fungos com potencial eficiência para o tratamento deste tipo de efluente.

5.1.3 Aspecto Ecotoxicológico do Efluente

Através do ensaio de inibição do crescimento de *E. coli*, foi observado que o efluente bruto apresentou significativa toxicidade. A avaliação da toxicidade aguda utilizando *E. Coli* revelou inibição do crescimento celular na ordem de 71 % em relação ao controle. Este resultado sugere que o efluente possui significativo potencial impactante e pode causar inúmeros prejuízos ao corpo hídrico receptor.

Por outro lado, na análise de inibição do crescimento radial do fungo *Pleurotus ostreatus* em meio ágar *Sabouraud*, foi verificado que o efluente em qualquer concentração não afetou o crescimento do fungo. Entretanto, é importante salientar que o fungo *Pleurotus ostreatus* é um organismo lignolítico, capaz de produzir enzimas lignolíticas (DAS et al., 2016) que podem viabilizar seu crescimento em meios ricos em compostos fenólicos.

Após os estudos de tratabilidade, os quais são discutidos a seguir, o parâmetro ecotoxicológico foi reavaliado, no sentido de verificar os efeitos do tratamento sobre a toxicidade do efluente.

5.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL APLICADO A REDUÇÃO DE DQO

Para estimar a potencialidade do tratamento biológico utilizando o fungo *Pleurotus ostreatus*, realizou-se a avaliação quantitativa da influência causada pelas variáveis, pH (X_1), concentração de sacarose (X_2) e concentração de nitrato de amônio (X_3), na redução da demanda química de oxigênio (DQO) do efluente da indústria de compensado em 10 dias de tratamento em *shaker*, a partir de um planejamento experimental 2^3, com arranjo tipo estrela. A Tabela 9 apresenta os dados da matriz do delineamento experimental realizado, contendo os valores reais e codificados das variáveis, bem como a respostas porcentagem de redução da demanda química de oxigênio (DQO).

Tabela 9 – Matriz do planejamento fatorial para o tratamento. Avaliação da influência das variáveis pH, concentração de sacarose e concentração de nitrato na remoção de DQO do efluente da indústria de compensado.

Ensaio	Níveis Codificados			Níveis Reais			Respostas
	X_1	X_2	X_3	pH (X_1)	[sacarose] (gL^{-1}) (X_2)	[NH_4NO_3] (gL^{-1}) (X_3)	Remoção de DQO (%)
1	- 1	- 1	+ 1	5	3,0	4,0	62,41
2	- 1	+ 1	+ 1	5	12,0	4,0	40,93
3	+ 1	+ 1	- 1	6	12,0	1,0	67,25
4	+ 1	- 1	+ 1	6	3,0	4,0	61,13
5	- 1	+ 1	- 1	5	12,0	1,0	52,62
6	+ 1	- 1	- 1	6	3,0	1,0	32,70
7	+1	+ 1	+ 1	6	12,0	4,0	60,86
8	- 1	-1	-1	5	3,0	1,0	62,10
9	+ 1,68	0	0	6,3	7,5	2,5	65,60
10	- 1,68	0	0	4,6	7,5	2,5	50,78
11	0	+ 1,68	0	5,5	15,0	2,5	37,74
12	0	- 1,68	0	5,5	0,0	2,5	56,23
13	0	0	+ 1,68	5,5	7,5	5,0	63,11
14	0	0	- 1,68	5,5	7,5	0,0	64,54
15	0	0	0	5,5	7,5	2,5	63,15
16	0	0	0	5,5	7,5	2,5	63,11

Foram obtidas remoções de DQO, mínimas e máximas da ordem de 32,7% e 67,25%, respectivamente nos ensaios 6 e 3. A maior remoção de DQO (ensaio 6) foi verificada na condição experimental onde foi empregada concentração de sacarose no nível +1, concentração de nitrato de amônia no nível -1 e pH inicial do meio ajustado para 6,0. Por outro lado, quando empregado menores concentrações tanto da fonte de carbono, como da fonte de nitrogênio (nível –1) em pH 6,0, menor remoção de DQO foi obtida.

Nos ensaios 15 e 16, que foram conduzidos com o níveis de pH e cosubstratos intermediários (nível 0) também se mostraram capazes de promover significativa eficiência de remoção de DQO (cerca de 63%).

De modo geral, foi verificado que o fungo *Pleurotus ostreatus* possui boa capacidade de biorremediação, mesmo sem suplementação de fonte de carbono e nitrogênio.

5.2.1 Analise Estatística do Delineamento Experimental

A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa *Statgraphics Plus* 5.1, sendo que a Tabela 10, apresenta os valores estimados dos efeitos estimados, coeficientes de regressão e as interações com parâmetros significativos e não significativos entre as variáveis, além do erro associado aos efeitos e aos coeficientes e o nível de significância atribuído a cada parâmetro.

Na análise das estimativas dos efeitos das variáveis estudadas sobre a remoção de DQO do efluente da indústria de compensado, foram considerados os fatores significativos, no intervalo de confiança de 95% ($p<0,05$), os fatores em negrito e marcados com asterisco. Neste caso, nove efeitos tiveram valores de p inferiores a 0,05, o que indica que eles são significativamente diferentes de zero no nível de confiança de 95,0%.

Tabela 10 – Efeitos, coeficientes de regressão e interações para a resposta remoção de DQO.

Fatores	Efeitos	Erro Efeitos	t calc	p valor	Coeficientes	Erro coeficientes
Média	**63,2**	**± 4,5**	**14,0**	**0,0000***	**31,6**	**± 2,25**
X_1:pH	**4,2**	**± 3,4**	**1,23**	**0,0029***	**2,1**	**± 1,7**
X_2:Concentração de sacarose	**-4,0**	**± 3,4**	**-1,17**	**0,0030***	**-2,0**	**± 1,7**
X_3:Concentração de nitrato	**1,2**	**± 3,4**	**0,35**	**0,0101***	**0,6**	**± 1,7**
X_1X_1	**-3,9**	**±4,1**	**-0,95**	**0,0037***	**-1,95**	**± 2,05**
X_1X_2	**16,3**	**± 4,5**	**3,62**	**0,0010***	**8,15**	**± 2,25**
X_1X_3	**8,3**	**± 4,5**	**1,84**	**0,0019***	**4,15**	**± 2,25**
X_2X_2	**-11,8**	**± 4,1**	**-2,90**	**0,0012***	**-5,9**	**± 2,05**
X_2X_3	**-11,7**	**± 4,5**	**-2,60**	**0,0014***	**-5,85**	**± 2,25**
X_3X_3	0,03	±4,1	0,007	0,4017	0,015	± 2,05

*Fatores estatisticamente significativos ($p<0,05$). $t_{tabelado}$ 0,05;15 = 1,76

Considerando apenas os coeficientes significativos constantes na Tabela 10, foi gerada a equação 08 que explica matematicamente como cada variável afeta a remoção de DQO. Pode ser verificado que apenas o fator X_3 quadrático não foi significativo na remoção da DQO.

$$Remoção\ de\ DQO(\%)=63,2+X_1(2,1-1,95X_1+8,15X_2+4,15X_3)+X_2(-2,0-5,9X_2\ -5,85X_3)$$

Equação 08

Para avaliar a equação 08 em relação a sua utilização como modelo para fins preditivos e interpretativos, foi conduzida Análise de Variância (ANOVA) (NETO, SCARMÍNIO, BRUNS; 2002), estando os resultados apresentados na Tabela 11.

Conforme verificado na Tabela 11, o modelo pode ser considerado satisfatório, explicando 85,69 % (R^2= 0,8569) da variação em torno da média ao nível de 95% de confiança. No teste de Fisher (F) foi verificado que o valor de $F_{calculado}$ foi superior ao valor de $F_{tabelado}$, demonstrando que a regressão envolvendo as variáveis do estudo pode ser considerada significativa e adequada para ser utilizada para fins preditivos (BOX; HUNTER; HUNTER, 1978).

Tabela 11 – Análise de variância para a remoção da DQO para regressão do modelo apresentado na Equação 08.

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F_{calc}
Modelo	8	1466,40	178,84	8,0
Falta de ajuste	5	244,784	48,95	-
Erro puro	1	0,00125	0,00125	-
Total	14	1711,11	-	-

R^2=85,695; F_{tab}0,05;8;6 = 4,82
GL = Grau de Liberdade; SQ = Soma dos quadrados; QM = Quadrado Médio; F_{calc} = F calculado.

Através da análise dos dados mostrados na Tabela 11, é possível verificar que o modelo matemático foi significativo e que não houve evidências de falta de ajuste. Esse resultado, associado às altas porcentagens de variância explicada, indicam que o modelo quadrático obtido (Equação 08), é adequado para descrever a região experimental estudada.

Para a estimativa da remoção de DQO do efluente pelo fungo *Pleurotus ostreatus*, foi construído gráfico de superfície de resposta, o qual está apresentado na Figura 11.

