



UFOP

**Universidade Federal de Ouro Preto
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental
Mestrado em Engenharia Ambiental**

Avaliação de sistemas combinados anaeróbio-aeróbio para o tratamento de efluente têxtil utilizando leveduras residuais como fonte nutricional

Marina Bahia de Menezes

Ouro Preto, MG

2016



**Universidade Federal de Ouro Preto
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental
Mestrado em Engenharia Ambiental**

Avaliação do sistemas combinados anaeróbio-aeróbio para o tratamento de efluente têxtil utilizando leveduras residuais como fonte nutricional

Marina Bahia de Menezes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Ouro Preto, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Área de Concentração: Tecnologia Ambiental.

Orientadora: Prof.a Dra. Silvana de Queiroz Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Sérgio Francisco de Aquino

Ouro Preto, MG

2016

M543a

Menezes, Marina Bahia de.

Avaliação de sistemas combinados anaeróbio-aeróbio para o tratamento de efluente têxtil utilizando leveduras residuais como fonte nutricional [manuscrito] / Marina Bahia de Menezes. - 2016.

109f.: il.: color; tabs; mapas.

Orientadora: Profa. Dra. Silvana de Queiroz Silva.

Coorientador: Prof. Dr. Sérgio Francisco de Aquino.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Departamento de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental.

Área de Concentração: Tecnologias Ambientais.

1. Indústria têxtil. 2. Águas residuais - Purificação - Tratamento biológico. 3. Microbiologia industrial. 4. Toxicidade - Testes. 5. Cor na indústria têxtil. I. Silva, Silvana de Queiroz. II. Aquino, Sérgio Francisco de. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU: 577:628.54

Catálogo: www.sisbin.ufop.br



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Ouro Preto
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental – PROAMB



Avaliação de sistemas combinados anaeróbio-aeróbio para o tratamento de efluente têxtil utilizando leveduras residuais como fonte nutricional

Autora: Marina Bahia de Menezes

Dissertação defendida e aprovada, em 24 de junho de 2016, pela banca examinadora constituída pelos professores:

Professora Dra. Silvana de Queiroz Silva - Orientadora
Universidade Federal de Ouro Preto

Professor Dr. Sérgio Francisco de Aquino - Coorientador
Universidade Federal de Ouro Preto

Professora Dra. Juliana Calábria de Araújo
Universidade Federal de Minas Gerais

Professor Dr. Aníbal da Fonseca Santiago
Universidade Federal de Ouro Preto

Dedico este trabalho a minha querida mãe Angélica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, a toda minha família, em especial aos meus pais Angélica e Celso, e ao meu irmão Pedro, por todo amor, apoio, incentivo e por sempre terem me deixado livre para escolher;

À minha orientadora professora Silvana pela atenção, colaboração, sugestões, incentivo e por ter me permitido arriscar. Ao professor co-orientador Sérgio pelas contribuições, sugestões, pelo suporte técnico e ajuda na parte prática;

Aos amigos Oscar e Davi pelas valiosas contribuições durante a execução da pesquisa, por terem acreditado em mim e, sobretudo pela amizade, apoio e incentivo;

Aos alunos de iniciação científica Tatiane e Heitor, a colaboração de vocês foi imprescindível; /

A todos os amigos do Laboratório de Química Tecnológica e Ambiental, em especial a Fernanda, Brittany, Marina, Fabi, Liz, Júnior, Leandro e Diego pela ajuda e amizade;

A todos os amigos do Laboratório de Biologia e Tecnologia de Microrganismos, em especial ao Zé, Ivon e Célia pela ajuda e amizade;

Aos amigos da Ausenco, Paulo, Rosangela, Joe e Fehmida, vocês também fizeram parte disso!

Aos queridos amigos Erik, Lili, Letícia, Jana, Thamiriz e Manu pela ajuda e amizade;

Ao professor Aníbal por se mostrar sempre disposto a ajudar;

A todos do Laboratório de Saneamento Ambiental pela ajuda com as análises de nitrogênio, em especial à Ludymylla;

Ao Laboratório de Ecologia Aquática em especial à aluna Lorena;

À Cia Itabirito Industrial por gentilmente ceder o efluente têxtil;

À Capes pela concessão da bolsa de estudos;

À Universidade Federal de Ouro Preto;

E a todos que de alguma forma contribuíram para a execução da pesquisa,

MUITO OBRIGADA!

“Como é de são efeito, ajudo com meu querer acreditar. Mas nem sempre posso. O senhor saiba: eu toda a minha vida pensei por mim, forro, sou nascido diferente. Eu sou é eu mesmo. Divêrjo de todo o mundo...Eu quase que nada não sei. Mas desconfio de muita coisa”.

(João Guimarães Rosa)

RESUMO

O principal objetivo deste trabalho foi investigar a eficiência do tratamento de uma solução corante e de um efluente têxtil real, em sistemas de reatores combinados (anaeróbio/aeróbio) utilizando levedura residual pré-tratada como fonte de nutrientes e mediador redox. Primeiro avaliou-se a aplicabilidade da levedura residual como fonte de nutriente em ensaios anaeróbios em bateladas, para posterior aplicação em um sistema contínuo de reatores. Foram estudadas duas configurações de tratamento: um constituído por reator anaeróbio do tipo UASB seguido por lodos ativados e outro por UASB seguido por lagoa de polimento rasa. Os dois sistemas trataram a solução corante composta pelo azo corante Amarelo Ouro Remazol (50mg.L^{-1}) e levedura residual pré-tratada (350mg.L^{-1}), porém apenas o sistema UASB/lagoa foi alimentado com o efluente têxtil real. A eficiência dos processos foi mensurada através de testes de remoção de cor, nitrogênio amoniacal, DQO e por fim, toxicidade. Para a avaliação da toxicidade dos afluentes e efluentes, foram realizados ensaios em microescala utilizando a bactéria *Vibrio fischeri* como organismo-teste. Os reatores combinados UASB/lodos ativados foram efetivos na remoção de DQO, nitrogênio amoniacal e toxicidade, contudo a remoção de cor ocorreu exclusivamente no reator anaeróbio, apresentado taxas de descoloração de aproximadamente 84%. O reator de lodos ativados apresentou um quadro de dessorção e/ou produção de cor durante o período de operação. A substituição de lodos ativados pela lagoa de polimento rasa proporcionou melhoras na qualidade do efluente final, removendo 85% da DQO residual e 25% do corante residual. A alimentação do sistema UASB/lagoa de polimento rasa com o efluente têxtil diluído 10 vezes levou a uma diminuição na eficiência de remoção de cor quando comparado ao efluente sintético mas manteve uma remoção de DQO e nitrogênio amoniacal na ordem de 80%. Este sistema também foi eficaz sob aspecto de remoção de toxicidade, uma vez que o afluente foi a única amostra considerada tóxica para bactéria.

Palavras Chaves: azo corante, efluente têxtil, tratamento anaeróbio-aeróbio, lagoa de polimento, mediador redox, levedura residual, toxicidade.

ABSTRACT

The main objective of this study was to investigate the efficiency of a dye solution and a real textile effluent treatment in an anaerobic-aerobic combined reactor system using pretreated residual yeast as a source of nutrients and redox mediator. Firstly, the applicability of the residual yeast was evaluated as nutrient source in anaerobic batch tests prior to the operation in the continuous reactor system. Subsequently, two treatment settings were studied: i) a UASB reactor followed by an activated sludge system and, ii) a UASB reactor followed by a shallow polishing pond. The two system configurations were treated with the azo dye solution Yellow Gold Remazol ($50\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) and pretreated residual yeast ($350\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), but only the UASB / pond system was fed with real textile effluent. The process efficiency was measured by means of color, COD and toxicity removal analysis. Evaluation of the influent and the effluent toxicity was performed using microscale *Vibrio fischeri* bacterium as test organism. The UASB / activated sludge combined reactors were effective in the removal of COD and toxicity; however the color removal occurred exclusively in anaerobic conditions, presenting discoloration rates of approximately 84%. The activated sludge reactor presented a desorption frame and/or color production during its operation period. The substitution of the activated sludge to the shallow polishing pond improved the quality of the final effluent, obtaining residual COD and dye removals of 85% and 25%, respectively. The performance the UASB / shallow polishing pond with real textile effluent diluted 10-times led to a decrease in color removal efficiency compared to the synthetic effluent, although the system maintained COD removals in the order of 80%. Moreover, this system was also effective in the removal of toxicity since the influent was the only component considered toxic for the bacteria.

Keywords: azo dye , textile effluent, anaerobic-aerobic treatment , polishing pond , redox mediator, residual yeast, toxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Etapas do beneficiamento da fibra têxtil	5
Figura 2: Estrutura molecular do corante Amarelo Ouro Remazol	7
Figura 3: Estrutura molecular do Ácido Sulfanílico	7
Figura 4: Mecanismo biológico de redução do azo corante.....	18
Figura 5: Quebra da ligação azo pela enzima azo-redutase liberada por microalgas do gênero <i>Chlorella</i>	21
Figura 6: Desencadeamento do fenômeno <i>quorum sensing</i> pela bactéria <i>Vibrio fischeri</i>	26
Figura 7: Mecanismo de produção de bioluminescência pela <i>Vibrio fischeri</i>	27
Figura 8: Fluxograma das etapas de execução da pesquisa	31
Figura 9: Processo de lise osmótica das leveduras residuais para obtenção do extrato	37
Figura 10: Configuração do funcionamento do sistema de tratamento da fase 1	42
Figura 11: Configuração do funcionamento do sistema de tratamento da fase de transição e da fase 2.....	42
Figura 12: Coleta de lodos ativados nos reatores aeróbios da ETE-Arrudas	43
Figura 13: Inibição da luminescência provocada pelo sulfato de zinco heptahidratado e pelo dicromato de potássio utilizando bactéria submetida a congelamento e recém cultivada.	50
Figura 14: Controle das biomassas com e sem pré-tratamento	54
Figura 15: Descoloração por adsorção da biomassa em ensaios de batelada.....	55
Figura 16: Variação temporal da concentração do corante Amarelo Ouro Remazol no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e lodos ativados (LOA) alimentados com solução corante	56
Figura 17: Variação semanal da eficiência de remoção de cor nos reatores anaeróbio (SAN) e de lodos ativados (LOA) alimentados com solução corante.....	57
Figura 18: Variação temporal da concentração de DQO no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e de lodos ativados (LOA) alimentados com solução corante	59
Figura 19: Variação temporal da eficiência de remoção de DQO nos reatores anaeróbio (SAN) e de Lodos ativados (LOA) alimentados com solução corante	59
Figura 20: Variação temporal da concentração de nitrogênio amoniacal no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e de Lodos ativados (LOA) alimentados com solução corante	63
Figura 21: Cinética de remoção de cor pelo reator UASB alimentado com solução corante	66
Figura 22: Cinética de remoção de DQO pelo reator UASB alimentado com solução corante	67
Figura 23: Inóculo de Microalgas do gênero <i>Chlorella</i> utilizadas no reator Lagoa	70

Figura 24: Variação temporal da concentração de corante Amarelo Ouro Remazol no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e Lagoa (LAG) alimentados com solução corante	70
Figura 25: Variação temporal da eficiência de remoção de cor nos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com solução corante	71
Figura 26: Controle de fotodegradação do corante Amarelo Ouro Remazol.....	72
Figura 27: Variação temporal da concentração de DQO no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com solução corante	73
Figura 28: Variação temporal da eficiência de remoção de DQO nos reatores anaeróbio (SAN) e Lagoa(LAG) alimentados com solução corante.....	73
Figura 29: Variação da absorbância a (λ 465nm) do afluente têxtil real (AFLU) e dos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG).....	74
Figura 30: Inóculo da biomassa algal antes do início de operação dos reatores.....	75
Figura 31: Microalgas presentes no reatores em operação	75
Figura 32: Variação temporal da concentração de cor (PtCo mg.L ⁻¹) no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com efluente têxtil real	76
Figura 33: Variação temporal da eficiência de remoção de cor (PtCo mg.L ⁻¹) nos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com efluente têxtil real	77
Figura 34: Variação temporal da concentração de DQO no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com efluente têxtil real	78
Figura 35: Variação temporal da eficiência de remoção de DQO nos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com efluente têxtil real.....	78
Figura 36: Variação temporal na concentração de nitrogênio amoniacal no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com efluente têxtil real	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Estudos que abordam a degradação de corantes têxteis sob diferentes tratamentos biológicos.....	12
Tabela 2: Estudos que abordam a utilização de mediadores redox no tratamento biológico de resíduos têxteis	15
Tabela 3: Estudos que abordam o tratamento de resíduos têxteis utilizando microalgas	22
Tabela 4: Parâmetros de avaliação de toxicidade.....	28
Tabela 5: Composição do meio de cultura líquido.....	32
Tabela 6: Constituintes do meio protetor para congelamento da <i>Vibrio fischeri</i>	33
Tabela 7: Composição do meio de reconstituição para reativação do metabolismo bacteriano.....	33
Tabela 8: Série de diluições pelo método geométrico (ABNT NBR – 15411-1) para preparo da amostra a ser testada	34
Tabela 9: Condições experimentais utilizadas para avaliar potencial nutricional das leveduras residuais.....	38
Tabela 10: Composição da Solução Nutriente	39
Tabela 11: Pré-tratamentos utilizados para a inativação da biomassa	40
Tabela 12: Condições experimentais para o teste de adsorção pela biomassa.....	40
Tabela 13: Estruturas e condições operacionais de cada fase	41
Tabela 14: Comparação dos valores de CE ₅₀ teóricos e experimentais	52
Tabela 15: Caracterização elementar das leveduras residuais submetidas a lise osmótica	52
Tabela 16: Eficiências de remoção de cor obtidas no ensaio em batelada na presença de diferentes fontes de nutrientes	53
Tabela 17: Balanço de DQO residual do reator UASB alimentado com solução corante	60
Tabela 18: Balanço de DQO residual do reator de Lodos ativados alimentado com o efluente advindo do reator UASB	61
Tabela 19: Análise de toxicidade de amostras dos efluentes anaeróbio (SAN) e Lodos ativados (LOA) alimentados com solução corante no terceiro e vigésimo quarto dia de operação.....	64
Tabela 20: Constantes da cinética de remoção de cor pelo reator UASB alimentado com solução corante	66
Tabela 21: Constantes da cinética de remoção de DQO pelo reator UASB alimentado com solução corante	67
Tabela 22: Balanço de DQO do sistema anaeróbio alimentado com efluente têxtil real	79
Tabela 23: Análise de toxicidade de amostras dos efluentes do sistema anaeróbio (SAN) e de Lagoa (LAG) alimentados com efluente têxtil real.....	81