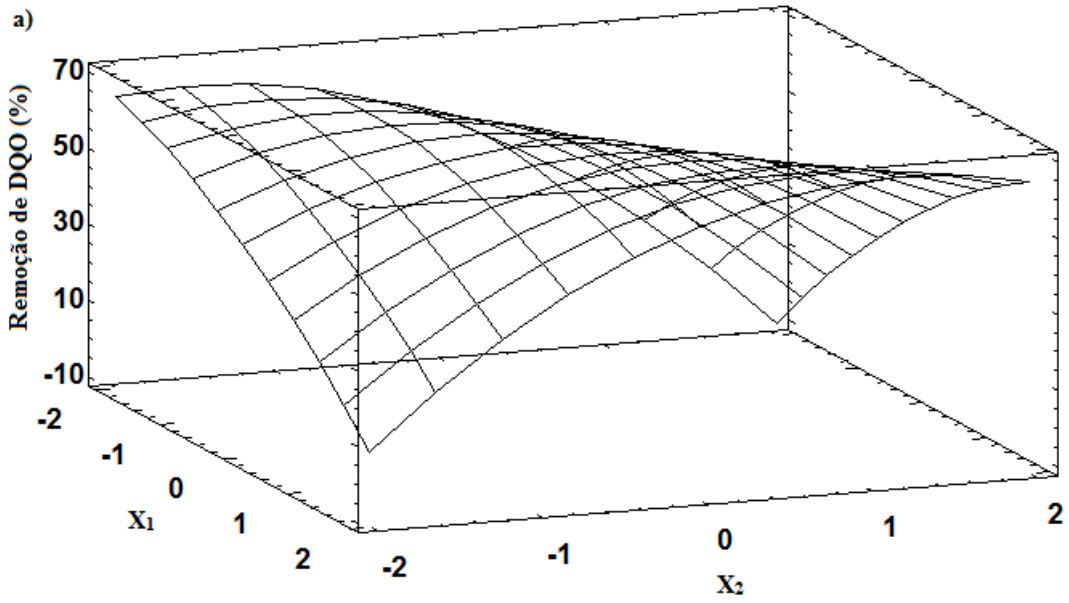


Figura 11 – Gráfico de Superfície de resposta para remoção de DQO do efluente, após tratamento pelo fungo *Pleurotus ostreatus*, em função do pH (X_1) e concentração de sacarose (X_2).

Conforme pode ser verificado na Figura 11, à maior capacidade de remoção de DQO é verificada em condições onde são empregados menores valores de pH associado a menores concentrações de sacarose, bem como em condições onde é combinado maiores valores de pH e maiores concentrações de sacarose.

Para a determinação da melhor condição de tratamento, além da análise do gráfico de superfície de resposta (Figura 11), foi considerado o gráfico de efeitos de cada variável em função da remoção de DQO (Figura 12).

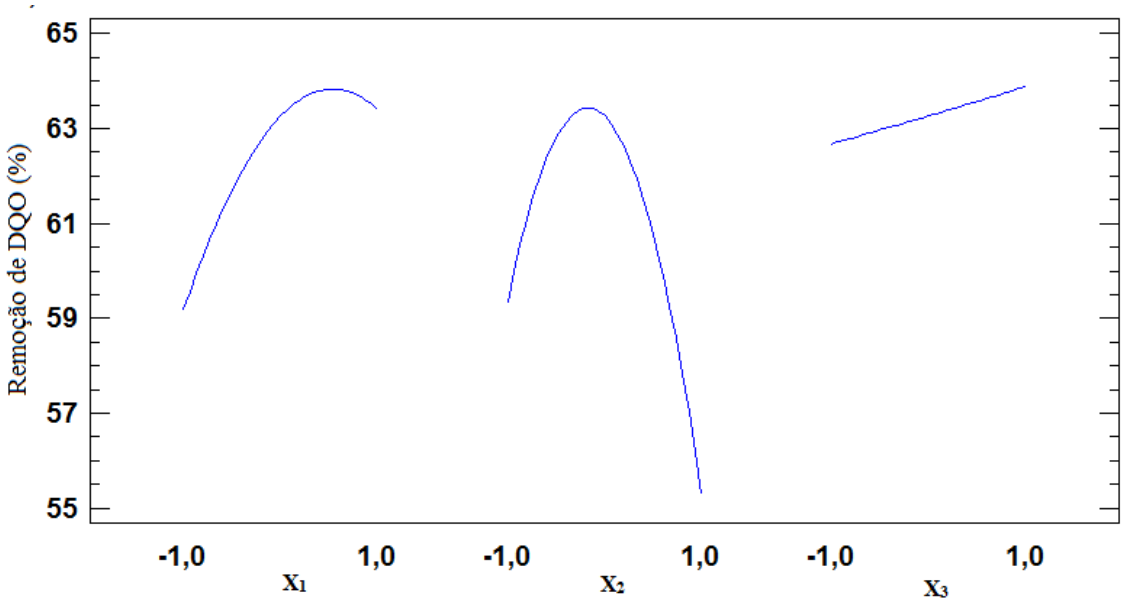


Figura 12 – Gráfico de efeitos de cada variável (X_1, X_2 e X_3) em função da porcentagem de remoção de DQO.

Através do gráfico de efeitos de cada variável (X_1, X_2 e X_3) na remoção de DQO (Figura 12), pode ser verificado que o aumento da variável pH (X_1) afeta significativamente a remoção de DQO, porém quando o pH está em seu nível superior o mesmo não é a melhor condição para a remoção de DQO, isso provavelmente ocorre pois o pH afeta significativamente o metabolismo do fungo *Pleurotus ostreatus*.

O parâmetro concentração de sacarose (X_2), afeta também a remoção de DQO do efluente, sendo que inicialmente esperava-se que uma maior concentração inicial de fonte de carbono de fácil assimilação, promoveria um maior crescimento celular e com isso uma eficiência maior no tratamento. Porém, o nível intermediário se mostrou a melhor condição para a remoção de DQO conforme Figura 12. Possivelmente em condições de elevadas concentrações de sacarose, menores concentrações de enzimas lignolíticas são produzidas pelo fungo, visto que haveria grande disponibilidade de substrato disponível para o microrganismo.

A concentração de nitrato de amônio (X_3), afeta linearmente a remoção de DQO, porém seu efeito foi o menos significativo na análise estatística, isso provavelmente ocorre pois o efluente já possui uma quantidade considerável de nitrogênio orgânico em sua composição. Outro fator que pode contribuir para isso seria que fontes de nitrogênio

inorgânico não é utilizada no metabolismo do fungo tão facilmente quanto fontes de nitrogênio orgânico (MAHAPATRA; BANERJEE, 2013).

Desta forma a condição considerada como a mais favorável para o tratamento biológico na remoção de DQO, foi de: pH(X_1) operacional igual a 5,7, concentração de sacarose (X_2) igual a 7,5 gL^{-1} e concentração de nitrato de amônio (X_3), igual a 4,0 gL^{-1}.

O estudo da remoção de fenóis totais a partir do delineamento experimental também foi realizado, porém o modelo matemático gerado, explicou apenas 73,76 % das respostas o que foi considerado não satisfatório para a predição de respostas, desta forma apenas foi utilizado como respostas para o delineamento experimental a remoção de DQO.

5.2.2 Redução de Cor e Fenóis Totais

Uma interpretação univariada dos dados constantes na matriz do delineamento experimental (Tabela 9) permitiu a inferência dos efeitos do tratamento sobre a redução de cor e de fenóis totais.

Quando avaliado o parâmetro cor do efluente, foi verificado que após o tratamento de 10 dias nas condições de tratamento houve aumento da coloração em todos os experimentos, ocorrendo desde um acréscimo de 37,6 % a 164,5 %, atribuídas ao ensaios 10 e 13, respectivamente. Este aumento de coloração durante o processo de tratamento possivelmente é resultado da geração de intermediários cromóforos durante o tratamento.

Esta condição pode ser visualizada na Figura 13, que representa o espectro UV-Vis do efluente bruto e tratado em uma das condições. Neste é possível observar que houve uma pequena redução no ombro característico da lignina (comprimento de onda 280 nm), e um aumento nas absorções da região visível, também caracterizada pela maior coloração no efluente tratado em relação ao efluente bruto, em todas as condições do tratamento estudadas.

Analisando os fenóis totais após o tratamento do efluente~~s~~ foi observado que ocorreram remoções mínimas e máximas da ordem de 14,7 % a 45,6% atribuídas ao ensaios 02 e 07, respectivamente. Sendo que no ensaio 2 foi empregado o nível -1 de pH concentração de sacarose no nível (+1) e concentração de nitrato de amônio no nível (+1), o qual apresentou também uma baixa remoção de DQO (40,93%). Já o ensaio 07, que foi conduzido utilizando nível de pH (+1) e concentração em sacarose (+1) e concentração de nitrato de amônio (+1), também se mostrou capaz de promover significativa eficiência de remoção de DQO (60,86 %).