LISTA DE NOTAÇÕES

AGV – Ácidos Graxos Voláteis

Colour Index – Catálogo da Society of Dyers and Colourists

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

DQO – Demanda Química de Oxigênio

FD – Fator de Diluição

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

LRPT– Levedura Residual Pré-tratada

LOA– Lodos Ativados

MR – Mediador Redox

POAs – Processos Oxidativos Avançados

SAN– Sistema Anaeróbio

SMP– Produtos Microbianos Solúveis

SSV – Sólidos Suspensos Voláteis

TDH– Tempo de Detenção Hidráulica

TXRF – Espectrometria de Reflexão Total de Raio – x

UASB – Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente

UV-Vis – Ultravioleta Visível

SUMÁRIO

1 . INTRODUÇÃO	1
2 . OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo Geral.....	3
2. 2 Objetivos Específicos.....	3
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3.1 A indústria têxtil e seus resíduos	4
3.2 Legislação Ambiental	8
3.3 Tratamento do Efluente Têxtil.....	10
3.3.1 Processos biológicos envolvidos em um sistema de tratamento combinado anaeróbio-aeróbio.....	16
3.4 Análises Ecotoxicológicas de Efluentes	23
3.5 Considerações Finais	29
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1 Miniaturização do ensaio de toxicidade utilizando a bactéria <i>Vibrio fischeri</i>	31
4.2 Obtenção e tratamento da Levedura residual.....	36
4.2.1 Pré-tratamento da Levedura residual.....	37
4.2.2 Caracterização das leveduras residuais pré-tratadas	38
4.3 Ensaio em batelada.....	38
4.4 Reatores Contínuos	40
4.4.1 Estruturas e condições operacionais.....	40
4.5 Inóculos.....	43
4.5.1 Reator UASB.....	43
4.5.2 Reator de Lodos Ativados	43
4.5.3 Lagoa de Polimento Rasa.....	44
4.6 Métodos analíticos	45
4.6.1 Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	45
4.6.2 Quantificação do Nitrogênio Amoniacal.....	45
4.6.3 Análise da remoção de cor	45
4.6.4 Quantificação dos ácidos graxos voláteis (AGV)	46
4.6.5 Aferição do pH.....	46
4.7 Avaliação dos Parâmetros Cinéticos dos Reatores	46
4.7.1 Cinética de primeira ordem	48

4.7.2 Cinética de pseudo primeira ordem.....	48
4.7.3 Modelo de Briggs-Haldane ou inibição por substrato.....	48
4.7.4 Modelo Michaelis-Menten	49
4.8 Análise de toxicidade	49
5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	50
5.1 Miniaturização do ensaio de toxicidade.....	50
5.2 Caracterização físico-química das leveduras residuais pré-tratadas.....	52
5.2.1 Ensaio de remoção de cor em batelada para avaliação do efeito nutricional das leveduras residuais pré-tratadas.	53
5.2.2 Determinação da descoloração por adsorção da biomassa.....	54
5.3 Monitoramento e avaliação do sistema combinado de tratamento UASB/Lodo ativados no tratamento da solução corante	55
5.3.1 Avaliação da remoção de cor e DQO.....	56
5.3.2 Avaliação da remoção do nitrogênio amoniacal	62
5.3.3 Avaliação da toxicidade dos efluentes	63
5.3.4 Avaliação da cinética de remoção de cor e DQO pelo reator UASB.....	65
5.4 Monitoramento e avaliação do sistema combinado de tratamento UASB/Lagoa no tratamento da solução corante.....	68
5.4.1 Avaliação da remoção de cor e de DQO	70
5.5 Monitoramento e avaliação do sistema combinado de tratamento UASB/Lagoa no tratamento de efluente têxtil real.....	73
Fonte: Própria Autora.....	75
5.5.1 Avaliação da remoção de cor e de consumo de DQO.....	76
5.5.2 Avaliação da remoção do nitrogênio amoniacal	79
5.5.3 Avaliação da toxicidade dos efluentes	80
5.5.4 Avaliação da cinética de remoção de cor e DQO pelo reator UASB.....	82
6. CONCLUSÕES.....	83
7. RECOMENDAÇÕES.....	84
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85

1. INTRODUÇÃO

Estima-se que aproximadamente 700.000 toneladas de corantes sejam utilizados no mundo anualmente para as operações têxteis (SADHASIVAM *et al.*, 2009), e no Brasil, cerca de 26.500 t/ano (KUNZ *et al.*, 2002). O efluente produzido nestas operações varia de acordo com o tipo de corante utilizado no processo de tingimento. Considerando que os corantes não pertencem à mesma classe de compostos químicos, mas englobam diversas substâncias com grupos funcionais diferenciados, com grande variedade na reatividade, solubilidade, volatilidade, estabilidade, requerem métodos específicos para identificação, quantificação e degradação. Estes compostos quando não tratados adequadamente podem causar sérios problemas de contaminação ambiental (KUNZ *et al.*, 2002; BELTRAME., 2000).

Neste sentido, diversas técnicas de tratamento vêm sendo estudadas a fim de proporcionar uma eficiente descoloração, dentre eles, processos físicos, químicos e biológicos. Os métodos físico-químicos combinados, por exemplo, de coagulação seguida por flotação e/ ou sedimentação apresentam resultados satisfatórios na remoção do material particulado, mas são ineficientes para a remoção de cor e muitas vezes implicam na adição de custos operacionais (GUARATINI & ZANONI., 2000). Os métodos biológicos, como o de Lodos ativados, frequentemente utilizados nas estações de tratamento dos resíduos têxteis, apresentam baixa eficiência de remoção de cor por meio de degradação e as maiores porcentagens de descoloração são alcançadas por adsorção na biomassa microbiana. Isto pode ser explicado pelo fato de que nos sistemas aeróbios o oxigênio é o aceptor de elétrons preferencial quando comparado aos azos corantes (STOLZ., 2001). Em contrapartida, o tratamento biológico em reatores anaeróbios, revela-se extremamente vantajosos no contexto têxtil, pois os corantes neste caso são praticamente os únicos aceptores finais de elétrons, fazendo com que aumente a eficiência na remoção de cor (DOS SANTOS., 2005). Contudo, subprodutos recalcitrantes e tóxicos como as aminas aromáticas oriundas da degradação anaeróbia de corantes da classe azo são produzidas, tornando-se necessário o uso de um pós-tratamento aeróbio. A toxicidade gerada deve ser monitorada, pois o efluente sujeito a descarga deve estar em consonância com as exigências da legislação ambiental no âmbito federal, dispostas na Resolução CONAMA 430/2011 e 357/05.

Dentre as combinações de tecnologias utilizadas como etapa de pós-tratamento, pode-se destacar as unidades aeróbias, que buscam degradar as possíveis aminas geradas, eliminando a toxicidade e a DQO recalcitrante do sistema anterior (KAPDAN & ALPARSLAN., 2005). Dentre as alternativas, cabe um lugar de destaque as lagoas de polimento que em que predomina-se a atividade metabólica de microrganismos como bactérias e microalgas. As microalgas apresentam grande versatilidade metabólica, a qual reflete as diversas condições dos habitats onde podem ser encontradas, o que é uma grande vantagem sob o aspecto técnico do tratamento. Outra vantagem, é que as algas presentes neste sistema podem atuar no processo de descoloração dos corantes remanescentes do sistema anterior, e ainda neutralizar as aminas geradas (JINQI; HOUTIAN, 1992).

A aplicação de mediadores redox no tratamento anaeróbio aumenta consideravelmente a cinética das reações de degradação redutiva de corantes azo (FIELD & BRADY, 2003). Substâncias como a vitamina B2 (Riboflavina) e quinona são excelentes opções, uma vez que são moléculas orgânicas reversíveis capazes de sofrer tanto oxidação, como redução (DOS SANTOS, 2001). Nesse sentido, pesquisadores como CORRÊA *et al* (2009) e BAÊTA *et al* (2012) desenvolveram estudos com extrato de levedura, utilizando-o como uma fonte de riboflavina de baixo custo. VICTRAL (2015), investigou o uso de levedura residual proveniente de indústria fermentativa cervejeira como fonte de mediador redox (riboflavina) para a degradação redutiva de um azo corante modelo (Amarelo Ouro Remazol) em reatores (de batelada) em escala de bancada. Neste estudo a aplicação da levedura residual se mostrou mais eficaz na descoloração, quando comparada ao extrato de levedura comercial. O uso das leveduras residuais pode representar uma grande vantagem do ponto de vista ambiental, uma vez que estas podem ser adquiridas sem custo a partir de efluentes de indústrias de fermentação alcoólica na forma de leveduras descartadas, após a fabricação de bebidas. Nesta perspectiva, o presente trabalho teve como intuito avaliar o desempenho de reatores combinados (anaeróbio/aeróbio) contínuos em escala de bancada no processo de degradação do azo corante reativo (Amarelo Ouro Remazol- RNL) e de um efluente têxtil real, tendo com fonte de nutrientes e mediador redox, as leveduras residuais pré-tratadas provenientes da indústria fermentativa.

2 . OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficiência do tratamento de um efluente têxtil sintético e real, em reatores combinados (anaeróbio/aeróbio) utilizando levedura residual pré-tratada como fonte de nutrientes e mediador redox.

2. 2 Objetivos Específicos

- Avaliar a técnica de análise de toxicidade em microplaca baseada no cultivo da bactéria *Vibrio fischeri*;
- Preparar e caracterizar quimicamente o extrato obtido a partir de levedura residual submetida à lise osmótica e avaliar sua aplicação como fonte de nutrientes em ensaios biológicos (anaeróbios) para tratamento de resíduos têxteis;
- Avaliar o sistema contínuo de reatores combinados (anaeróbio/aeróbio) para o tratamento de efluente têxtil sintético e real na presença de leveduras residuais pré-tratadas em termos de remoção de cor, DQO, toxicidade e amônia;
- Investigar o desempenho das unidades aeróbias de Lodos Ativados e Lagoa de Polimento Rasa, como etapa de pós-tratamento do efluente anaeróbio em termos de remoção de cor e DQO.

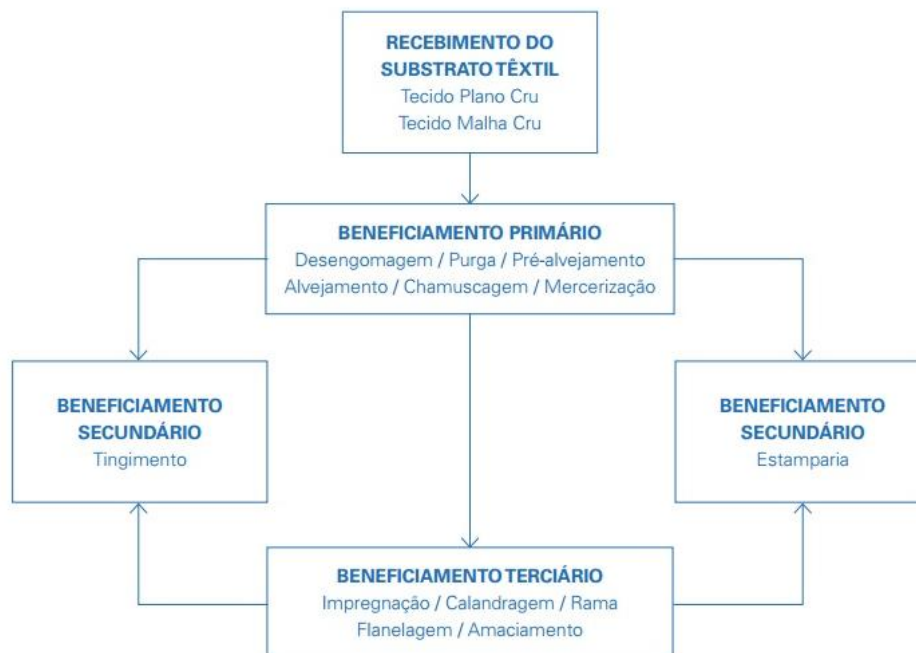
3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A indústria têxtil e seus resíduos

A indústria têxtil no Brasil representa um importante setor na economia, tendo experimentado considerável crescimento nos últimos anos (DOS SANTOS, 2001). Segundo dados da TEXBRASIL (2016) o País é o quinto maior produtor têxtil do mundo, com o quarto maior parque produtivo de confecção, possuindo cerca de 33 mil empresas voltadas para a produção têxtil. Dados publicados pelo o IEMI (Inteligência de Mercado) especializado em pesquisas e análises do setor têxtil e de vestuário, aponta a região Sudeste como a principal localidade produtora de têxteis no país, concentrando os maiores mercados consumidores, além de sediar os principais centros de distribuição de atacado e varejo.

Este setor é um dos maiores geradores de efluentes líquidos, dentre diversas tipologias industriais, com consumo estimado de 150 litros de água para produção de um quilo de tecido, sendo 88% desse volume descartado como efluente líquido e os 12% restantes perdidos por evaporação (PINTO & LEÃO, 2002). O alto consumo de água requerido por esse segmento advém principalmente, das operações de lavagem e beneficiamento de fios e tecidos, além da lavagem das plantas e dos equipamentos. O efluente liberado possui elevada carga orgânica, além da alta concentração de cor devido à fixação incompleta dos corantes à fibra, durante o processo beneficiamento (tingimento) (ALCÂNTARA, 1996). O processo de beneficiamento pode ser dividido basicamente em três etapas, como demonstrado na Figura 1.

Figura 1: Etapas do beneficiamento da fibra têxtil



(Fonte: Guia técnico ambiental da indústria têxtil, 2015)

O beneficiamento primário visa eliminar óleos, ceras, pigmentos, marcações e sujeiras provenientes das etapas de fiação e tecelagem, objetivando preparar o tecido para etapa subsequente. A segunda etapa fornece a coloração parcial (processo de estamparia) ou total (processo de tingimento). A última etapa (beneficiamento terciário) tem a finalidade de conferir aos materiais têxteis qualidades especiais como o toque, resistência ao uso, impermeabilização. Para obter o resultado esperado durante as operações são utilizadas grandes variedades de substâncias químicas, dentre elas, estão: resinas insolúveis, espessantes, ligantes, amaciantes, corantes, umectantes, dispersantes. Estes compostos conferem ao efluente final grande complexidade (BELTRAME, 2000; GUARATINI & ZANONI, 2000). Segundo MARTINS (1997), a caracterização dos despejos têxteis é um fator de difícil descrição, uma vez que a grande característica acerca deste tipo de efluente é sua descontinuidade e diversidade. O processo de beneficiamento é periódico, mas descontínuo, em termos de vazão. O processo produtivo é cíclico na totalidade de suas operações.

A remoção dos compostos incorporados durante o processamento é um dos grandes problemas ambientais enfrentados pelo setor têxtil. Sobretudo considerando que os corantes não pertencem a uma mesma classe de compostos químicos, mas englobam

diversas substâncias com grupos funcionais diferenciados, com grande variedade na reatividade, solubilidade, volatilidade, estabilidade que, por sua vez, requerem métodos específicos para identificação, quantificação e degradação.

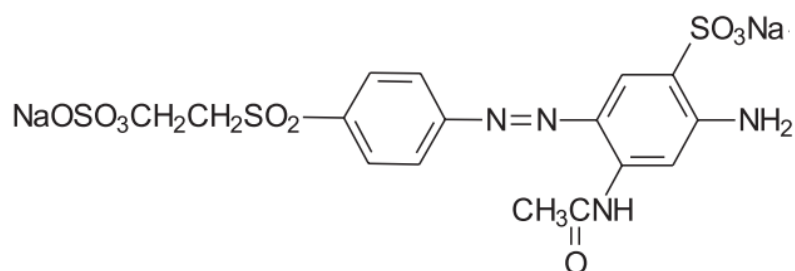
Quando os resíduos do efluente não recebem tratamento adequado e são descartados no meio ambiente, podem provocar interferências em ecossistemas aquáticos através da alteração do pH; depleção do oxigênio dissolvido; eutrofização de corpos d'água lânticos; diminuição da tensão superficial, devido ao lançamento de agentes tensoativos; incorporação de substância recalcitrantes, bioacumulativas e tóxicas ao meio ambiente aquático; e, por fim, a inibição do processo fotossintético. Todos estes impactos, além de afetar a biota aquática, podem causar prejuízos à saúde pública das populações ribeirinhas ou de comunidades que utilizam o corpo hídrico para abastecimento (KUNZ *et al.*, 2002; BELTRAME, 2000; VICTRAL, 2015).

O *Colour Index* (catálogo da *Society of Dyers and Colourists*) (2015) registra atualmente mais de 13 mil corantes orgânicos sintéticos associados à indústria têxtil. Estes corantes possuem duas partes principais, o grupo cromóforo que dá cor ao composto pela absorção de uma parte de energia radiante (azo, antraquinona, nitro etc) e estruturas auxiliares que propiciam sua afinidade pela fibra têxtil, responsável pela fixação. Segundo ALI (2010) os corantes podem ser classificados de acordo com sua estrutura química em antraquinônicos (presença de quinonas ou benzoquinonas), índigo (presença de enxofre), ftalocianinas (presença de metais) e azo (presença de grupos –N=N-). Também podem ser classificados de acordo com o método em que é fixado à fibra: em ácidos, básicos, diretos e reativos (SOMASIRI *et al.*, 2008). Os corantes reativos são caracterizados por estabelecer ligação covalente entre o corante e a fibra, os diretos como o próprio nome sugere, podem ser aplicados em solução aquosa diretamente sobre as fibras, formando interações de Van der Waals. Os ácidos são previamente neutralizado em solução contendo cloreto, acetato, hidrogenossulfato entre outros, se ligam à fibra através de uma troca iônica envolvendo o par de elétrons livres dos grupos amino e carboxilato das fibras protéicas, na forma não-protonada (BELTRAME, 2000)

Segundo HUNGER *et al* (2004), dentre os mais de 3.000 tipos de corantes específicos utilizados para o tingimento na indústria têxtil, estimou-se que 70% sejam considerados do tipo azo (-N=N-). No Brasil a utilização destes corantes concentram-se,

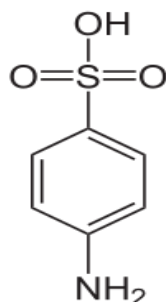
principalmente na classe dos reativos (que possuem a capacidade de formarem ligações covalentes com as fibras), e os corantes dispersos (ABIQUIM, 2015; KUNZ *et al.*, 2002). A classe azo é marcada pela presença de um ou mais grupos azo (-N=N-), que podem formar ligações entre dois ou mais anéis aromáticos, como demonstrado pela Figura 2, onde está representado o corante Amarelo Ouro Remazol (COSTA *et al.*, 2010).

Figura 2: Estrutura molecular do corante Amarelo Ouro Remazol



Os corantes da classe azo são caracterizados por apresentarem alta solubilidade em água, e estabelecer ligação covalente entre o corante e a fibra, conferindo maior estabilidade na cor do tecido tingido (GUARATINI & ZANONI, 2000). Os pigmentos pertencentes a este grupo possuem grande persistência no meio ambiente levando anos para degradarem, como por exemplo, o corante hidrolisado Azul Reativo 19 que possui o tempo médio de degradação de 46 anos (DOS SANTOS *et al.*, 2007). Além disso, os subprodutos (aminas aromáticas) gerados durante a degradação destes corantes podem ter atividade genotóxica, carcinogênica e/ou mutagênica (KALYUZHNYI *et al.*, 2000), como o ácido sulfanílico (que apresenta grupamentos sulfônicos), resultante da quebra do corante RNL (Figura 3).

Figura 3: Estrutura molecular do Ácido Sulfanílico



O efeito tóxico das aminas aromáticas já é reportado por vários estudos, como o realizado por RAJAGURU *et al* (2002) no qual as aminas presentes em águas subterrâneas contaminadas por efluentes têxteis, foram capazes de provocar danos ao DNA de células humanas, comprovando sua capacidade genotóxica. UMBUZEIRO e colaboradores (2005) verificaram que estes compostos estiveram ligados a mutagenicidade da *Salmonella*, e também concluíram que o potencial mutagênico destes compostos não são assimilados nas estações de tratamento de efluentes. Isto ressalta a importância de se monitorar a toxicidade do efluente produzido em cada unidade de tratamento.

3.2 Legislação Ambiental

Segundo dados do Guia técnico ambiental da indústria têxtil produzido pela Federação das Indústrias do Estado de Minas Gerais e Fundação Estadual de Meio Ambiente – FEAM, apenas 747 empresas possuem registro no Sistema Integrado de Informação Ambiental - SIAM, da Secretaria do Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável. Destas, aproximadamente 13% encontram-se regulares (possuem Autorização Ambiental de funcionamento ou Licenciamento Ambiental válido), (FEAM, 2014). Estes dados são alarmantes, uma vez que estas empresas seguem operando sem a devida fiscalização. Seja o destino da descarga em corpos hídricos ou em redes coletoras de esgoto, o efluente produzido deve estar em consonância com as exigências ambientais. A legislação por ser federal, estadual ou municipal, faz com que os parâmetros e diretrizes de descarga variem de um local para outro, prevalecendo sempre a mais restritiva. O parâmetro federal fica a cargo do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), que é o órgão ambiental brasileiro máximo, tendo assim, maior influência que Estados e Municípios.

Por imposição da legislação federal, se faz necessário a execução de ensaios de toxicidade com dois organismos de diferentes níveis tróficos, uma vez que as análises físicas e químicas tradicionalmente realizadas, tais como demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), não são capazes de distinguir entre as substâncias que afetam os sistemas biológicos e as que são inertes no

ambiente e, por isso, não são suficientes para avaliar o potencial risco ambiental dos contaminantes.

A utilização dos ensaios ecotoxicológicos há muito tempo ocorre em outros países como Estados Unidos, Canadá, França e Alemanha, sendo devidamente acompanhada de suporte legal. No Brasil, embora a Resolução CONAMA 20/1986 já permitisse de forma implícita o uso desses ensaios, somente a partir da Resolução CONAMA 357/2005 esses ensaios passaram a ser mencionados de forma direta. Do mesmo modo, outras resoluções nacionais são bastante claras quanto ao uso dos ensaios ecotoxicológicos, como por exemplo, a CONAMA 344/2004, a 393/2007 e a 430/2011. No que se refere às condições de qualidade das águas, doces e marinhas, vários artigos da Resolução CONAMA 357/2005 mencionam a utilização obrigatória dos ensaios ecotoxicológicos, independente das análises físicas e químicas (BERTOLETTI, 2012).

O controle da toxicidade de efluentes líquidos é, sem dúvida, a maneira preventiva para evitar efeitos tóxicos nos recursos hídricos. A Resolução CONAMA 430/2011 dispõe sobre condições, parâmetros, padrões e diretrizes para gestão do lançamento de efluentes em corpos d'água receptores, alterando parcialmente e complementando a Resolução 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente. Nesta nova disposição estão inseridos alguns critérios, dentre eles, explícitas no Art. 4º em complementação àquelas contidas no art. 2º da Resolução CONAMA 357, de 2005, sendo eles:

“ II - Concentração de Efeito Não Observado-CENO: maior concentração do efluente que não causa efeito deletério estatisticamente significativo na sobrevivência e reprodução dos organismos, em um determinado tempo de exposição, nas condições de ensaio; III - Concentração do Efluente no Corpo Receptor-CECR, expressa em porcentagem: a) para corpos receptores confinados por calhas (rio, córregos, etc): 1. $CECR = [(vazão\ do\ efluente) / (vazão\ do\ efluente + vazão\ de\ referência\ do\ corpo\ receptor)] \times 100$. b) para áreas marinhas, estuarinas e lagos a CECR é estabelecida com base em estudo da dispersão física do efluente no corpo hídrico receptor, sendo a CECR limitada pela zona de mistura definida pelo órgão ambiental; IV - Concentração Letal Mediana-CL50 ou Concentração Efetiva Mediana-CE50: é a concentração do efluente que causa efeito agudo (letalidade ou imobilidade) a 50% dos organismos, em determinado período de exposição, nas condições de ensaio; V - Efluente: é o termo

usado para caracterizar os despejos líquidos provenientes de diversas atividades ou processos; XII - Parâmetro de qualidade do efluente: substâncias ou outros indicadores representativos dos contaminantes toxicologicamente e ambientalmente relevantes do efluente; XIII - Testes de ecotoxicidade: métodos utilizados para detectar e avaliar a capacidade de um agente tóxico provocar efeito nocivo, utilizando bioindicadores dos grandes grupos de uma cadeia ecológica; § 1o Os critérios de ecotoxicidade previstos no caput deste artigo devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos aceitos pelo órgão ambiental, realizados no efluente, utilizando organismos aquáticos de pelo menos dois níveis tróficos diferentes”.

Assim sendo, os testes de toxicidade são importantes ferramentas de controle de qualidade do efluente produzido, pois estudos brasileiros já demonstraram que os sistemas de tratamento, em muitos casos, são ineficientes para a remoção da toxicidade de efluentes, mesmo quando o despejo atende aos limites estabelecidos nos padrões de lançamento (BERTOLETTI & ZAGATTO, 2006).

3.3 Tratamento do Efluente Têxtil

Vários mecanismos de tratamento para o efluente têxtil têm sido estudados a fim de proporcionar um processo eficiente e completo. Dentre as possibilidades estudadas, estão os mecanismos físicos, químicos e biológicos. Os métodos químicos como os que envolvem processos oxidativos avançados (POAs) e de descoloração por fotocatalise são considerados eficientes, no entanto, podem ser caros quando operados em grande escala e apresentam frequentemente problemas operacionais (ALMEIDA, 2006). Os tratamentos físicos como adsorção, filtração, coagulação possuem aplicação limitada devida a necessidade frequente de regeneração do material adsorvente e descarte do lodo formado (CRISTÓVÃO, 2010). No Quadro 1 são apresentadas outras metodologias de tratamentos físicos e químicos assim como algumas vantagens e desvantagens dos mesmos.