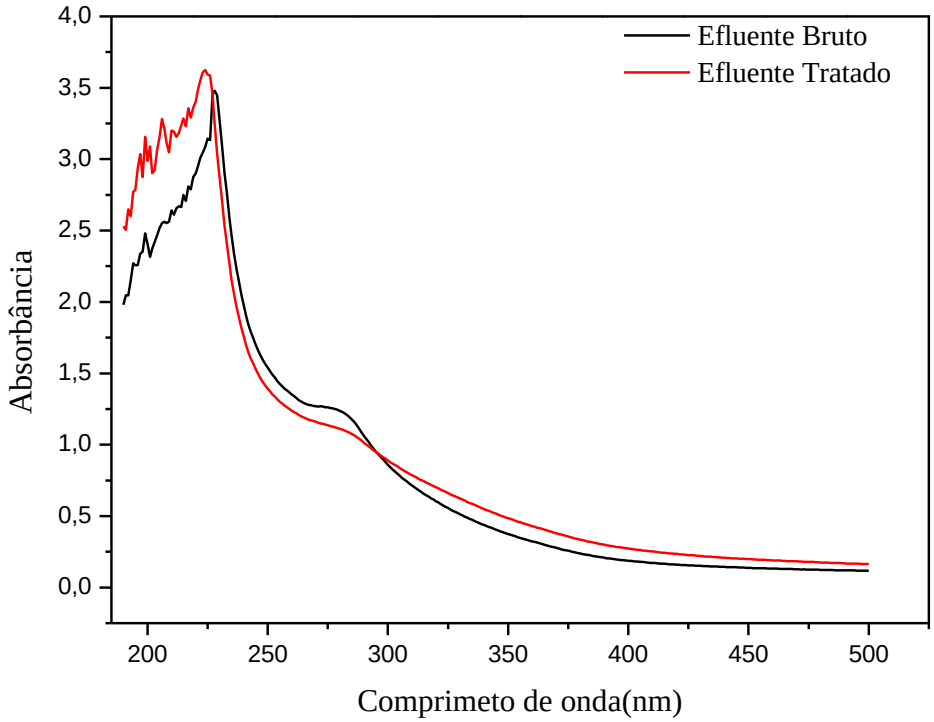


Figura 13 – Espectro UV-Vis do efluente bruto, juntamente com o efluente tratado (10 dias), (diluição 50x).

Barreto-Rodrigues, Aguiar e Cunha (2008) no tratamento de efluentes da indústria de compensado utilizando o fungo *Lentinula edodes* UEC 2019, obtiveram redução de fenóis na faixa de 26% a 56%, em apenas 10 dias de tratamento e redução de cerca de 92% quando o tempo de tratamento foi elevado para 30 dias.

Souza et al.(2014), obtiveram reduções máximas de 34,0% de fenóis totais após 48 horas de incubação utilizando os fungos *L. edodes*, *T. versicolor e T. vilosa*, valor este não variando até 120 horas de tratamento.

5.3 BIOTRATAMENTO EM CONDIÇÕES OTIMIZADAS

Após condução do delineamento experimental em shaker, e obtenção das condições otimizadas para o processo, o tempo de tratamento foi alterado de 10 dias para 30 dias em shaker e 40 dias em reator *air lift*. Amostras foram coletadas em intervalos de 10 dias, para realização das análises do tratamento. Embora a hidrodinâmica destes tratamentos sejam relativamente diferentes, a utilização das condições obtidas pelo modelo em frascos agitados

foi conduzida com objetivo comparativo para estimar a influência de possíveis covariáveis ao bioprocesso.

Com a finalidade de verificar a eficiência do tratamento e sua influência sobre a redução da demanda química de oxigênio (DQO), fenóis totais e cor, além da redução de picos característicos no espectro UV-Vis e Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) foi conduzido um plano de amostragem ao longo dos tratamentos realizados.

5.3.1 Parâmetros Físico-químicos Avaliados Durante o Tratamento

Ao iniciar o experimento em reator *air lift* verificou-se a formação de espuma, o que não ocorreu em incubadora orbital (*shaker*). Isso ocorreu provavelmente devido a dois fatores: i) presença de extrativos da madeira que são saponificáveis e ii) alteração na forma de difusão de ar no meio. Desta forma, foram testados agentes antiespumantes triton X, twenn 20 e álcool isoamílico, sendo este último o que obteve eficiente redução da espuma e rápida evaporação.

A Tabela 12, apresenta os valores iniciais e finais para os parâmetros DQO, DBO_5, fenóis totais e sólidos totais, após tratamento prolongado em reator *air lift* e 30 dias em incubadora orbital (*shaker*).

Tabela 12 – Parâmetros físico-químicos do tratamento em condições otimizadas em tempos prolongados.

	Parâmetros	*Inicial (Bruto)*	*10 dias de Tratamento*	*20 dias de Tratamento*	*30 dias de Tratamento*	*40 dias de Tratamento*
Tratamento em reator *air lift*	*pH*	5,7	5,9	6,5	7,1	7,5
	DQO (mgO_2L^{-1})	12192 ± 100	6018 ± 80	3358 ±75	2350 ± 65	1535 ± 70
	DBO_5 (mgO_2L^{-1})	8.849 ± 60	--	--	--	639 ± 60
	Fenóis Totais (mgL^{-1})	1272 ± 5	892 ± 10	610 ± 5	361 ± 5	345 ± 5
	Sólidos Totais (gL^{-1})	18,45 ± 0,15	--	--	--	4,95 ± 0,30
Tratamento em *shaker*	*pH*	5,7	6,0	6,3	6,9	--*
	DQO (mgO_2L^{-1})	12192 ± 100	4870 ± 85	4478 ± 80	3978 ± 60	--*
	DBO_5 (mgO_2L^{-1})	8.849 ± 60	--	--	1409 ± 60	--*
	Fenóis Totais (mgL^{-1})	1272 ± 5	836 ± 5	741 ± 10	540,2 ± 10	--*
	Sólidos Totais (gL^{-1})	18,45 ± 0,15	--	--	11,27 ± 0,30	--*

--:Não determinado;* reator finalizado em 30 dias.

O modelo matemático previu remoção de DQO de 64 % nos dez primeiros de tratamento em condições otimizadas, sendo que experimentalmente (*shaker*) foi obtido redução de 60 % de DQO, próximo ao previsto pelo modelo, porém verificamos que o tratamento em reator *air lift* não foi tão eficiente quanto previsto, obtendo redução de DQO da ordem de 50 %, sendo que isso provavelmente se deve a possíveis efeitos do álcool

isoamílico, utilizado para conter a formação de espuma o que causou aumento do tempo de adaptação do fungo *Pleurotus ostreatus* ao efluente.

O comportamento observado nos 10 primeiros dias não ocorreu no período restante do tratamento, sendo que em 20 dias a remoção de DQO observado em reator *air lift* já era 9 % superior ao em shaker (63 %). Aos 30 dias de tratamento foi verificada redução de 80 % de DQO em reator *air lift*, enquanto que em *shaker* verificou-se redução de 67 % de DQO, sugerindo uma elevada taxa de mineralização do conteúdo orgânico presente no efluente.

O parâmetro DBO_5 foi monitorado no início e ao final do tratamento, com resultados significativos de remoção de matéria orgânica biodegradável do efluente, sendo que em reator *air lift* a remoção de DBO_5 foi de 92 % ao final de 40 dias de tratamento. Já o tratamento em *shaker* após 30 dias de tratamento foi capaz de remover 85 % da matéria orgânica biodegradável do meio.

Ao analisar a razão de biodegradabilidade (DBO_5/DQO), foi constatado que a mesma foi reduzida de 0,72 no efluente bruto para 0,41 no efluente tratado em reator *air lift* e para 0,35 no efluente tratado em *shaker*. Fernandes et al., (2014) relatam esse comportamento de redução da razão de biodegradabilidade (0,51) no efluente bruto, sendo que após tratamento biológico (lodo ativado), a razão de biodegradabilidade foi reduzida a 0,13. Esse efeito é explicado pelo fato que após tratamento quase toda matéria orgânica biodegradável ter sido removida e a inerte (não biodegradável) permanece no meio (RODRIGUES,2005).

A partir dos dados descritos na Tabela 12, verifica-se que apesar da redução de 71 % do conteúdo de fenóis totais em reator *air lift* e 57 % em *shaker*, após 30 dias de tratamento a concentração de fenóis ainda é superior a legislação vigente (CONAMA-430/2011).

Pôde-se ainda, verificar possível relação entre redução de DQO e de fenóis totais ao longo do tratamento, sugerindo que a degradação de espécies fenólicas ocorre concomitante fragmentação dos macro-resíduos de lignina. Souza et al. (2014) obtiveram reduções de 34 % de fenóis totais utilizando *Trametes villosa* em um tempo de tratamento de 48 horas.

Com relação ao teor de sólidos totais no efluente, após 40 dias de tratamento em reator *air lift*, houve reduzido em 73 %. Por outro lado, o tratamento em shaker durante 30 dias foi capaz de reduzir o teor de sólidos em apenas 39 %. Tal comportamento é comum perante a aplicação de processos biológicos.

No tratamentos biológicos, o pH do efluente está diretamente relacionado ao metabolismo dos microrganismos. Durante o tratamento em reator *air lift* e em *Shaker*

observa-se comportamento semelhante de aumento do pH ao longo do tratamento chegando ao pH 7,5 ao final de 40 dias em reator *air lift* e pH 6,9 em 30 dias em Shaker. Souza et al. (2014) em seu estudo de biotratamento de efluente de branqueamento de polpa Kraft, também observou elevação de pH ao longo do tratamento biológico utilizando os fungos *L. edodes*, *T. versicolor e T. villosa* em um período de 120 horas.

De maneira geral, podemos observar que o tratamento em reator *air lift* obteve eficiência superior ao tratamento em *shaker* para todos os parâmetros analisados. Essa maior eficiência pode estar relacionada a oxigenação do meio e a hidrodinâmica do reator. Souza (2004) relata que uma baixa oxigenação do meio diminui o metabolismo aeróbio do fungo e a movimentação micelial, afetando desta forma a eficiência do tratamento em efluentes lignocelulósicos.

5.3.2 Redução da Cor e de Absorbância

A Figura 14a apresenta a varredura UV-Visível para o efluente antes e após tratamento em reator *air lift*, ao longo de 40 dias. Observa-se um decaimento gradativo da absorbância nos comprimentos de onda próximos de 280 nm, pico este característico da lignina ao longo dos 40 dias de tratamento. Podemos observar também que em 10 dias de tratamento, houve um aumento da coloração do efluente em 49% no espectro visível e após 20, 30 e 40 dias ocorre uma redução na coloração do efluente em 36 % em relação a cor inicial ao final do processo.

O efluente tratado em *shake*r apresentou comportamento semelhante ao efluente tratado em reator *air lift*. Porém, em todos os tempos de coleta de amostra observa-se aumento da coloração do efluente no espectro visível, chegando a 82 % de aumento de cor ao final de 30 dias de tratamento (Figura 14b). Esse comportamento também foi observado por Souza et al. (2014), o qual atribuiu este comportamento devido a desorção de compostos cromóforos impregnados no micélio ou à atividade de enzimas sobre derivados de lignina produzindo compostos cromóforos.

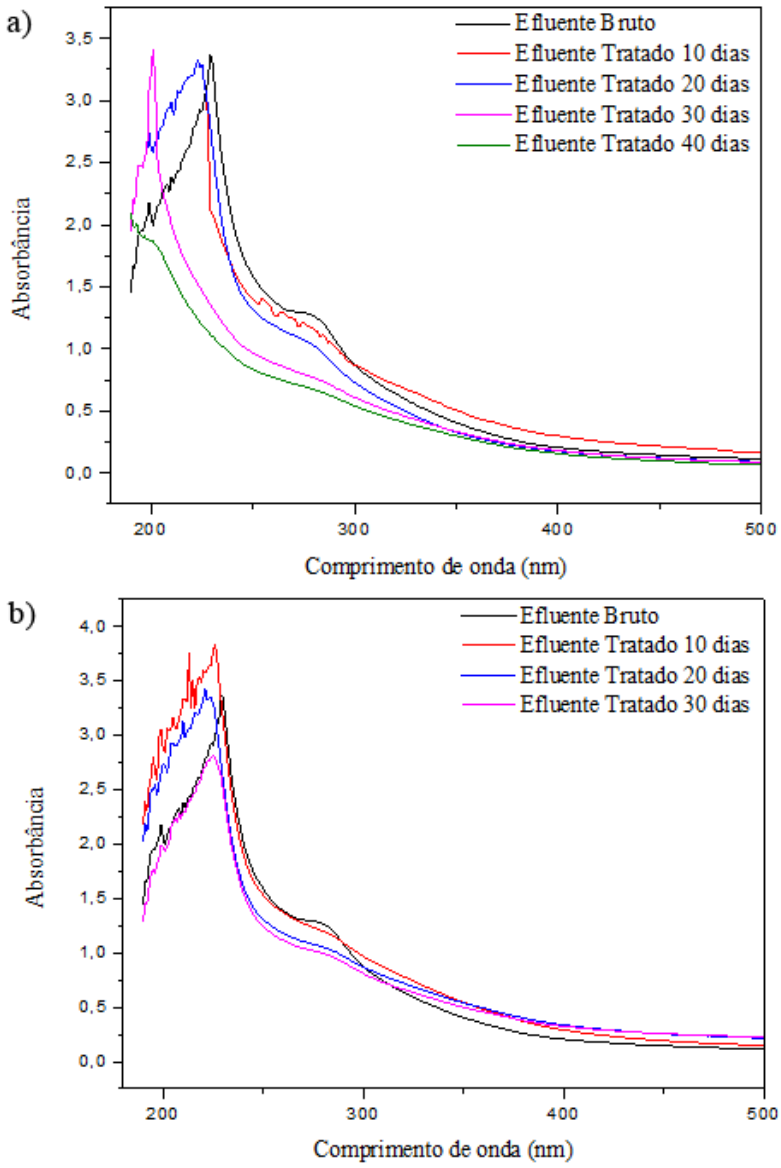


Figura 14 – Espectro UV-Vis para o efluente bruto e tratado em reator *air lift*, ao longo de 40 dias, (diluição 50x) (a); Espectro UV-Vis para o efluente bruto e tratado em *shaker*, ao longo de 30 dias, (diluição 50x)(b).

5.3.3 Avaliação da Degradação de Compostos do Efluente Via Análise do Infravermelho

A Figura 15, apresenta os espectros no infravermelho para o efluente bruto e para o efluente tratado em reator *air lift*. Fica evidenciado, que após tratamento em reator *air lift* houve relativa redução das absorções espectrais em relação ao efluente bruto.

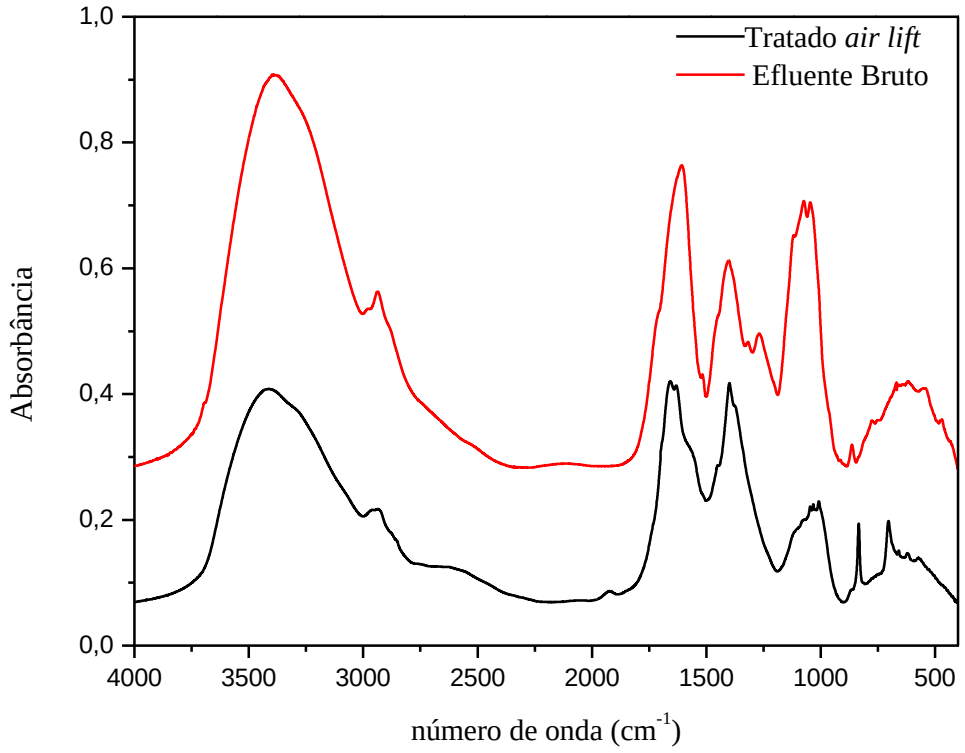


Figura 15 – Espectro de Infravermelho para o efluente bruto e após tratamento reator *air lift.*

Neste caso, fica evidente também que a aplicação do tratamento biológico está de fato removendo os compostos do efluente, pois a clara redução de intensidade de picos no espectro, havendo sinais de degradação de grupos funcionais caracterizados pelos picos em 1300 cm^{-1} atribuído ao estiramento C-O e a intensificação de picos em na região de 800 cm^{-1} e 600 cm^{-1}, aproximadamente, característicos da função carbonila e anel aromático, respectivamente, grupamentos típicos de fragmento lignocelulíticos.

5.3.4 Estudo da Adsorção Micelial

A adsorção micelial é parte integrante do processo de biorremediação aplicada ao tratamento de efluentes com fungos (Souza et al. 2014). Neste trabalho, a influência da adsorção micelial foi investigada pelo estudo de remoção dos parâmetros cor, fenóis totais e DQO durante o tratamento do efluente pelo fungo *Pleurotus ostreatus.*

O micélio autoclavado de *Pleurotus ostreatus* foi capaz e reduzir 6,76±0,78% da DQO do efluente, 3,16±0,55% de fenóis totais e redução de 49,4±3,06% de sua coloração em

24 horas de contato. A Figura 16 mostra o aspecto do fungo *Pleurotus ostreatus* antes e após 24 horas do estudo de adsorção micelial.

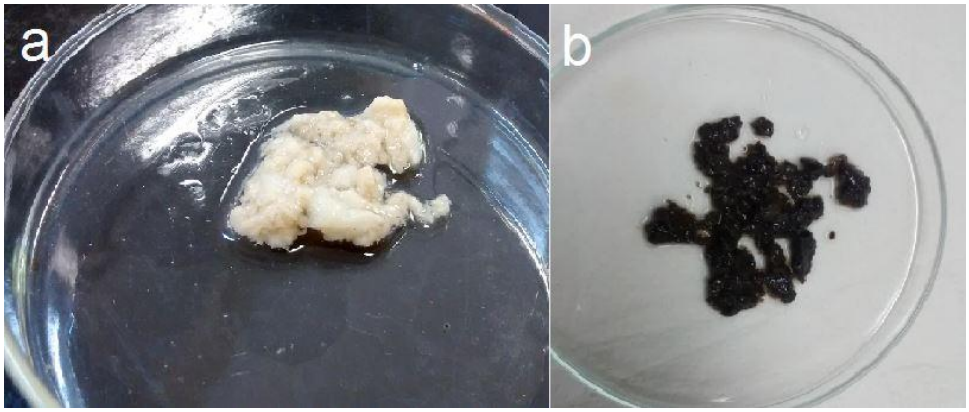


Figura 16 – Aspecto do micélio do fungo *Pleurotus ostreatus* autoclavado: a) antes do estudo de adsorção; b) após estudo de adsorção.