Quadro 1: Vantagens e desvantagens de métodos físicos e químicos de descoloração

Métodos físico/químico	Vantagens	Desvantagens
Eletroquímica	Não gera produtos finais perigosos	Elevado consumo de eletricidade
Filtração por membrana	Remoção da maioria dos corantes	Produção de lodo concentrado
Sílica em gel	Eficaz para corantes básicos	Reações não desejáveis em efluentes
Trocas de íons	Sem perda de adsorvente	Não é eficaz para todos os corantes
Fenton	Descoloração eficaz	Geração de lodo

(ROBINSON *et al.*, 2001)

Segundo SHAW *et al* (2002) estas técnicas em geral se mostram eficazes para a remoção de cor, entretanto gastam demasiada energia e produtos químicos se comparado aos processos biológicos.

Avaliando os inconvenientes enfrentados para o uso de técnicas físicas e químicas para o tratamento de efluentes de indústria têxtil, alguns pesquisadores afirmam que o processo mais economicamente viável para a eliminação desses contaminantes é o processo biológico (SHAW *et al.*, 2002; VAN DER ZEE & VILLAVERDE, 2005; VAN DER ZEE & CERVANTES, 2009; BRAÚNA *et al.*, 2009, CORRÊA *et al.*, 2009, BAËTA *et al.*, 2012; VICTRAL *et al.*, 2016). Tendo em vista que essa tecnologia pode degradar de maneira eficiente compostos orgânicos de interesse, como os azos corantes. Processos biológicos utilizando microrganismos têm sido alvo de interesse científico nos últimos anos com o uso de diferentes desenhos de reatores, como aeróbios, anaeróbios e a combinação de ambos. Na Tabela 1 são apresentados alguns estudos que utilizaram reatores biológicos para o tratamento do efluente têxtil.

Tabela 1: Estudos que abordam a degradação de corantes têxteis sob diferentes tratamentos biológicos

*Ref	Tipo de resíduo	Configuração do sistema de tratamento	Principais resultados
1	Corante azo Vermelho H-EB7 (0,45g.L ⁻¹)	Sistema combinado contínuo anaeróbio (TDH=24h) + aeróbio (TDH=16h)	A remoção de cor no reator anaeróbio foi de 63,9%, enquanto o reator aeróbio foi de 11,1%. A toxicidade do sistema foi eliminada após o sistema aeróbio, indicando que os subprodutos gerados na descoloração não inibiram a respiração dos microrganismos aeróbios.
2	Corante azo Preto Remazol (533 mg.L ⁻¹)	Sistema combinado contínuo anaeróbio (TDH=2,6 dias) + aeróbio	O reator anaeróbio removeu 66% da DQO e o aeróbio apenas 20%.
3	Efluente têxtil real	Sistema combinado contínuo anaeróbio (TDH=9,4h) + lodos ativados (TDH=10,6h)	A remoção de cor no sistema aeróbio não ultrapassou 50%, enquanto que o anaeróbio obteve uma eficiência média de 85%. Cerca de 95% do nitrogênio foi removido na fase aeróbia
4	Efluente têxtil real	Sistema combinado contínuo Anaeróbio (TDH=48h) + lodos ativados (TDH=10h)	O reator anaeróbio removeu 75% da cor, 90% da matéria orgânica. O sistema de Lodos ativados removeu 60% de cor e 90% de matéria orgânica.
5	Efluente têxtil sintético contendo: 50mg.L ⁻¹ Preto reativo, 5, 50mg.L ⁻¹ vermelho direto, 28, 50mg.L ⁻¹ preto direto, 38, 50mg.L ⁻¹ marrom direto 2 e 50mg.L ⁻¹ amarelo direto 12.	Sistema combinado contínuo anaeróbio + aeróbio	80% e 91% da remoção de cor e DQO respectivamente foram obtidos em um TDH de 100 h. A eficiência de remoção de DQO foi baixa em TDHs baixos, que indicaram que os metabólitos liberados através da descoloração dos corante mistos eram recalcitrantes e não poderia ser, em última análise mineralizada em condições anaeróbias.
6	Efluente têxtil real	Reator anaeróbio contínuo (TDH=24h) de membrana submersa com carvão ativado em pó	Os reatores operados com carvão ativado, conseguiram remover 90 e 94% de de matéria orgânica e cor, respectivamente.
7	Corante azo RB-5 (200 mg. L ⁻¹)	Frascos/reatores em batelada sem agitação e com agitação.	A bactéria isolada do próprio efluente têxtil foi capaz de degradar 95% da solução de azo corante, em apenas 4h, em condição estática (sem agitação).

*Referência: 1:(O'NEILL *et al.*, 2000); 2:(SHAW *et al.*, 2002); 3:(TUNUSSI & SOBRINHO ., 2003); 4:(KAPDAN & ALPARSLAN., 2005); 5:(IŞIK & SPONZA., 2008); 6:(BAËTA, *et al.*, 2012); 7:(IMRAN *et al.*, 2014). *TDH: (Tempo de Detenção Hidráulica).

Na Tabela 1 observa-se que as maiores eficiências de descoloração ocorreram no sistema anaeróbio, enquanto que o sistema aeróbio apresentou as menores remoções. O sistema aeróbio de lodos ativados é a tecnologia mais empregada nas estações de tratamento de efluentes têxteis, principalmente pelo fato de requerer baixo tempo de detenção hidráulica associado à elevada retenção celular, em decorrência da recirculação de parte do lodo. Isto garante um bom desempenho na remoção de matéria orgânica, mas, uma ineficiente remoção de cor, devido ao fato de que nesta circunstância o oxigênio é o aceptor preferencial de elétrons em comparação aos corantes, como os da classe azo (STOLZ, 2001). Além disso, a ineficiência pode ser resultado do processo de dessorção do corante dos bioflocos aeróbios, uma vez que a maior parte da remoção associada ao sistema de Lodos ativados prove da adsorção do corante na biomassa ativa.

Como alternativa a este tratamento, apresenta-se o sistema de reatores anaeróbios, com um enorme potencial em atuar na descoloração dos efluentes têxteis. Contudo, o processo de descoloração nesta tecnologia é lenta para muitos corantes, necessitando um elevado tempo de detenção hidráulica (TDH) para obter boas taxas de descoloração (DOS SANTOS *et al.*, 2007). Para otimizar este processo, alguns autores testaram a aplicação conjunta de substâncias com potencial catalítico, capaz de acelerar a cinética da redução dos azo corantes, tais como os chamados mediadores redox (MR) (CORRÊA *et al.*, 2009 ; DOS SANTOS *et al.*, 2007; FIELD & BRADY, 2003). Estas substâncias são moléculas orgânicas reversíveis que podem tanto sofrer oxidação como redução, característica esta que permite a sua atuação como carreadores de elétrons em diversas reações de oxi-redução envolvendo compostos orgânicos e inorgânicos (VAN DER ZEE & CERVANTES, 2009).

A atuação de mediadores no processo de redução dos azo corantes ocorrem em duas fases: a primeira fase consiste na redução enzimática do mediador redox através dos elétrons gerados nos processos oxidativos, e a segunda fase consiste na transferência química destes elétrons para os azo corantes (DOS SANTOS, 2004). Portanto, o papel do MR em uma reação redox é diminuir a energia de ativação total da reação favorecendo sempre o seu sentido espontâneo. Em teoria, estes mediadores são muito efetivos na redução do corante azo devido à natureza do cromóforo ($=N=N=$), o

qual é instável eletronicamente e tem a capacidade de receber elétrons do mediador redox em sua forma reduzida (DOS SANTOS *et al.*, 2007).

Substâncias como riboflavina, quinona, antraquinona-2,6-dissulfonada (AQDS) e nicotinamida são reportados como sendo excelentes mediadores redox pela literatura DOS SANTOS (2001); FIELD & BRADY (2003); VICTRAL *et al* (2015); BRAÚNA *et al* (2009); DOS SANTOS *et al* (2007); GUO *et al* (2012) e CORRÊA *et al* (2009). No entanto a utilização desses mediadores em plantas de tratamento de efluentes industriais com alta vazão ainda é inviável, devido ao elevado custo de obtenção desses compostos, mesmo em pequenas quantidades (VICTRAL, 2015). Tendo em vista este fator custo, CORRÊA e colaboradores (2009) investigaram a influência do uso do extrato de levedura como fonte do mediador redox (riboflavina), na remoção de cor de uma solução contendo o azo corante Azul de Drimaren HF-RL em condições anaeróbias. Os autores constataram que a presença da riboflavina (vitamina B2) sozinha acelerou a degradação do corante, mas tais resultados foram muito inferiores aos obtidos com o extrato de levedura, mesmo quando a riboflavina estava presente em concentração 750 vezes maior que aquela presente em 0,5 g/L de extrato de levedura. Tais resultados indicam que outros compostos, além da riboflavina, presentes no extrato de levedura (por exemplo, vitamina niacina e outros nutrientes) influenciaram positivamente na degradação do azo corante estudado. Nesse estudo, a adição do extrato contribuiu para a elevação da DQO do meio líquido, contudo tal material possui elevada biodegradabilidade, podendo ser removido com facilidade do meio com o uso de sistemas de pós-tratamento aeróbio. Ressalta-se que o uso de extrato de levedura é extremamente interessante do ponto de vista econômico, devido ao seu baixo custo, além de poder ser obtido em maior escala a partir de leveduras residuais provenientes da indústria cervejeira (VICTRAL, 2015). Estudos realizados usando mediadores redox no tratamento de efluentes têxteis são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Estudos que abordam a utilização de mediadores redox no tratamento biológico de resíduos têxteis

Ref	Tipo de resíduo	Mediador redox	Configuração do sistema de tratamento	Principais Resultados
1	Vermelho reativo 2	(AQDS)	Batelada e contínuo (UASB)	O impacto do mediador redox AQDS foi significativamente reduzido à 55°C, ao passo que um visível efeito era observado nos reatores mesofílicos. A remoção de cor foi de 95% para os reatores termofílicos (R3 e R4), e um valor médio de 56% e 88% para os reatores mesofílicos R1 (sem AQDS) e R2 (com AQDS), respectivamente. Uma taxa de (9 mmol /L ⁻¹) de riboflavina provocou um aumento de 61 % na taxa de redução do corante a uma razão molar de 1:60 de riboflavina : corante .
2	Corante azo amarelo mordente 10	Riboflavina	Reatores em batelada	
3	Corante azo vermelho reativo 2 e antraquinônico azul reativo 5	Riboflavina	Reatores em batelada	O impacto de mediadores redox foi marcante com o corante azo, mas desprezível com o corante antraquinônico.
4	Corante azo Drimaren Azul HF-RL	Riboflavina	Reatores em batelada	A adição de extrato de levedura (0,5 g/L ⁻¹) resultou em eficiências de remoção de cor de 80 a 85% nas primeiras 24 horas de incubação.
5	Corante azo Vermelho reativo 2 e Vermelho congo	(AQDS)	Reator anaeróbico contínuo (TDH de 8h)	Concentrações baixas AQDS foram suficientes para catalisar descoloração reductiva do Vermelho reativo 2 . Eficiências elevada de remoção de cor (> 90%) foram alcançados nos biorreatores , mesmo para as concentrações elevadas do corante testado. No entanto a adição de AQDS não teve o mesmo efeito na redução do vermelho congo.
6	Efluente têxtil real diluído dez vezes	Riboflavina	Reator aneróbico (TDH=24h) contínuo com membrana submersa contendo carvão ativado em pó)	A adição de extrato de levedura (500 mg/L ⁻¹) , na presença ou na ausência de glicose, aumentou significativamente a remoção da cor de 62 a 92 %, apesar de remoção de DQO baixa (55% com o melhor cenário).

Referências: 1:(DOS SANTOS, 2001); 2:(FIELD & BRADY, 2003);3 (DOS SANTOS *et al.*, 2007); 4:(CORRÊA *et al.*, 2009); 5 (COSTA, *et al.*, 2010); 6:(BAËTA, 2012).

*TDH: (Tempo de Detenção Hidráulica)

3.3.1 Processos biológicos envolvidos em um sistema de tratamento combinado anaeróbio-aeróbio

Sistemas biológicos de tratamento de águas residuárias criteriosamente projetados e operados removem e degradam de maneira satisfatória constituintes indesejáveis, tais como, xenobióticos, matéria orgânica e sólidos em suspensão (LEITE, 2005). A degradação se dá por meio de reações bioquímicas que podem ocorrer tanto na presença de oxigênio, quanto na ausência do mesmo, determinado desta forma se o mecanismo será aeróbio ou anaeróbio.

O tratamento anaeróbio baseia-se no processo biológico em que um consórcio de diferentes microrganismos, na ausência de oxigênio molecular, atuam na transformação dos compostos orgânicos complexos como, carboidratos e proteínas, em substâncias simples, como metano e gás carbônico. Os processos metabólicos envolvidos ocorrem em etapas sequenciais que dependem da atividade de no mínimo três grupos de microrganismos distintos: (i) bactérias fermentativas (ou acidogênicas), (ii) bactérias sintróficas (ou acetogênicas) e (iii) microrganismos metanogênicos (CHERNICHARO *et al.*, 2001). Do ponto de vista biológico a digestão anaeróbia pode ser descrita como um processo de três etapas, envolvendo a hidrólise dos compostos complexos, a produção de ácidos (acidogênese e acetogênese) e a formação de metano. Segundo GRAEF & ANDREWS (1973), a etapa que controla a velocidade da degradação é a fase de conversão dos ácidos em metano. Estas etapas são explicadas a seguir.

I. Hidrólise

A matéria orgânica particulada é convertida em compostos dissolvidos, através da atividade de bactérias fermentativas, que liberam exo-enzimas (amilases, lipases, celulases, proteases) capazes de segmentar compostos de cadeia longa obtendo moléculas suficientemente pequenas que podem atravessar a membrana celular (CAMPOS, 1999).