A capacidade de adsorção da biomassa de *P. ostreatu*s já foi reportada na literatura. Por Javaid et al. (2011) estudaram a remoção de metais pesados utilizando o micélio do fungo *Pleurotus ostreatus*. Este autores observaram capacidades de adsorção máximas de 8,06; 20,40; 3,22 e10,75 mgg^{-1} para os metais Cu(II), Ni(II), Zn(II) e Cr(VI), respectivamente. Já em ensaios com biomassa reciclada estes autores verificaram que sua repetida utilização leva a redução na eficácia da adsorção. Por outro lado, Souza et al. (2014) avaliaram a influência da adsorção do micélio autoclavado na redução de cor, DQO e fenóis totais do efluente de branqueamento de papel, onde foi observado que o micélio reduziu entre 15 e 20% da cor (24 h), 4 e 8% dos fenóis totais (48 h) e 3 e 7% da DQO do efluente (96 h), observando que a atividade bioquímica foi mais significativa na remoção destes parâmetros que o fenômeno de adsorção micelial.

Pelos resultados apresentados, a adsorção micelial (com micélio autoclavado) parece ser mais significativa do que atividade bioquímica do fungo para a remoção de cor do efluente. Já as remoções de DQO e fenóis totais no tratamento com micélio autoclavado foram relativamente baixas, sugerindo que a atividade enzimática atua sobre a remoção destes parâmetros no efluente.

5.4 ASSOCIAÇÃO DO TRATAMENTO FÚNGICO COM PROCESSO OXIDATIVO AVANÇADO DO TIPO FENTON

Considerando que após tratamento biológico em reator *air lift* foi verificado que a razão de biodegradabilidade (DBO_5/DQO) teve redução de 0,72 do efluente bruto, para 0,41 no efluente tratado, a complementação deste tratamento com qualquer tecnologia de natureza biológica seria relativamente difícil (JARDIM E CANELA, 2004). Baseado neste argumento foi aplicado ao efluente um Processo Oxidativo Avançado do tipo Fenton, como estratégia se atingir os parâmetros legais de lançamento.

O Processo Fenton foi aplicado ao efluente tratado em reator *air lift* em duas condições, a primeira com Fe^{+2} e H_2O_2 em concentrações estequiométricas (100,0 mgL^{-1}) e a segunda condição com concentração cinco vezes maior de H_2O_2 (500,0 mgL^{-1}) em relação a Fe^{+2} (100,0 mgL^{-1}). Após a retirada de amostras, o pH do meio foi elevado a 9,0 promovendo a precipitação do ferro, na forma de óxidos hidratados e hidróxidos de ferro, com consequente paralização da reação de Fenton.

Na Figura 17 pode-se observar a redução de DQO após a associação de tratamento biológico (*air lift* 40 dias) X POA tipo Fenton (60 minutos) com as diferentes razões molares [Fe(II)]: [H_2O_2] (condições 1 e 2).

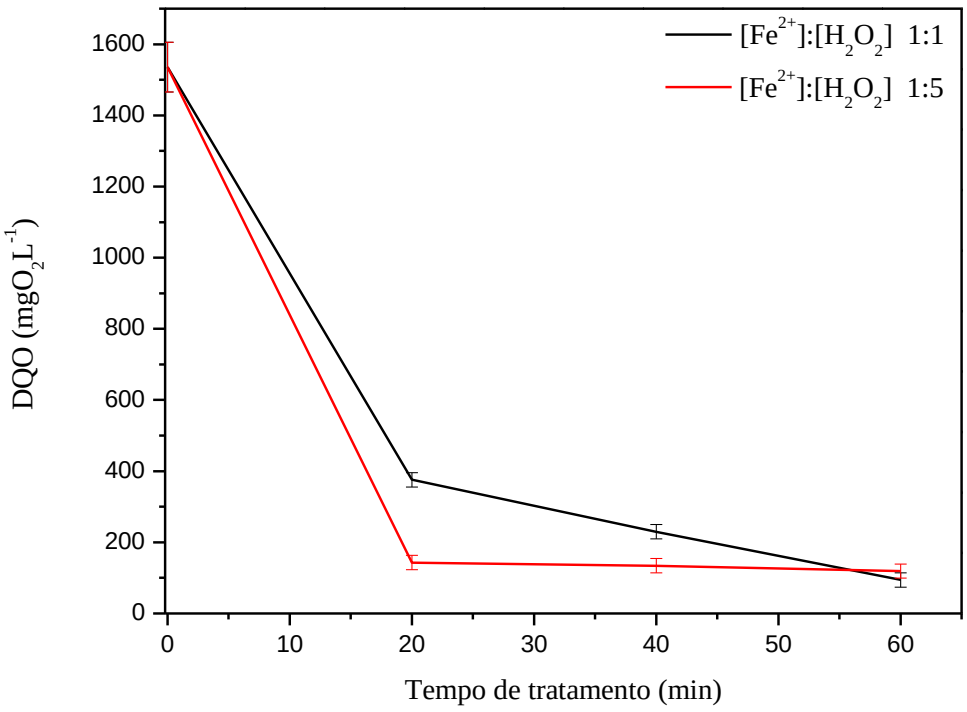


Figura 17 – Redução de DQO durante a associação biológico (*air lift* 40 dias) X POA tipo Fenton (60 minutos).

Buscando analisar o efeito do POA aplicado sobre o conteúdo orgânico do efluente, realizou-se a análise de DQO verificando-se uma redução de 75 % segundo a razão molar 1:1 e 91 % na razão molar 1:5, em apenas 20 minutos de reação, o que condiz com o esperado, uma utilização de maior quantidade de peróxido de hidrogênio fez com que a remoção de DQO ocorre-se de forma mais rápida. Porém, após 60 minutos de reação, a remoção com a menor concentração de peróxido de hidrogênio (condição 01) chegou a 94 %, sendo que ao final do processo não houve diferença significativa para a remoção de DQO em relação as duas condições de tratamento. A remoção de DQO resultante da aplicação do processo fúngico associado ao POA tipo Fenton foi de 99% para a condição 1 e 99% para a condição 2.

Na Figura 18 pode-se observar de redução fenóis totais durante a associação biológico (*air lift* 40 dias) X POA tipo Fenton (60 minutos) com as diferentes concentrações de H_2O_2 (condições 1 e 2).

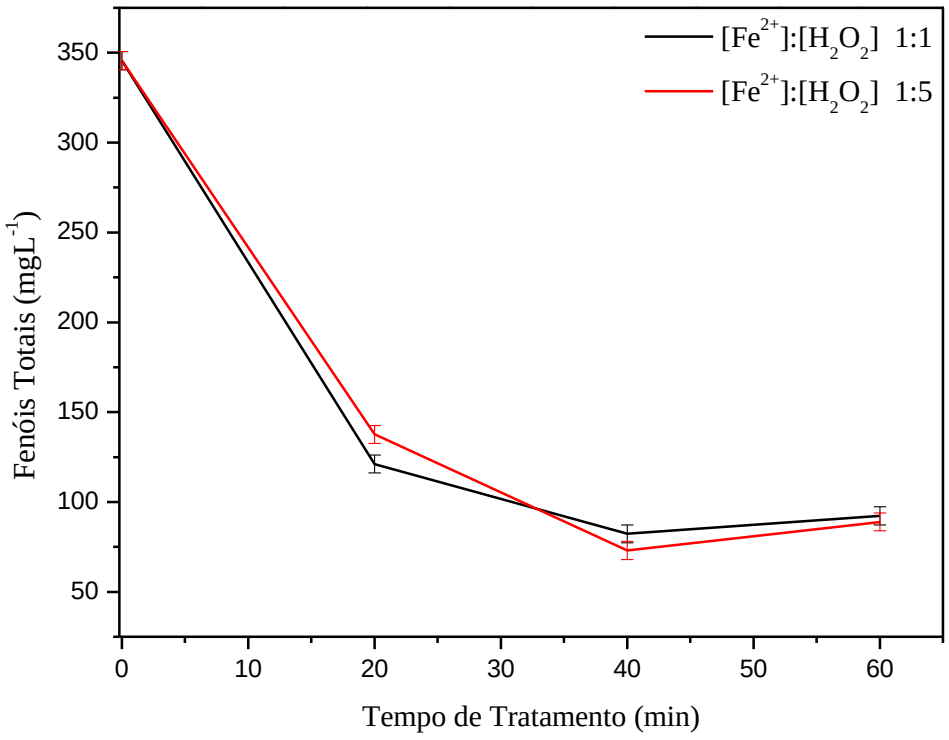


Figura 18 – Redução de Fenóis totais durante a associação biológico (*air lift* 40 dias) X POA tipo Fenton (60 minutos).

Ao analisar a concentração de fenóis totais, observou-se uma significativa redução nos primeiros 40 minutos de tratamento, chegando a uma porcentagem de redução igual a 76,19% utilizando a condição 1 e 79 % de redução utilizando a condição 2. No entanto, ao analisar o tratado obtido após 60 minutos, observou-se uma discreta elevação na concentração de fenóis igual a 12 % e 21 % para condições 1 e 2 respectivamente, em relação ao tempo 40 min, porém ao final do processo não há diferença significativa para a remoção de fenóis totais em relação as condições de tratamento estudadas, tendo uma eficiência no processo na ordem de 73 % e 74 % para condições 1 e 2, respectivamente. A remoção de fenóis totais resultante da aplicação do processo fúngico associado ao POA tipo Fenton foi de 93 % para a condição 1 e 93 % para a condição 2.

Em estudo similar Borba, Sottoriva, Móndenes (2008) aplicaram processo foto-Fenton em efluente da indústria madeireira (conservação de madeira), obtendo remoção de cor de 97,59 % na o comprimento de onda 660 nm, redução de 87,8 % na DQO e 96,36% na DBO_5 utilizando uma concentração de Ferro (II) (812 mgL^{-1}), oito vezes superior ao presente trabalho e uma concentração de H_2O_2 (5646 mgL^{-1}), valor este cinquenta vezes superior ao utilizado neste trabalho. Desta forma o presente trabalho conseguiu resultados similares utilizando uma quantidade inferior de insumos.

A associação de Processos biológico X POA tipo Fenton também se mostrou bastante eficaz tanto na remoção de DQO, fenóis totais e cor do efluente, em estudo similar realizado por Barreto-Rodrigues et al., (2009) que estudaram o tratamento de efluente da indústria de nitrocelulose aplicando a associação de biológico x fotocatalítico e fotocatalítico x biológico, obtendo como melhor resultado sinérgico associação do processo biológico x fotocatalítico que foi capaz de reduzir 94 % da cor, 93 % de fenóis totais e 62 % do carbono orgânico total, sendo este resultado explicado pelo fato do tratamento biológico como processo preliminar, ter reduzido o teor de compostos cromóforos de modo a aumentar a eficiência fotônica do tratamento fotocatalítico aplicado posteriormente.

Huang et al., (2017) relatam que a aplicação de processo Fenton em efluentes com carga orgânica elevada pode fazer com que ocorra competição por radicais hidroxila, levando a não mineralização das moléculas de interesse (recalcitrantes), elevando o custo da aplicação do processo e possivelmete o declinio na eficiência da remediação.

5.5 ASPECTO ECOTOXICOLÓGICO DO EFLUENTE BRUTO E TRATADO

Do ponto de vista ecotoxicológico, os processos biológicos isolados e associação com o POA tipo Fenton foram capazes de reduzir a toxicidade do efluente da indústria de compensado, conforme Tabela 13.

Tabela 13 – Resultados obtidos para ecotoxicidade aguda frente a *E. coli* do efluente em diferentes tratamentos.

	Amostras			
Parâmetro	**Efluente Bruto**	**Efluente Tratado *shaker***	**Efluente Tratado em *air lift***	**Associação Trat biológico + Fenton**
Toxicidade*	71 %	35 %	1 %	0 %

*Inibição de crescimento de *E. coli*.

A toxicidade inicial do efluente bruto foi de 71 %, sendo esta reduzida para 35 % no efluente tratado em *shaker*, 1 % no efluente tratado em reator *air lift*, sendo que após complementação utilizando Fenton a toxicidade do efluente foi eliminada. Estes resultados corroboram o entendimento que a aplicação de POA's se justifica melhor, em termos de eficácia, ao tratamento de resíduos como elevada biorecalcitrância, porém menor carga orgânica (HUANG et al., 2017). Raj et al., (2014) estudando a bioremediação de efluentes da indústria de celulose e papel, também observou redução da toxicidade após o tratamento de biológico.

O teste de crescimento radial do fungo *Pleurotus ostreatus* foi realizado no efluente bruto e efluente tratado em reator *air lift*, devido ao volume de efluente utilizado para o teste. Através desta analise verificou-se que o efluente bruto não apresentava toxicidade perante nenhuma concentração do mesmo, sendo sua taxa de crescimento radial igual ao do controle (placas contendo somente ágar *Sabouraud* com cloranfenicol), sob as mesmas condições, apresentando um crescimento de 0,62 cm dia^{-1}. Porém ao analisarmos as placas contendo o efluente tratado em reator *air lift* em diferentes concentrações foi observado que a taxa de crescimento radial do fungo aumentou para 0,82 cm dia^{-1} demonstrando que o efluente pós-tratamento biológico além, de não apresentar toxidade, foi capaz de auxiliar o fungo como fonte de nutrientes de fácil assimilação. Para efeito ilustrativo, a Figura 19 mostra o crescimento de halo do fungo nos ensaios controle, efluente bruto e tratado.

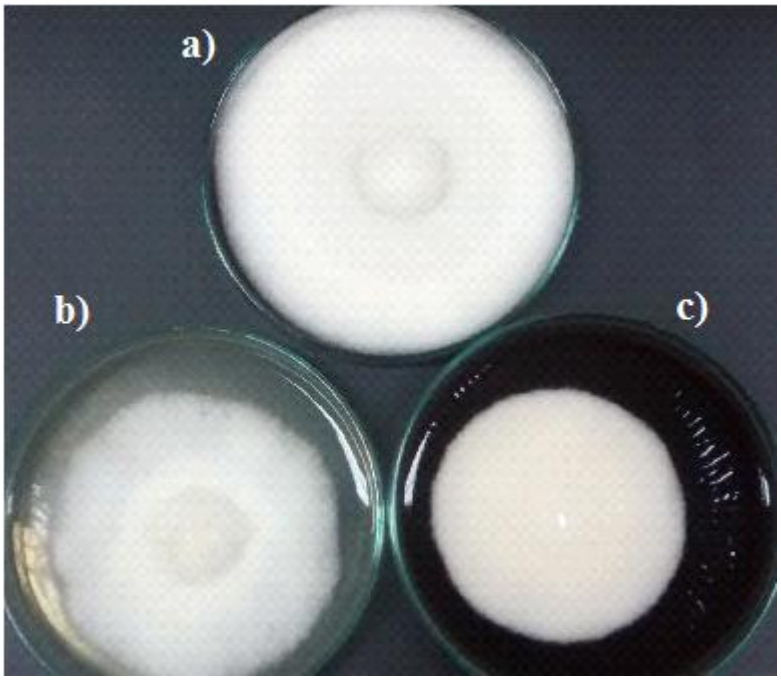


Figura 19 – Resultados dos testes de inibição do crescimento radial realizado com *P. ostreatus* em placas de Petri a) efluente tratado em *air lift;* b) controle; c) efluente bruto.

5.6 ASPECTOS LEGAIS DO EFLUENTE TRATADO

Tendo como base a legislação vigente no Brasil CONAMA 430/2011 e CEMA 070/2009, que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes em corpos hídricos receptores, buscou-se a comparação dos valores obtidos nos tratamentos, conforme a Tabela 14.

Tabela 14 – Comparação dos resultados finais de tratamento perante a legislação brasileira.

Parâmetros	Legislação	Efluente Bruto	Tratado em *Shaker*	Tratado em *air lift*	Tratado em *air lift* + Fenton
pH	5-9*	4,6	6,9	7,5	9,0
DQO (mg $O_2.L^{-1}$)	300**	12192	3978	1535	94
Redução de DQO (%)	60*	--	68	87	99
DBO_5(mg $O_2.L^{-1}$)	50**	8.849	1409	639	--
Fenóis Totais (mg.L^{-1})	0,5*	1272	540	345	92
Redução de fenóis Totais (%)	----	--	57	73	93
Cor (UC)	----	8.333	15184	5308	284,
Redução de cor (%)	----	--	Acr.. 82	36	97

*Conama 430/2011; **CEMA 070/2009; ---- Valor não estipulado pela legislação; -- Não aplicável/Não determinado; Acréscimo de.

Em relação ao pH, apesar do efluente bruto apresentar pH abaixo do limite legal, após os tratamentos os efluentes se apresentaram de acordo com a legislação que estipula uma

faixa entre 5 a 9 para lançamento, como era esperado em função do tipo de tratamento empregado.

A Redução de DQO foi significava aplicando o tratamento biológico em *shaker* e em reator *air lift* em relação ao efluente bruto, porém não se enquadrando ao limite estabelecido pela Cema 070/2009 (300 $mgO_2.L^{-1}$), lembrando que a legislação Conama 430/2011 não estabelece limite para este parâmetro. Tendo em vista que o lançamento destes efluentes em um corpo hídrico ainda causaria dano ambiental, pois ainda resta matéria orgânica a ser degradada, foi associado ao efluente tratado em reator *air lift* o POA do tipo Fenton, o qual demonstrou uma remoção ao final do processo de 99 % da DQO, atendendo a legislação Cema 070/2009.

Em relação a $DBO_{5,20}$, o tratamento biológico foi capaz de remover cerca 85 % da $DBO_{5,20}$ em *shaker* e 92 % da $DBO_{5,20}$ em reator *air lift*, estando de acordo com a legislação Conama 430/2011, que estipula uma remoção mínima de 60 %, porém não respeitando o limite estabelecido pela Cema 070/2009 (50 $mgO_2.L^{-1}$). Não foi realizada esta análise pós aplicação do POA tipo Fenton em função da indisponibilidade de volume de efluente.

O teor de fenóis totais do efluente bruto se mostrou bastante elevado quando comparado com a legislação, e mesmo após a aplicação do tratamento biológico estes valores não foram reduzidos de forma eficiente, porém, após a associação do processo Fenton obteve-se uma remoção de fenóis totais (93 %), mesmo assim não atingindo o limite estabelecido pela legislação Conama 430/2011 que é de 0,5 mgL^{-1}.