II. Acidogênese

Os compostos gerados na etapa anterior são metabolizados pelas bactérias fermentativas, e após acidogênese são excretadas em formas mais simples, como por exemplo, em ácidos graxos voláteis de cadeia curta (AGV). Estes compostos possuem baixo peso molecular, elevado caráter hidrofílico, podem conter de um a cinco carbonos, que são comumente denominados: ácido fórmico (C1); acético (C2); propiônico (C3); butírico (C4); isobutírico (C4); valérico (C5) e isovalérico (C5), são os principais intermediários da digestão. Nesta

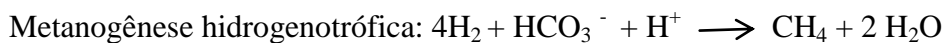
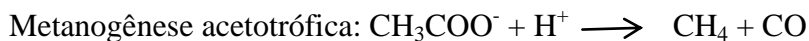
condição o substrato orgânico é ao mesmo tempo utilizado como acceptor e doador de elétrons, ou seja, durante o processo uma parte do composto orgânico poluente é oxidada enquanto outra parte é reduzida (CAMPOS, 1999; MESQUITA *et al.*, 2013).

III. Acetogênese

Nesta etapa ocorre a conversão dos produtos da acidogênese em compostos que formam os substratos para formação de metano. Segundo VAN HAANDEL & LETTINGA (1994) aproximadamente 70% da DQO originalmente presente converte-se em ácido acético, fazendo com que o restante da doação de elétrons seja concentrado no hidrogênio formado. Pode haver dependendo do estado de oxidação do material orgânico e ser digerido, a formação de ácido acético pode ser acompanhada pelo surgimento de dióxido de carbono e hidrogênio.

IV. Metanogênese

O metano é produzido pelas metanogênicas acetoclásticas a partir da clivagem do ácido acético, ou pelas metanogênicas hidrogenotróficas a partir da redução do dióxido de carbono tendo o hidrogênio como doador de elétrons, como exemplificado nas equações abaixo (KASPAR & WUHRMANN., 1978):

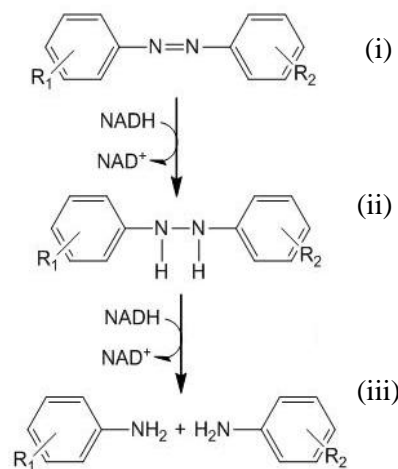


As arqueias que produzem metano a partir do hidrogênio crescem mais rapidamente do que as que utilizam o ácido acético como fonte de carbono (CAMPOS., 1999). Todas as metanogênicas têm uma característica em comum: utilizam um grupo metil como receptor final de elétrons, formando o metano. Esta é uma reação termodinamicamente favorável, e serve como um reservatório de elétrons para as reações de oxidação em meio estritamente anaeróbio.

O mecanismo anaeróbio de tratamento tem mostrado resultados promissores para efluentes de origem industrial e doméstica. Contudo, este sistema apresenta algumas limitações para resíduos têxteis, dado que este tipo de efluente exhibe elevada recalcitrância devida a sua complexidade que é atribuída a principalmente ao alto conteúdo de corantes (de variadas classes), surfactantes e aditivos, que na maioria das vezes são compostos orgânicos de estruturas complexas (OLIVEIRA & LEÃO, 2009).

A remoção de corantes azo nesses sistemas pode ocorrer por meio de processos adsorptivos promovidos pelos microrganismos presentes na biomassa, e pela redução do corante durante a digestão anaeróbia (O'NEILL *et al.*, 2000). DOS SANTOS (2005) afirma que a redução de corantes é uma combinação de mecanismos biológicos e químicos. O mecanismo químico envolve redutores biogênicos como o sulfeto, cisteína, ascorbato e Fe^{2+} . Enquanto que as reações biológicas, responsáveis pelo fornecimento de elétrons, funcionam com a formação de equivalentes reduzidos, doadores secundários, como NADH, NAD(P)H, FMNH₂ e FADH₂, conduzindo os elétrons para o rompimento da ligação azo (GINGELL & WALKER, 1971 *apud* DOS SANTOS, 2007). A Figura 4 demonstra este mecanismo, onde ocorre a transferência de quatro elétrons (equivalentes reduzidos) do doador para o corante (i), resultando inicialmente na formação do intermediário hidrazo (ii), que é posteriormente clivado, resultando em duas aminas aromáticas (iii).

Figura 4: Mecanismo biológico de redução do azo corante



Fonte: (www.ec.gc.ca)

Após a descoloração o efluente produzido deve passar por um pós-tratamento como mencionado anteriormente, para que o mesmo se enquadre nos padrões de lançamento de efluentes estipulados nas normas ambientais.

O pós-tratamento de reatores anaeróbios, segundo CHERNICHARO (2007) deve ser simples, de baixo custo, devendo ser concebido, preferencialmente, em consonância com o

conceito básico dos reatores anaeróbios. Alguns tipos de associações de sistemas de tratamento podem contribuir para a redução de custos operacionais e energéticos do tratamento, tornando-se alternativas promissoras, do ponto de vista técnico e econômico, dentre as possibilidades estão: lagoas de estabilização; lodos ativados; biofiltro aerado submerso, lagoas de polimento (PONTES, 2003). O princípio do tratamento aeróbio baseia-se na oxidação bioquímica dos compostos orgânicos e inorgânicos presentes nas águas residuárias, mediada por uma população microbiana diversificada. Trata-se da ação conjunta envolvendo uma redundância funcional bacteriana, onde a grande maioria destes microrganismos utiliza a matéria orgânica como um doador de elétrons tendo o oxigênio como aceptor. Adicionalmente dependendo da relação C/N e do tempo de contato, pode ocorrer a ação de outro grupo bacteriano, o nitrificante, no qual a amônia é usada como doador de elétron na respiração aeróbia.

Particularmente em sistemas de lodos ativados a eficiência do processo depende, dentre outros fatores, da capacidade de floculação da biomassa ativa, da composição e estabilidade dos flocos formados (BENTO *et al.*, 2005). A microbiota presente neste lodo é bem variada, são encontrados diversos tipos de bactérias, fungos, protozoários e micrometazoários (MENDONÇA, 2002). Segundo VON SPERLING (2012) a unidade de lodos ativados deve possuir aeração artificial no tanque biológico e ainda contar com o auxílio de um decantador que torne possível a recirculação do lodo para o reator aeróbio após sua sedimentação, desta forma é possível aumentar a concentração da biomassa do sistema. Porém para o efluente têxtil este sistema pode apresentar algumas limitações, BRAÚNA *et al.*, (2009) afirmam que sob condições aeróbias, os elétrons gerados são transferidos para o oxigênio devido ao elevado valor do potencial padrão de redução e, conseqüentemente, não há remoção biológica de cor. Contudo, algumas espécies de bactérias aeróbias como *Pseudomonas K22* e *KF46* podem remover cor através da atuação das enzimas chamadas azo redutases, as quais nestas circunstâncias são catalisadas na presença de oxigênio (STOLZ, 2001).

Outra alternativa para etapa de polimento, todavia pouco estudada para o contexto têxtil, é a lagoa de polimento rasa, em que predomina-se a atividade metabólica de microrganismos como bactérias e microalgas. Neste sistema é preponderante um ambiente aeróbio, em virtude da combinação de menor demanda de oxigênio (devido ao menor teor de matéria orgânica) com maior produção de oxigênio, o que leva à prevalência da fotossíntese

sobre a oxidação bacteriana (RODRIGUES *et al.*, 2009). Segundo ARTHUR (1983), as lagoas constituem o sistema de tratamento mais adequado para países em desenvolvimento de regiões tropicais e subtropicais, pois há disponibilidade de terrenos a custos relativamente baixos, além das condições climáticas serem favoráveis ao processo de biodegradação.

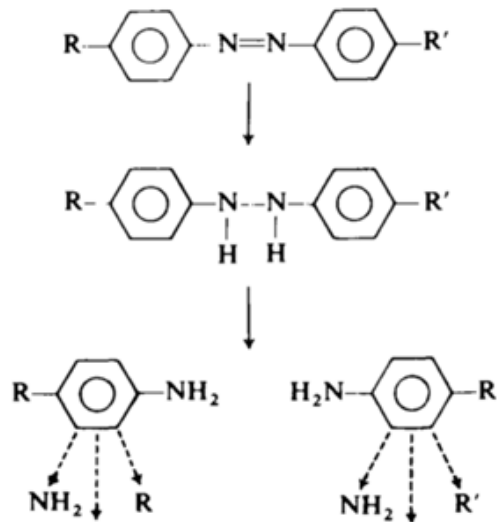
As microalgas apresentam grande versatilidade metabólica, a qual reflete as diversas condições dos habitats onde podem ser encontradas, o que é uma grande vantagem sob o aspecto técnico do tratamento. Em muitas ocasiões, os reatores podem apresentar condições inadequadas para fotossíntese, principalmente em relação à luminosidade. De acordo com os estudos taxonômicos e bioquímicos, as microalgas podem apresentar as seguintes formas de metabolismo: (1) fotoautotrófico: quando a energia é obtida de fonte luminosa e o carbono de fonte inorgânica, pela fotossíntese; (2) heterotrófico: quando a energia e o carbono são obtidos de fonte orgânica externa, em geral pela oxidação de açúcares; (3) mixotrófico: quando a fotossíntese e a oxidação de compostos orgânicos ocorrem concomitantemente e (4) fotoheterotrófico: quando a fonte de energia é a luz, e a fonte de carbono são compostos orgânicos (BUMBAK *et al.*, 2011; PEREZ-GARCIA *et al.*, 2011 apud RODRIGUES *et al.*, 2009). De acordo com esta definição, no metabolismo mixotrófico ocorreria simultaneamente as rotas metabólicas fotoautotróficas (fotossíntese) e as heterotróficas (oxidação de compostos orgânicos externos via respiração).

Quando se utiliza meios de cultivo a base de resíduos, em geral, a turbidez tende a aumentar, o que desfavorece o cultivo de microalgas fotoautotróficas estritas, como necessitam de menor intensidade luminosa, o crescimento de cepas mixotróficas nestes meios tende a ser melhor (MARKOU & GEORGAKAKIS., 2011; PITTMAN *et al.*, 2011). Destaca-se que esta é uma vantagem das cepas mixotróficas em comparação com as fotoautotróficas, incapazes de oxidar compostos orgânicos. Esta alta produtividade ocorre devido a vários fatores: ausência de fotoinibição; diminuição dos danos causados por excesso de oxigênio no meio de cultivo; altas taxas metabólicas, com entrada de energia tanto por meio da oxidação da fonte orgânica de carbono quanto da luz; consumo conjunto de dióxido de carbono e substrato orgânico como fontes de carbono (ANGELO *et al.*, 2014).

Outra vantagem, é que as algas presentes neste sistema podem atuar no processo de descoloração dos corantes remanescentes do sistema anterior, e ainda neutralizar as aminas geradas. JINQI & HOUTIAN (1992) estudaram a degradação de 30 corantes do grupo azo pelas microalgas verdes do gênero *Chlorella*, nesta pesquisa a remoção de cor variou de 7 à

100%. O processo de descoloração foi relacionado com a estrutura química do composto, sendo que grupos amina ou hidroxila neutralizam a ação inibitória dos grupos sulfonados e apresentam maiores taxas de degradação, enquanto a presença do grupo metil, metoxi, nitro ou sulfonados inibiram a degradação. A remoção de corantes por microalgas é descrita através de dois mecanismos: o de adsorção e o de degradação. A degradação pode ocorrer pela liberação da enzima azo-redutase (responsável pela quebra da ligação N=N), em mecanismo bastante similar ao bacteriano como demonstrado na (Figura 5):

Figura 5: Quebra da ligação azo pela enzima azo-redutase liberada por microalgas do gênero *Chlorella*.



Fonte: (JINQI & HOUTIAN, 1992)

O mecanismo de adsorção se refere a uma série de processos independentes do metabolismo, capaz de reter fisicamente ou quimicamente tais compostos na parede celular dos microrganismos (AKSU & TEZER, 2005).

Outros estudos que abordam o potencial algal na descoloração de soluções aquosas estão dispostos na (Tabela 3).

Tabela 3: Estudos que abordam o tratamento de resíduos têxteis utilizando microalgas

*Ref	Tipo de resíduo	Configuração do tipo de tratamento	Principais resultados
1	Mais de 30 azo corantes	Reatores em batelada	As algas não aclimatadas exibiram uma atividade de azo-redutase mais baixa em comparação com as algas aclimatadas. A remoção de cor variou de 50 a 94%. O estudo sugere que a enzima azo -redutase da <i>C. vulgaris</i> seja uma enzima induzida, ou seja, próprio corante pode funcionar como indutor.
2	Corante Amarelo reativo 22	Reatores em batelada	A taxa de adsorção do corante atingiu nível de saturação praticamente ao mesmo tempo (72 h) para todas as concentrações de biomassa estudada. A remoção de cor máxima (92 %) foi observada na concentração de 25 mg/L ⁻¹ de corante. Já para 100mg/L ⁻¹ observou-se uma remoção de 70%.
3	Corante monoazo Amarelo 2G	Reatores de vidro expostos a 12h de luz, sem agitação.	A eficiência da remoção da matéria orgânica pela biomassa algal não aclimatada variou de 69, 66 e 63% para uma concentração inicial de 50, 200 e 400 mg/L ⁻¹ , respectivamente, com a biomassa aclimatada, as remoções aumentaram para 88, 87 e 88%.
4	Corantes Preto remazol B, Vermelho remazol e Amarelo ouro remazol.	Reatores em batelada (sob agitação)	A cinética de adsorção de cada um dos corantes para a massa seca de <i>C. vulgaris</i> obedeceram à cinética de segunda ordem. Estas se mostraram muito eficazes em remover corantes reativos em baixas concentrações.
5	Corante Verde Malaquita	Reatores em batelada (sem agitação)	O valor máximo de descoloração (92%) ocorreu no pH = 9, enquanto que para o pH 3 e 4, foram 26,3% e 68,4 % respectivamente.
6	Corante Tartrazina	Reatores em batelada	A maior taxa de descoloração do corante tartrazina (5ppm) foi realizada pelas espécies <i>S. bijugatus</i> e <i>N. muscourm</i> (68%), após 6 dias de incubação. A cultura de diatomáceas da espécie <i>Nitzschia perminuta</i> , foi completamente morta após 2 dias de incubação.

* Referências: 1: (JINQI & HOUTIAN, 1992); 2:(VENKATA *et al.*, 2002); 3:(ACUNER & DILEK, 2004); 4:(AKSU & TEZER, 2005); 5:(DANESHVAR *et al.*, 2007); 6:(OMAR, 2008).

Ressalta-se que após o tratamento biológico a biomassa algal pode ser empregada para produção de metano, compostagem e produção de alguns produtos químicos (ABDEL-RAOUF *et al.*, 2012).

3.4 Análises Ecotoxicológicas de Efluentes

Uma variedade de métodos tem sido empregada para avaliar o nível tóxico de poluentes ambientais, valendo-se de organismos de diferentes níveis tróficos, como: peixes, crustáceos, algas, plantas e células cultivadas. Nesses métodos, organismos-testes são expostos a diferentes concentrações de substâncias e os efeitos tóxicos produzidos sobre eles são observados e quantificados (KNIE *et al.*, 2004). O termo ecotoxicologia foi sugerido e definido pela primeira vez em 1969 pelo toxicologista francês Rene Truhaut, para nomear a ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações, comunidades, que constituem a biosfera, incluindo assim a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem em um contexto integrado (FLYNN, 2011). No Brasil, os testes de toxicidade têm sido empregados para avaliações ambientais desde a década de 80 (BETTINARDI, 2009), no entanto foi na década de 1950 que iniciaram-se os estudos efetivos de substâncias químicas e de resíduos sobre o meio ambiente, período o qual, foi considerado um marco para a toxicologia aquática (DEZOTTI, 2007).

Os critérios de seleção dos organismos-testes normalmente são: abundância e disponibilidade; significativa representação ecológica; cosmopolitismo da espécie; conhecimento da biologia, fisiologia e hábitos alimentares; estabilidade genética e uniformidade de suas populações; baixo índice de sazonalidade; sensibilidade constante e apurada; facilidade de cultivo em laboratório e, se possível, a espécie deve ser nativa para a melhor representatividade dos ecossistemas (RAND, 1985).

A utilização de animais em ensaios de toxicidade são bem recorrentes na literatura para a avaliação toxicológica de amostras ambientais. No entanto, estes ensaios envolvem sempre questões éticas, grande quantidade de amostras e um longo tempo de análise, o que pode dificultar a execução destes ensaios (GIROTTI *et al.*, 2002). Diante disto, alternativas de organismos-testes como plantas e células têm ganhado espaço.

Como exemplo, SANTOS e colaboradores (2010) utilizaram vegetais para avaliar a toxicidade do lodo proveniente de uma estação de tratamento de efluente têxtil localizado em Americana, São Paulo. Os bioensaios avaliaram a germinação de sementes e o crescimento vegetal da soja e do trigo. A amostra analisada foi misturada em água para avaliar a germinação de sementes, e a solução nutritiva para avaliar o crescimento das plantas, em concentrações de 0, 19, 38, 76 e 152 g.L⁻¹. Não foram observados efeitos negativos após cinco dias de exposição para ambas condições testadas. Porém, após quinze dias no sistema hidropônico (que avaliava o crescimento das plantas), observou-se efeitos deletérios em concentrações acima de 38g.L⁻¹.

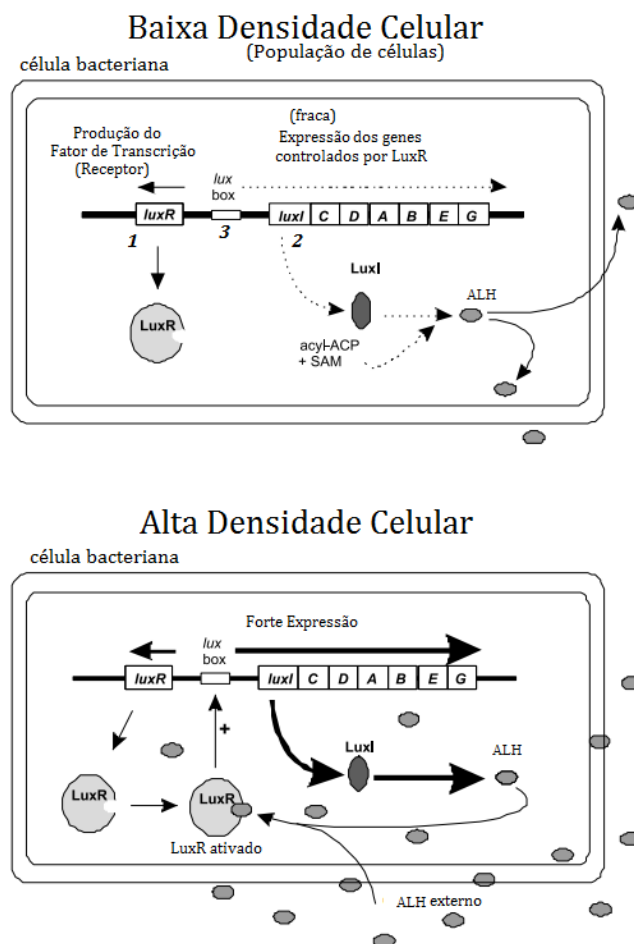
Apesar da literatura reportar diversos estudos acerca da toxicidade dos corantes da classe azo, outros pigmentos podem apresentar toxicidade igual, e em alguns casos até maior (VILLEGAS-NAVARRO *et al.*, 2001; TIGINI *et al.*, 2011). Como é o caso dos corantes da classe antraquinônica testado por NOVOTNÝ e colaboradores (2006). Nesse estudo, a toxicidade de dois corantes da classe azo (Laranja Reativo 16 e Vermelho Congo), e dois da classe antraquinônica (Azul Brilhante Remazol e Azul Disperso 3) foram avaliados por meio de bioensaios que utilizaram a bactéria marinha *Vibrio fischeri*, a microalga *Selenastrum capricornutum* e o protozoário *Tetrahymena pyriformis* como organismos-teste. Os aspectos envolvidos para a determinação da toxicidade foram: inibição da luminescência natural da bactéria como resultados de uma toxicidade aguda, inibição do crescimento das algas, e sobre os protozoários avaliou-se a viabilidade, inibição do crescimento e alterações morfológicas. Adicionalmente determinou-se a mutagenicidade dos corantes por meio do teste AMES (Teste de Mutação Reversa Bacteriana), utilizando a bactéria *Salmonella typhimurium*. Os resultados encontrados demonstraram que o corante antraquinônico Azul Disperso 3, foi o mais tóxico em todos os organismos testados. Em contraste com os outros corantes, esse, apresentou um comportamento mutagênico após a ativação metabólica das bactérias *in vitro*.

Ao longo dos últimos vinte e cinco anos, testes alternativos utilizando outros organismos (não-animais), foram introduzidas para complementar e, em alguns casos, para substituir os testes de toxicidade usando animais. Para a mensuração de toxicidade as bactérias têm se mostrado uma alternativa atraente, uma vez que são de fácil cultivo e seus ensaios de rápida reprodutibilidade. Neste contexto a utilização bactéria *Vibrio fischeri* têm ganhado espaço (KURVET *et al.*, 2011).

Vibrio fischeri é uma bactéria gram negativa, organotrófica, pertencente à família *Vibrionaceae* que compõe a gama de bactérias marinhas bioluminescentes, cujos gêneros mais representativos são, *Vibrio*, *Photobacterium* e *Alteromonas*, sendo as seguintes espécies mais comuns, *V. harveyi*, *V. fischeri*, *P. phosphoreum*, *P. leiognathi* e *A. hanedai*. A *Vibrio fischeri* possui distribuição global, podendo ser encontrada tanto em zona costeira como em mar aberto, tendo predominância principalmente em águas temperadas e subtropicais. Esta espécie é caracterizada pela cooperação e interação com tecidos de outros animais, onde pode estabelecer relação de simbiose com peixes teleósteos, lulas e camarões. O hospedeiro usufrui da capacidade de emissão de luz bacteriana, utilizando esta característica na comunicação intraespecífica, como por exemplo, na atração de presas e na defesa contra predadores. Quando associada a estes animais, sua densidade pode chegar a 10^9 - 10^{10} bactérias/ml, sendo que nesta circunstância, a emissão de luz e o crescimento são controlados pelo hospedeiro (MARTÍN *et al.*, 2010).

A produção de luz pela bactéria é dependente da ação da enzima luciferase sintetizada pela *operon* LuxR, que é regulado pelo sistema *quorum sensing*. Este mecanismo desencadeia a transcrição dos genes lux apenas em elevadas concentrações de células (HASTINGS, 2004). O autoindutor produzido pela *V. Fischeri* foi isolado, caracterizado e identificado como N-(3-oxohexanoil)-lactona homoserina pela primeira vez em 1981 por EBERHARD e colaboradores. As análises dos sistemas envolvidos no *quorum sensing* demonstraram que a bactéria regula a expressão de genes codificados para bioluminescência em resposta à densidade da população, como pode ser visto na (Figura 6).

Figura 6: Desencadeamento do fenômeno *quorum sensing* pela bactéria *Vibrio fischeri*

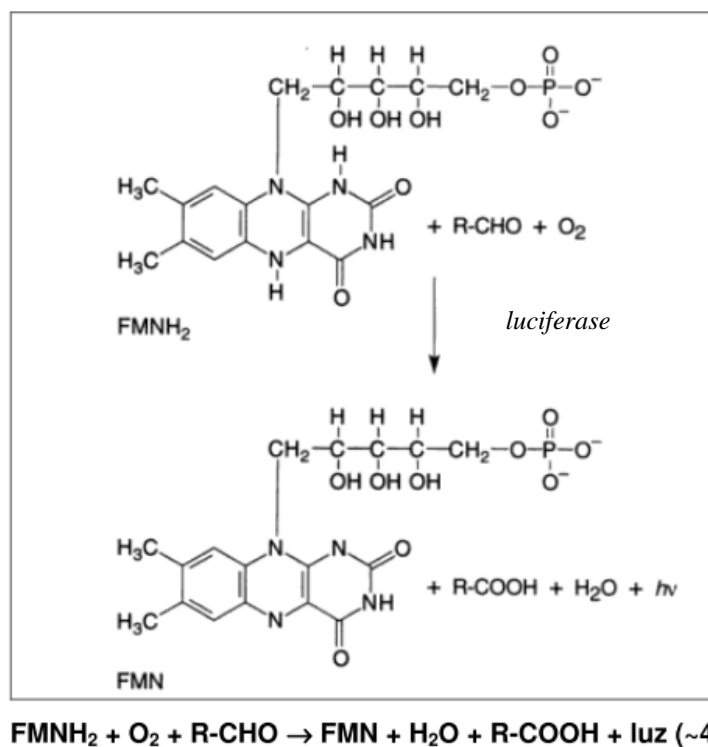


Fonte: (Adaptado WHITEHEAD *et al.*, 2001)

A baixa densidade celular da bactéria corresponde a uma baixa concentração de moléculas de sinalização. Quando os autoindutores atingem uma concentração extracelular mínima estimulatória, atravessam a membrana celular e ligam-se ao receptor citoplasmático LuxR, formando um complexo *LuxR-AHL* que induz a transcrição do *operon* luciferase (*luxICDABE*). Este *operon* é regulado por duas proteínas: *LuxI*, responsável por produzir o autoindutor AHL e a *LuxR* que, ativada pelo autoindutor, após esse ter entrado na célula, estimula a transcrição do *operon* da luciferase (FUQUA *et al.*, 1994).

O sistema de bioluminescência produzido por esta bactéria é o resultado de uma oxidação simultânea da riboflavina 5 – fosfato (FMNH₂) e um aldeído de cadeia longa (RCHO) na presença de oxigênio. A reação é catalisada pela enzima do tipo flavina monooxigenase chamada *luciferase* (produzida durante o fenômeno *quorum sensing*) como exemplificado pela (Figura 7).

Figura 7: Mecanismo de produção de bioluminescência pela *Vibrio fischeri*



Fonte: (OLIVEIRA *et al.*, 2013)

A luz é emitida quando a molécula flavina se torna eletronicamente excitada e subsequentemente apresenta fluorescência com o retorno do elétron ao seu estado inicial. Um dos átomos de oxigênio se torna reduzido em água, enquanto o outro é incorporado na função aldeídica, o qual transforma-se em ácido carboxílico. O aldeído (RCHO) é regenerado do ácido carboxílico (RCOOH) via redução por NADPH, catalisado por um complexo redutor de ácido graxo.