O parâmetro cor não é estipulado pela legislação, porém foi analisado em função da influência da estética do mesmo no momento do lançamento e em função que a mesma poderia impedir a fotossíntese das algas. Inicialmente o efluente bruto apresentava coloração intensa, porém com a aplicação do tratamento biológico em *shaker* houve acréscimo desta, provavelmente se deve ao desenvolvimento de compostos cromóforos oriundos da quebra de derivados de lignina. Por outro lado, utilizando o reator *air lift* houve redução da cor, porém seu aspecto visual praticamente não foi alterado. Finalmente, o tratamento biológico associado ao processo Fenton obteve o melhor resultado de redução deste parâmetro reduzindo 97 % da cor, alterando completamente o aspecto visual do mesmo.

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que o efluente da indústria de compensado possui grande potencial poluidor, caracterizado por uma elevada Demanda química de Oxigênio (DQO), fenóis totais, cor e toxicidade para *E. coli.*

O presente estudo demonstrou que o fungo *P. ostreatus* foi eficaz no tratamento biológico do efluente da indústria de compensado. Observou-se que a suplementação do meio e o aumento do tempo de tratamento levou a uma maior degradação dos compostos lignocelulósicos presentes no efluente.

A aplicação do tratamento biológico utilizando o fungo de degradação branca *Pleurotus ostreatus* em reator *air lift* foi mais eficaz na remoção de (DQO) (87 %), teor de fenóis totais (73 %), e cor (36 %), que o tratamento em incubadora orbital (*shaker*) o qual removeu de apenas 67,7% da DQO, 57,5% de fenóis totais e com incremento da cor em 82,2%. Através de análise de infravermelho (FTIR) das amostras obtidas após tratamento em reator *air lift* em condições otimizadas, verificou-se redução da absorbância em todo o espectro, confirmando a extensão da degradação verificada pelo parâmetro de DQO. A toxicidade aguda do efluente foi significativamente reduzida em 99% após tratamento biológico, sugerindo extensiva degradação de compostos intermediários promotores de efeito tóxico.

A aplicação do tratamento biológico e sua complementação com POA tipo fenton conseguiu atender ao parâmetro DQO da legislação Cema 70/2009 que estabelece limite máximo de 300 mgO_2L^{-1}, porém não atendeu ao parâmetro fenóis totais (limite máximo de 0,5 mgL^{-1}).

A associação do Processo Oxidativo Avançado (POA) tipo Fenton ao tratamento fúngico em *air lift* se mostrou significativamente eficaz alcançando remoções de 99 % da DQO, 93% do teor de fenóis totais, 97 % de cor do efluente e eliminando qualquer efeito tóxico ao crescimento de *E. coli*, alterando desta forma não somente o aspecto visual do efluente, mas seu conteúdo orgânico e carga ecotoxicológica.

De maneira geral, a utilização do fungo de degradação branca *Pleurotus ostreatus*, apresentou resultados promissores para biorremediação de efluentes da indústria de compensado, possuindo potencial para aplicação no tratamento deste efluente nas condições do estudo, embora esteja claro que o método empregado terá os mesmos problemas a serem contornados que os processos de tratamento convencionais (controle da temperatura, pH, aeração, etc.).

7 PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Consideramos importante a continuidade deste trabalho, desta forma, estão algumas linhas que o atual trabalho pode seguir:

- Estudo das vias metabólicas envolvidas na degradação dos compostos do efluente da indústria de compensado;
- A identificação e quantificação das enzimas envolvidas na degradação do efluente;
- Estudo de tratabilidade utilizando o micélio fúngico imobilizado;
- Estudo de caracterização qualitativa dos derivados de lignina e carboidratos presentes no efluente antes e após o tratamento biológico;
- Avaliação dos efeitos de *air stripping* no reator *air lif*t;
- Avaliação da potencialidade de uso da biomassa de *P. ostre*atus como adsorvente para tratamento terciário;
- Estudos de tratamento em escala-piloto que possam vir contribuir para a viabilidade técnica e econômica de aplicação em um futuro próximo;
- Estudos de otimização da aplicação do processo Fenton e outros processos oxidativos avançados como forma de polimento ao tratamento fúngico ou estudos de sua associação;
- Finalmente, consideramos de extrema importância à complementação de testes de toxicidade envolvendo organismos testes de níveis tróficos diferentes a fim de confirmar a toxicidade do efluente da indústria de compensado.

8 REFERÊNCIAS

ABIMCI. **Estudo Setorial 2009: Ano Base 2008**. Curitiba. 2009.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Standard Methods for the Examinations for Water and Wastewater. Whashington, D.C: 21th Centennial Edition, 2005.

AL-MASHHADANI, M. K. H.; WILKINSON, S. J.; ZIMMERMAN, W. B. *Airlift* bioreactor for biological applications with microbubble mediated transport processes. **Chemical Engineering Science**, v. 137, p. 243–253, 2015.

ALEXANDRINO, et al. Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus* (Jack :Fr). **Ciência e tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 364–368, 2007.

AGUIAR, A.; FERRAZ, A. Mecanismos Envolvidos na Biodegradação de Materiais Lignocelulósicos e Aplicações Tecnológicas Correlatas. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1729–1738, 2011.

American Society For Testing and Materials (ASTM). Methods. D.1106-56: Standard Test Method for Lignin in Wood, 1966.

BABUPONNUSAMI, A.; MUTHUKUMAR, K. A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewater treatment. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 1, p. 557–572, 2014.

BALLESTEROS MARTÍN, M. M. et al. Effect of pesticide concentration on the degradation process by combined solar photo-Fenton and biological treatment. **Water Research**, v. 43, n. 15, p. 3838–3848, 2009.

BARRETO-RODRIGUES, M. et al. Combined photocatalytic and fungal processes for the treatment of nitrocellulose industry wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, v. 161, n. 2-3, p. 1569–1573, 2009.

BARRETO-RODRIGUES, M; AGUIAR, C. M.; CUNHA, M. A. A. Biotreatment of an effluent from a wood laminate industry using *Lentinula edodes* UEC 2019. **Journal of Hazardous Materials**, v. 164, p. 1556–1560, 2009.

BORBA, F. H.; SOTTORIVA, P. R. S.; MÓDENES, A N. Tratamento do efluente

madeireiro por processo foto-Fenton. **Estudos Tecnológicos**, v. 4, n. 1, p. 12–20, 2008.

BOTÍA, D. C.; RODRÍGUEZ, M. S.; SARRIA, V. M. Evaluation of UV/TiO_2 and UV/ZnO photocatalytic systems coupled to a biological process for the treatment of bleaching pulp mill effluent. **Chemosphere**, v. 89, n. 6, p. 732–736, 2012.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W.G.; HUNTER, J.S. Statistics for experimenters. An introduction o design, data analysis and model building. Nova York: Editora Wiley, 1978.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Resolução n° 430/11.Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília, SEMA, 2011.

Canadian Pulp and Paper Association – CPPA. **Technical Section Standart Method**, H5P, 1975.

COHEN, R.; PERSKY, L.; HADAR, Y. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus* Applied. **Microbiology and Biotechnology**, 2002.

DAS, A. et al. Production, characterization and Congo red dye decolourizing efficiency of a laccase from *Pleurotus ostreatus* MTCC 142 cultivated on co-substrates of paddy straw and corn husk. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 14, n. 2, p. 281–288, 2016.

DRANDEV, S.; PANEV, K.; KARAMANEV, D. Study of the hydrodynamics and mass transfer in a rectangular *air-lift* bioreactor. **Chemical Engineering Science**. 2016.

EPA. Advanced Photochemical Oxidation Processes Handbook. Cincinnati: Enviromental Protection Agency, Center for Environmental Research Information, 1998.

FERNANDES, A. et al. Treatment of pulp mill wastewater by *Cryptococcus podzolicus* and solar photo-Fenton: A case study. **Chemical Engineering Journal**, v. 245, p. 158–165, 2014.

HADIBARATA, T.; KRISTANTI, R. A. Potential of a white-rot fungus *Pleurotus eryngii* F032 for degradation and transformation of fluorene**. Fungal Biology**, v. 118, n. 2, p. 222–227, 2013.

HAQ, I. et al. Evaluation of bioremediation potentiality of ligninolytic *Serratia liquefaciens* for detoxification of pulp and paper mill effluent. **Journal of Hazardous Materials**, v. 305, p. 190–199, 2016.

HEINTER, C. DIMMEL, D. SCHMIDT, J. **Lignin and lignans: advances in chemistry**. CRVPress, 2010.

HERMOSILLA, D. et al. Optimization of conventional Fenton and ultraviolet-assisted oxidation processes for the treatment of reverse osmosis retentate from a paper mill. **Waste Management**, v. 32, n. 6, p. 1236–1243, 2012.

HUANG, D. et al. Combination of Fenton processes and biotreatment for wastewater treatment and soil remediation. **Science of the Total Environment**, v. 574, p. 1599–1610, 2017.

IWAKIRI, S. Painéis de Madeira reconstituída. FUPEF. Curitiba. 2005.

JARDIM, W. F.; CANELA, M. C. Caderno Temático: Fundamentos da Oxidação Química no Tratamento de Efluentes e Remediação de Solos. IQ/Unicamp,UENF/RJ, 2004.

JAVAID, A. et al. Removal of heavy metals by adsorption on Pleurotus ostreatus. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 5, p. 1675–1682, 2011.

KAMIDA, H. M. et al. Biodegradação de efluente têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 629–632, 2005.

LITCHFIELD, C. Thirty Years and counting : Bioremediation in its prime. **BioScience**, v. 55, n.3, p. 273–279, 2005.

LUCAS, M. S. et al. Tertiary treatment of pulp mill wastewater by solar photo-Fenton. **Journal of Hazardous Materials**, v. 225-226, p. 173–181, 2012.