A atividade luminescente microbiana envolve sistemas de transporte de elétrons associados à produção de luz, e que são diretamente afetados por fatores ambientais prejudiciais ao metabolismo celular. Se algum distúrbio sobre a cadeia de transporte de elétrons manifesta-se como uma redução de luz, muito provavelmente a substância tóxica apresenta-se em uma forma biodisponível capaz de penetrar no interior da célula (STEINBERG *et al.*, 1995)

Para a realização dos ensaios bioluminescentes são disponibilizados alguns sistemas comercializados em geral com formulações liofilizadas. Uma grande variedade de marcas é disponível no mercado, dentre elas: Microtox® Acute Reagent e

Microtox®, SOLO (Strategic Diagnostics Inc.), LUMISTox® (LCK 480, da Hach/Dr. Lange, Alemanha), ToxAlert® (Merck, Alemanha), BioFix®-Lumi (Macherey-Nagel, Alemanha), ToxScreen I e II (CheckLight Bioluminescent Diagnostic Reagents, Israel), Bioluminex (ChromaDex, EUA) e Biolux®Lyo (UBiotecha, Brasil). O princípio destes testes baseia-se na inibição da produção de bioluminescência pela bactéria *V. fischeri* na presença de toxinas, metais pesados, compostos orgânicos como benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno, e uma variedade de pesticidas em amostras ambientais. O ensaio comercial de inibição de bioluminescência é realizado com base na cepa, NRRL B-11177, que é amplamente utilizada para a estimativa de toxicidade aguda (FARRÉ & BARCELÓ, 2003).

O teste agudo é utilizado para medir os efeitos de agentes tóxicos sobre a espécie durante um curto período de tempo em relação ao período de vida do organismo-teste, enquanto o ensaio crônico é realizado para medir os efeitos de substâncias químicas sobre espécies por um período que pode abranger parte ou todo o ciclo de vida. Na Tabela 4 é exposto parâmetros de avaliação do efeito tóxico utilizados nestes ensaios.

Tabela 4: Parâmetros de avaliação de toxicidade

Parâmetro	Definição
DL ₅₀	Dose Letal Média: dose de amostra que causa mortalidade de 50% dos organismos no tempo de exposição e condições do teste.
CL ₅₀	Concentração Letal Média: concentração de amostra que causa mortalidade de 50% dos organismos no tempo de exposição e nas condições do teste.
CE ₅₀	Concentração Efetiva Média: concentração de amostra que causa um efeito agudo (imobilidade, por exemplo) a 50% dos organismos no tempo de exposição e nas condições do teste.
CENO	Concentração de Efeito não Observado: maior concentração de agente tóxico que não causa efeito deletério estatisticamente significativo nos organismos no tempo de exposição e nas condições do teste.
CEO	Concentração de Efeito Observado: menor concentração de agente tóxico que causa efeito deletério estatisticamente significativo nos organismos no tempo de exposição e nas condições do teste.

Fonte:(COSTA *et al.*, 2008)

O teste que utiliza a bactéria marinha (*V. fischeri*) já é reconhecido como um importante teste de toxicidade de águas e efluentes, porém na sua forma comercializada

poucas amostras podem ser processadas sendo necessário adquirir grande quantidade de reagentes, desta forma elevando o custo das análises. Uma alternativa para otimizar o consumo dos reagentes e garantir ainda que muitas amostras possam ser processadas simultaneamente é miniaturização em microplacas. FIEHN *et al* (1997), foram pioneiros em propor a execução do ensaio com esta bactéria em microescala. Os pesquisadores relacionaram os dados experimentais obtidos em escala tradicional e em escala miniaturizada, obtendo um coeficiente de determinação de ($R^2= 0,945$). Isso indicou que a miniaturização do ensaio não comprometeu sua sensibilidade e viabilidade.

Muitas aplicações biológicas e químicas são impulsionadas pela miniaturização, o que minimiza os custos e abre a possibilidade para novas abordagens experimentais. Outros exemplos de ensaios biológicos miniaturizados na área ambiental são o MTT (GIROTTI *et al.*, 2002), que envolve toxicidade celular eucariótica, e o BLYES que envolve análise de estrogenicidade (SANSEVERINO *et al.*, 2005). Em geral, a utilização de tecnologia em microescala permite a obtenção de experimentos com quantidades reduzidas de reagentes, o que permite maior velocidade, menor custo e economia no consumo de energia, além de aumentar consideravelmente a produtividade e a geração de resultados (VYAWAHARE *et al.*, 2010).

3.5 Considerações Finais

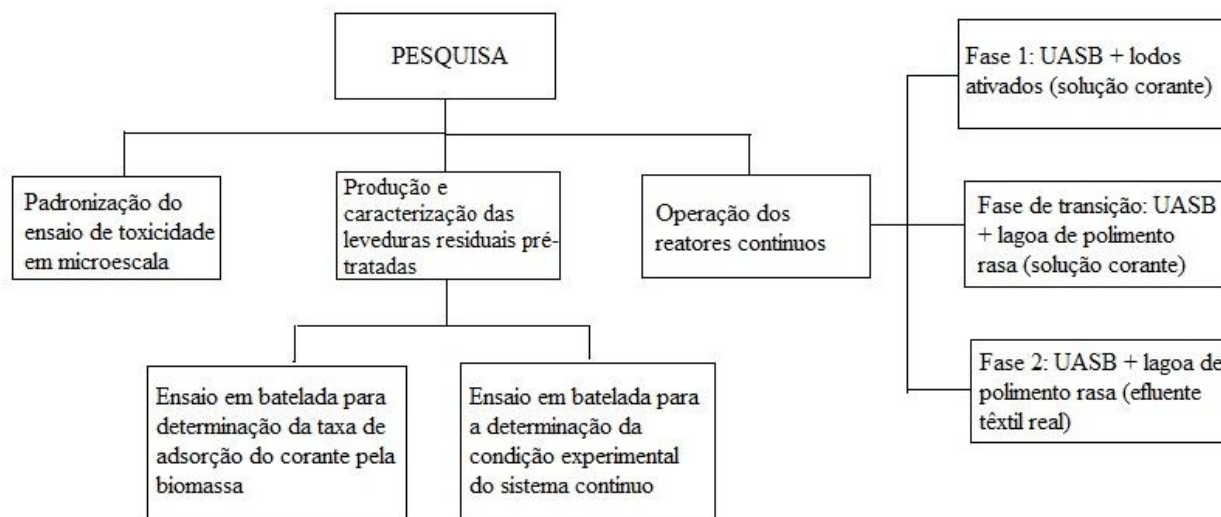
A partir das análises dos dados da revisão da literatura, foi possível perceber que o tratamento de efluentes têxteis ainda constitui um importante desafio para as ETEs. Mesmo com inúmeras pesquisas acerca do assunto, o sistema de tratamento frequentemente usados pelas indústrias, ainda se mostra ineficiente do ponto de vista ecológico e econômico. Os estudos apresentados neste levantamento ressaltam a dificuldade em encontrar um tratamento eficaz para tratar as diversas classes de corantes utilizados pela indústria, unindo eficácia e baixo custo operacional. Ademais, advertem quanto ao uso de corantes azo, devido a toxicidade, mutagenicidade e outros inconvenientes ambientais gerados pelos seus subprodutos. Diante deste contexto destaca-se a importância da utilização dos sistemas de tratamento combinados, que utilizam tecnologias complementares. O sistema anaeróbio-aeróbio visa remoção não só de cor e matéria orgânica, mas também de toxicidade. Mesmo com uma grande variedade de mecanismos aeróbios, os estudos apresentados preconizam reatores de

lodos ativados convencionais e de aeração prolongada. A bibliografia referente a etapas de polimento que utilizam lagoas de polimento para o contexto têxtil, ainda é carente de informações, necessitando de maiores pesquisas. Além disso a utilização de mediadores redox como riboflavina no tratamento anaeróbio motivou a busca de pesquisadores por fontes mais acessíveis desse mediador do ponto de vista econômico, uma vez que sua utilização em ETEs seria inviável economicamente.

4. MATERIAL E MÉTODOS

A primeira etapa desta pesquisa visou estabelecer a metodologia de ensaio de toxicidade em microescala utilizando a bactéria *Vibrio fischeri* como organismo teste. Posteriormente foi feita a caracterização elementar do extrato produzido a partir das leveduras residuais oriundas da indústria de fermentação alcoólica. Este extrato foi utilizado em dois ensaios de reatores em batelada, que objetivaram: (i) determinar a condição nutricional do sistema de tratamento contínuo, avaliando a possibilidade de utilizar as leveduras residuais como única fonte de nutrientes; (ii) avaliar a porcentagem de descoloração por adsorção da biomassa anaeróbica. A terceira e última etapa consistiu na operação e monitoramento de reatores contínuos combinados em escala de bancada, para o tratamento de um efluente têxtil sintético e real. Na Figura 8 estão representadas as etapas da pesquisa.

Figura 8: Fluxograma das etapas de execução da pesquisa



4.1 Miniaturização do ensaio de toxicidade utilizando a bactéria *Vibrio fischeri*

A cultura bacteriana foi obtida através da aquisição do kit *Microtox* (*Microtox Acute Toxic Test*) composto por ampolas da bactéria liofilizada, solução diluente (NaCl 2%) e solução de reconstituição. A metodologia de cultivo e de mensuração da toxicidade foi baseada na Norma ABNT NBR – 15411-1 (2012) “Ecotoxicologia

Aquática – Determinação Do Efeito Inibitório De Amostras Aquosas Sobre Emissão De Luz De *Vibrio fischeri* (Ensaio De Bactéria Luminescente) Parte 1: Método Utilizando Bactérias Recém-Cultivadas”.

A amostra bacteriana liofilizada foi ressuspensa em água ultra-pura e transferida para um erlenmeyer contendo 50 mL de meio de cultura líquido (Tabela 5) de pH 7,0 ($\pm 0,2$).

Tabela 5: Composição do meio de cultura líquido (g/L)

Reagentes	Quantidades
Cloreto de Sódio (NaCl)	30 g
Dihidrogenofosfato de Sódio monohidratado (NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O)	6,10 g
Hidrogenofosfato de Dipotássio trihidratado (K ₂ HPO ₄ . 3H ₂ O)	2,75 g
Sulfato de Magnésio heptahidratado (MgSO ₄ . 7H ₂ O)	0,204 g
Di-Amônio Hidrogenofosfato ((NH ₄) ₂ .HPO ₄)	0,50 g
Glicerol	3ml
Caso-peptona	5g
Extrato de levedura	0,50 g

Posteriormente a pré-cultura foi incubada em *shaker* a 20°C sob uma agitação de 180 rpm por 21h ± 1 h. Após este período foram adicionados mais 50 mL do mesmo meio de cultura e incubado nas mesmas condições por mais 21h ± 1 h. Após isto, foi realizado um plaqueamento com a cultura em meio sólido (meio líquido acrescido de 1,2% de ágar bacteriológico), e incubadas em estufa à 20°C por um período de 2 a 5 dias até a obtenção de colônias isoladas. A placa foi observada na ausência de luz e as colônias com maior luminescência foram selecionadas.

As colônias selecionadas foram cultivadas em meio líquido (Tabela 5) nas mesmas condições descritas anteriormente. O crescimento celular foi determinado por turbidez em unidades nefelométricas de formazina UNF de uma diluição 1:10 da cultura em solução salina 2%, e lida a 578nm em espectrofotômetro. A concentração ideal de células para criopreservação é de 800-2.500 UNF. Ao atingir a concentração ideal, a amostra foi então centrifugada a 4.000 g (± 2000 g) por 15 minutos a 4°C, o sobrenadante descartado, e o *pellet* ressuspensa em 10ml de solução salina

previamente resfriada. Procedeu-se com a centrifugação nas mesmas condições descritas anteriormente, descartou-se o sobrenadante sendo o *pellet* ressuspensionado em 500µl de solução salina e 4ml de meio protetor (Tabela 6). Um volume de 100µl foi aliquotado em criotubos e armazenados a -70°C.

Tabela 6: Constituintes do meio protetor para congelamento da *Vibrio fischeri* (g/L)

Reagentes	Quantidade
D (+) glicose mono-hidratada (C ₆ H ₁₂ O ₆ .H ₂ O)	33g
Cloreto de Sódio (NaCl)	2g
L-histidina (C ₆ H ₉ N ₃ O ₂)	1g
Soro de Albumina Bovina (BSA)	0,25 g

Estes reagentes foram dissolvidos a uma temperatura de 37 ° C, o pH ajustado para 7,0 ± 0,2 e o volume final completado com água destilada para 50ml.

Para a execução do teste, as amostras congeladas foram descongeladas lentamente em banho maria cuja temperatura não ultrapassou 20°C ± 2°C. Após isto, transferiu-se a suspensão bacteriana para um tubo de 50ml previamente esterilizado, e posteriormente adicionou-se o meio de reconstituição (Tabela 7).

Tabela 7: Composição do meio de reconstituição para reativação do metabolismo bacteriano (g/L)

Reagentes	Quantidade
D (+) glicose mono-hidratada (C ₆ H ₁₂ O ₆ .H ₂ O)	8g
Cloreto de Sódio (NaCl)	20g
Cloreto de Magnésio hexa-hidratado (MgCl ₂ . 6H ₂ O)	2,035g
Cloreto de potássio (KCl)	0,30g
HEPES	11,9g

Dissolveu-se em água processada e o pH foi ajustado para 7,0±0,2.

Para os ensaios em que houve utilização das bactérias frescas (recém cultivadas) não realizou-se o procedimento de congelamento. A cultura foi utilizada após a quantificação por UNF.