LUPOI, J. S. et al. Recent innovations in analytical methods for the qualitative and quantitative assessment of lignin. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 49, p. 871–906, 2015.

GAMA, M. R. Processos Fenton como Alternativa na Remoção de Interferentes Endócrinos e outros Micropoluentes Ambientais. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p. 777–787,

2012.

MAHAPATRA, S.; BANERJEE, D. Fungal Exopolysaccharide : Production , Composition and Applications. **Microbiology Insights**, p. 1–16, 2013.

MAITY, Kankan K. et al. A heteropolysaccharide from aqueous extract of an edible mushroom, *Pleurotus ostreatus* cultivar: structural and biological studies. **Carbohydrate Research**, v. 346, n. 2, p. 366–372, 2011.

MALAVIYA, P.; RATHORE, V. S. Bioremediation of pulp and paper mill effluent by a novel fungal consortium isolated from polluted soil. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 18, p. 3647–3651, 2007.

MÉNDEZ, J. A. O. et al. Detoxification of waters contaminated with phenol, formaldehyde and phenol-formaldehyde mixtures using a combination of biological treatments and advanced oxidation techniques. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 163, p. 63–73, 2015.

MERAYO, N. et al. Assessing the application of advanced oxidation processes, and their combination with biological treatment, to effluents from pulp and paper industry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 262, p. 420–427, 2013.

MORAIS, J. L. **Estudo da Potencialidade de Processos Oxidativos Avançados, Isolados e Integrados com Processos Biológicos Tradicionais,Para Tratamento de Chorume de Aterro Sanitário**. 2005. 207 f. Tese(Doutorado em Química) - Universidade Federal do Paraná-UFPR,Curitiba,2005.

MUNOZ, M. et al. Application of intensified Fenton oxidation to the treatment of sawmill wastewater. **Chemosphere**, v. 109, p. 34–41, 2014.

NETO, B.; SCARMÍNIO, S.; BRUNS, R. E. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. 2ª ed. Campinas, SP: Editora UNICAMP, 2002. 401 p.

NOGUEIRA, R. F. P. et al. Fundamentos e Aplicações Ambientais dos processos Fenton e Foto- Fenton. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 400–408, 2007.

PALLI, L. et al. Effect of carbon source on the degradation of 2-naphthalenesulfonic acid polymers mixture by *Pleurotus ostreatus* in petrochemical wastewater. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 12, p. 2272–2278, 2014.

PARANÁ. Conselho Estadual do Meio Ambiente – CEMA. Resolução n° 70/09. Dispõe sobre o licenciamento ambiental, estabelece condições e critérios e dá outras providências, para Empreendimentos Industriais. Curitiba, SEMA.2009.

PURNOMO, A. S. et al. Application of mushroom waste medium from *Pleurotus ostreatus* for bioremediation of DDT-contaminated soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 64, n. 5, p. 397–402, 2010.

PURNOMO, A. S. et al. Biotransformation of heptachlor and heptachlor epoxide by white-rot fungus *Pleurotus ostreatus***. International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 82, p. 40–44, 2013.

RAJ, A. et al. Bioremediation and toxicity reduction in pulp and paper mill effluent by newly isolated ligninolytic *Paenibacillus* sp. **Ecological Engineering**, v. 71, p. 355–362, 2014.

REMADE. **Produção de compensados a partir da produção de lâminas por tornos laminadores**. Nº 78. Fevereiro/2004. Disponível em: <http://www.remade.com.br/br/revistadamadeira_materia.php?num=421&subject=Compensado&title=Produ%E7%E3o%20de%20compensados%20a%20partir%20da%20produ%E7%E3o%20de%20l%E2minas%20por%20tornos%20laminadores>. Acesso em 17/03/2016.

RIBEIRO, A. R.; NUNES, O. C.; PEREIRA, M. F. R.; SILVA, A. M. T. An overview on the advanced oxidation processes applied for the treatment of water pollutants de fined in the recently launched Directive 2013 / 39 / EU. **Environment International**, v. 75, p. 33–51, 2015.

RODRIGUES, M. B. **Tratamento de Efluente Proveniente da Fabricação de TNT de uma Indústria de Explosivos Utilizando Processos Redutivos e Oxidativos Avançados**. 2005.132 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2005.

RODRIGUES, C. S. D. et al. Combination of chemical coagulation, photo-Fenton oxidation and biodegradation for the treatment of vinasse from sugar cane ethanol distillery. **Journal of Cleaner Production**, 2016.

RUZANE, D. S. **Obtenção de polpas de dissolução por processos Organosolv a partir de palha ou bagaço de cana de açúcar**. 2005. 132 f. Tese (doutorado em biotecnologia) - Faculdade de Engenharia de Lorena - USP, Lorena, 2005.

SALVI, M. B. de. Fungos Basidiomicetos em Biorremediação. Instituto de Botânica de São Paulo– IBT - Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. São

Paulo 2011. Disponível em: <http://www.biodiversidade.pgibt.ibot.sp.gov.br/Web/pdf/ Fungos_basidiomicetos_em_biorremediacao_Marina_Bianchini.pdf> Acesso em: 08 de Jan. de 2016.

SANTOS, C.LUCAS, M. S.DIAS, A. A.; BEZERRA, R. M. F.; PERES, J. A.; SAMPAIO, A. Winery wastewater treatment by combination of *Cryptococcus laurentii* and Fenton ' s reagent. **Chemosphere**, v. 117, p. 53–58, 2014.

SCHMIDELL, W. & FACCIOTTI, M.C.R. (2001). Biorreatores e processos fermentativos. In: Schmidell, W.; Lima, V. A.; Aquarone, E.; Borzani, W. **Biotecnologia Industrial**. Edgard Blucher LTDA. 2: 277-331.

SEVIMLI, M. F. et al. A comparative study for treatment of white liquor by different applications of Fenton process. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 7, n. 6, p. 1116–1123, 2012.

SADHASIVAM, S.; SAVITHA, S.; SWAMINATHAN, K. Deployment of *Trichoderma harzianum* WL1 laccase in pulp bleaching and paper industry effluent treatment. **Journal of Cleaner Production**, v. 18, n. 8, p. 799–806, 2010.

SHARARI, M. et al. Treatment of bagasse preparation effluent by *Phanerochaete chrysosporium* immobilized on polyurethane foam: Enzyme production versus pollution removal. **Industrial Crops and Products**, v. 46, p. 226–233, 2013.

SHINTANI, N.; SHODA, M. Decolorization of oxygen-delignified bleaching effluent and biobleaching of oxygen-delignified kraft pulp by non-white-rot fungus *Geotrichum candidum* Dec 1. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 25, n. S1, p. S164–S168, 2013.

SHIRKAVAND, E. et al. Combination of fungal and physicochemical processes for lignocellulosic biomass pretreatment - A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 54, p. 217–234, 2016.

SINGHAL, A.; THAKUR, I. S. Decolourization and detoxification of pulp and paper mill effluent by *Emericella nidulans* var. nidulans. **Journal of Hazardous Materials**, v. 171, n. 1-3, p. 619–625, 2009.

SOTTORIVA, P. R. S. **Remediação de Efluentes Têxteis por Processos Oxidativos Avançados Integrados a Lodos Ativados**. 2006. 192 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial)- Faculdade de Engenharia Química de Lorena- USP, Lorena, 2006.

SOUZA, É. S. et al. Treatment of an ECF bleaching effluent with white-rot fungi in an air-lift bioreactor. **Environmental Earth Sciences**, v. 72, n. 4, p. 1289–1294, 2014.

SOUZA, J. V. B. et al. Fungal treatment of a delignification effluent from a nitrocellulose industry. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 17, p. 1936–1942, 2005.

SOUZA, J. V. B. **Seleção de Fungos Para Tratamento de um Efluente de deslignificação da Indústria de Nitrocelulose**. 2004. 97 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Faculdade de Engenharia Química de Lorena – USP, Lorena,2004.

ŠRÉDLOVÁ, K.; KŘESINOVÁ, Z.; CAJTHAML, T. Biodegradations of polychlorinated biphenyls by *Pleurotus ostreatus*. New **Biotechnology**, v. 33, n. 2016, p. S134–S135, 2016.

STELUTI R. M., GIESE E.C., PIGGATO M. M. Comparison of *Botryosphaeran* production by the *ascomyceteous* fungus *Botryosphaeria* sp., grown on different carbohydrate carbon sources, and their partial structural features. **Journal of basic Microbiology**, v.44, p. 480-486, 2004.

TEIXEIRA, C.P.A.B.; JARDIM, W.F. Caderno Temático 3: Processos Oxidativos Avançados – Conceitos teóricos. IQ/Unicamp, 2004.

VOGEL, H.J.; A convenient growth medium for *Neurospora crassa*. **Genetic Bulletin**, v.13, p. 42-47, 1956.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade da água e ao tratamento de esgoto**. Vol.1. Coleção: Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Belo Horizonte: DESA/UFMG. 1996.

WANG, N. et al. A review on Fenton-like processes for organic wastewater treatment. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, n. 1, p. 762–787, 2016.

WANG, S. et al. The spent mushroom substrates of *Hypsizigus marmoreus* can be an effective component for growing the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. **Scientia Horticulturae**, v. 186, p. 217–222, 2015.

ZHANG, C. et al. Edible fungus degrade bisphenol A with no harmful effect on its fatty acid composition. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 118, p. 126–132, 2015.