A miniaturização do teste consistiu em reduzir o volume de utilização da análise de 3 ml (convencional) para 300µl, sendo 150µl de suspensão bacteriana e 150µl da amostra/controle previamente diluída em solução salina 2%. Antes da execução dos ensaios com as amostras dos efluentes, foram testadas duas substâncias de referência

(ABNT NBR 15411-1), que foram utilizadas para avaliação da sensibilidade do organismo-teste. As substâncias controle testadas foram:

- 1) Sulfato de zinco heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) (solução a $219,8 \text{ mg.L}^{-1}$)
- 2) Dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) (solução a $22,6 \text{ mg.L}^{-1}$)

Neste ensaio objetivou-se avaliar a sensibilidade de dois lotes bacterianos: um com a bactéria congelada (preservada a -70°C) após a reativação do seu metabolismo com o uso do meio de reconstituição, e o outro com a bactéria recém-cultivada (fresca). Foram utilizados seis fatores de diluição (FD) em triplicata, que obedeceram a metodologia exposta na (Tabela 8), que consiste na diluição da substância referência em solução salina 2%, nas proporções de 1:2, 1:3, 1:4, 1:6, 1:8, 1:12, obtendo então, os seguintes fatores de diluição (FD): 2, 3, 4, 6, 8, 12. As diluições de cada solução controle foram feitas em uma proporção para que o volume final da amostra ficasse ajustado para $150\mu\text{l}$.

Tabela 8: Série de diluições pelo método geométrico (ABNT NBR – 15411-1) para preparo da amostra a ser testada

FD	Amostra* (μl)	Diluyente (μl)	Bactéria (μl)
Controle/branco	0	150	150
2	150	0	150
3	100	50	150
4	75	75	150
6	50	100	150
8	37,5	112,5	150
12	25	125	150

A aferição da toxicidade foi feita através da determinação da intensidade de luminescência inicial I_0 e após 5, 15 e 30min (I_5 , I_{15} , I_{30}) de contato com a amostra utilizando o leitor de microplacas VICTOR™ X3 Multilabel Plate Reader (Perkin Elmer) a uma temperatura de 15°C . Ressalta-se que I_0 foi lido antes da adição das amostras a serem analisadas. Os valores de medição inicial e final de luminescência foram submetidos a uma série de cálculos estabelecidos pela Norma (ABNT NBR 15411-1) para apurar os valores de inibição e determinar as concentrações efetivas para

inibição de luminescências de 50 e 20% da população, CE_{50} e CE_{20} respectivamente. Os cálculos para a determinação da CE_{20} e CE_{50} seguem as seguintes etapas:

a) Cálculo do Fator de Correção (ft)

Calcula-se o fator de correção (valor ft) a partir da intensidade de luminescência medida, utilizando-se a equação (1). Esse fator serve para corrigir os valores iniciais de I_0 , antes que possam ser utilizados como valores de referência para a determinação da diminuição da luminescência provocada pela água.

$$ft = \frac{It}{I_0} \quad (1)$$

Em que:

ft : fator de correção para o tempo de contato de 5, 15 ou 30 minutos;

It : intensidade da luminescência para o controle após um tempo de contato de 5,15 ou 30 minutos;

I_0 : intensidade da luminescência para o controle imediatamente antes da transferência de amostra.

b) Cálculo dos Valores de Gama (Γ)

Os valores de gama expressam a diminuição da emissão de luz do organismo teste para cada diluição da amostra testada. Representa a razão entre o decréscimo na quantidade de luz emitida pelo organismo-teste (*Vibrio fischeri*) e a quantidade de luz remanescente em um determinado período de tempo. Esses valores, utilizados para a determinação da CE_{50} , são calculados de acordo com a equação (2)

$$\Gamma (t, T) = \frac{Ft \cdot I_0}{It} - 1 \quad (2)$$

Em que:

$\Gamma (t, T)$ = efeito gama calculado para um período de tempo (t) a uma dada temperatura (T). tempo de exposição

Ft Fator de correção

I_t : intensidade da luminescência para o controle após um tempo de contato de 5,15 ou 30 minutos;

Vale ressaltar que quando certa concentração da suspensão-teste causar 0% ou 100% de inibição da bioluminescência, o valor de gama não pode ser calculado.

c) Determinações das Concentrações Efetivas (CE)

Para a avaliação da relação concentração efeito, pode-se utilizar análise de regressão linear e não linear. A determinação linear da CE_{50} e/ou CE_{20} é feita por meio da reta de regressão linear obtida entre os logaritmos das concentrações testadas versus o logaritmo dos valores de gama obtidos. Foi utilizado o programa *Graph Pad Prism* para a construção da reta, que deve obedecer à equação (3):

$$\ln C = a + b \ln \Gamma (t,T) \quad (3)$$

Em que:

C = Concentração da amostra

a = Intercepção da reta

b = inclinação da reta

$\Gamma (t,T)$ = Valor do efeito gama

As CE_{50} e/ou CE_{20} podem ser determinadas graficamente ou por meio de cálculos matemáticos. Os valores de gama iguais a 1 e 0,25 correspondem a 50% e 20% de redução na quantidade de luz emitida pelo organismo- teste.

4.2 Obtenção e tratamento da Levedura residual

A levedura residual foi obtida na microcervejaria Krug Bier situada na cidade de Nova Lima, (MG) localizada na região metropolitana de Belo Horizonte, responsável pela produção de chopes e cervejas artesanais. A empresa fabrica hoje seis tipos de chope e cinco rótulos da cerveja Áustria, uma produção total de 2 200 milhões de litros por ano. As amostras de leveduras foram coletadas diretamente das dornas de fermentação onde ocorre a fase final do processo de produção. Os frascos foram

esterilizados antes da coleta, e posteriormente foram armazenados em um refrigerador (10°C), permanecendo por até no máximo uma semana antes do pré-tratamento.

4.2.1 Pré-tratamento da Levedura residual

O pré-tratamento das leveduras foi baseado na metodologia estabelecida por VICTRAL (2015), que visa à liberação de todo conteúdo citoplasmático das leveduras através da lise osmótica promovida pela adição de (NaCl), onde se estabelece uma razão de 45% de sal sob a biomassa seca. Isto permite que mais riboflavina possa ser liberada para o meio, possibilitando desta forma sua utilização como mediador redox na degradação de corantes.

O tratamento pode ser dividido em três etapas: (i) **clarificação**: objetiva a limpeza, a retirada da cerveja e o “desamargamento” da biomassa através de sucessivas centrifugações com etanol P.A; (ii) **lise osmótica**: promovida pela adição do sal (NaCl), que ocorre em frascos erlenmeyers colocados em incubadoras *shaker* sob temperatura e agitação controladas; (iii) **secagem**: visa a concentração das leveduras rompidas por meio de evaporação do meio líquido em estufas de circulação. Após seco, o material é macerado e transformado em extrato. O esquema disposto na Figura 9 ilustra o processo.

Figura 9: Processo de lise osmótica das leveduras residuais para obtenção do extrato

(i) Clarificação



(ii) Lise osmótica



(iii) Secagem



(iii)



Fonte: Própria Autora

4.2.2 Caracterização das leveduras residuais pré-tratadas

A caracterização de microelementos foi feita por meio da técnica de Fluorescência por Reflexão Total de Raios-x (TXRF). Esta técnica é usualmente aplicada para análise de elementos metálicos e traços (na faixa de ppb) em amostras líquidas (da ordem de microlitros). Este método foi empregado para avaliar os microelementos presentes na levedura residual pré-tratada, em dois lotes de produção a uma concentração de 350mg.L^{-1} .

4.3 Ensaios em batelada

Os ensaios em batelada para determinação das condições nutricionais dos reatores contínuos foram realizados em frascos âmbar de volume de 275ml, previamente esterilizados. Os testes foram realizados em triplicata, fazendo uso de água da torneira e água destilada em quatro condições experimentais distintas, como descrito na Tabela 9. A solução nutriente utilizada no ensaio tem a composição descrita na Tabela 10.

Tabela 9: Condições experimentais utilizadas para avaliar potencial nutricional das leveduras residuais

Condição experimental	*Biomassa anaeróbia (SSV) (mg.L^{-1})	Solução Nutriente (mL)	Levedura residual pré-tratada (mg.L^{-1})	Extrato comercial (mg.L^{-1})	**Solução corante (mg.L^{-1})
-	(mg.L^{-1})	(mL)	(mg.L^{-1})	(mg.L^{-1})	(mg.L^{-1})
C1	1000	3	350	-	50
***C2	1000	-	350	-	50
C3	1000	3	-	350	50
C4	1000	-	-	350	50

*SSV – sólidos suspensos voláteis, indicador de inóculo (biomassa anaeróbia) ;**Amarelo Ouro Remazol RNL;***Na condição C2 foi usado água de torneira

Tabela 10: Composição da Solução Nutriente

Macro Nutrientes	Concentração (mg.L ⁻¹)	Micro Nutrientes	Concentração (mg.L ⁻¹)
NH ₄ Cl	1,112	FeCl ₃ .6H ₂ O	5,0
(NH ₄)H ₂ PO ₄	132,5	ZnCl ₂	0,13
(NH ₄)HPO ₄	44,5	MnCl ₂ .4H ₂ O	1,25
MgCl ₂	250	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ . 4H ₂ O	1,6
CaCl ₂ .2H ₂ O	189	AlCl ₃ .6H ₂ O	0,13
NaHCO ₃	2,5	CoCl ₂ .6H ₂ O	5,0
-	-	NiCl ₂ .6H ₂ O	13,0
-	-	H ₃ BO ₃	3,0
-	-	CuCl ₂ .2H ₂ O	8,0
-	-	HCl	1 (ml /L)

Os reatores foram lacrados com tampas de borracha e lacre de alumínio e incubados a 25 °C sob uma agitação de 150 rpm (*Shaker SOLAB SL 221*). Para garantir uma condição anaeróbia, foi realizada uma purga com nitrogênio por aproximadamente 3 minutos. Para a quantificação da remoção de cor pelo sistema de tratamento, primeiramente determinou-se o pico do corante Amarelo Ouro Remazol por meio de uma varredura realizada no espectrofotômetro (HP 8453 *UV-Visible system*), a uma concentração de 50 mg.L⁻¹. Determinado o comprimento de onda de máxima absorção (λ_{\max} = 410 nm), este foi fixado para realizar leituras em três tempos: 0, 12 e 48 horas.

Com o intuito de estimar a porcentagem de adsorção de corante pela biomassa anaeróbia realizou-se um ensaio em batelada com a biomassa submetida a dois pré-tratamentos de inativação, descritos na Tabela 11. A remoção de cor foi avaliada em ensaios com biomassa inativa nas condições apresentadas na Tabela 12. As condições de realização do ensaio foram as mesmas do ensaio anterior, contudo as leituras de remoção de cor foram feitas de 6 em 6 horas durante um período de 48h.

Tabela 11: Pré-tratamentos utilizados para a inativação da biomassa

Condições	Biomassa anaeróbia	Pré-tratamento
	SSV mg.L ⁻¹	
1	1000	Autoclavagem da biomassa durante 20min à uma temperatura de 120°C
2	1000	Exposição da biomassa em recipiente de vidro a luz U.V por 45min em fluxo laminar
3	1000	Biomassa sem pré-tratamento

Tabela 12: Condições experimentais para o teste de adsorção pela biomassa

Ensaio Experimental	Biomassa (SSV)	Solução Nutriente	Levedura residual pré-tratada	Extrato Comercial	Solução corante
	(mg.L ⁻¹)	(mL)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)
C1* Residual	1000	-	350	-	50
C2 Comercial	1000	-	-	350	50
C3 Solução nutriente	1000	20	-	-	50

* Para a condição C1 foi utilizado água da torneira em substituição a solução nutriente.

Após as inativações foi realizado um plaqueamento com as amostras de cada biomassa em meio ágar nutriente em uma diluição 1:10 de solução salina (0,5% previamente autoclavada), juntamente com um controle com a biomassa não inativada, ou seja, sem pré-tratamento. Posteriormente as placas foram incubadas por 24h em estufa à 37°C. Este procedimento foi feito para verificar se os microrganismos foram realmente inativados, ou se ainda havia algum em atividade.

4.4 Reatores Contínuos

4.4.1 Estruturas e condições operacionais

O sistema de tratamento com alimentação contínua utilizado neste projeto foi composto por um reator anaeróbio do tipo UASB, um decantador, um reator de Lodos ativados e uma Lagoa de polimento rasa. Os reatores de bancada foram confeccionados por tubos e ligações de cloreto de polivinila (PVC) e placas de vidro. A composição, estrutura e condição operacional de cada fase está disposta na Tabela 13.

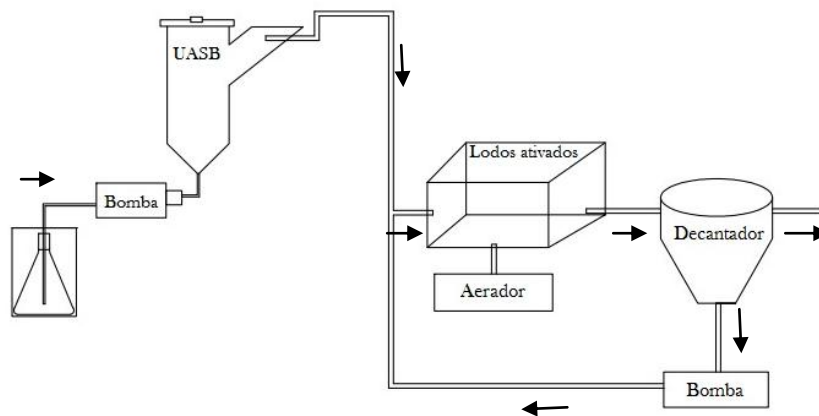
Tabela 13: Estruturas e condições operacionais de cada fase

Fase de operação	Sistema de reatores	Vazão (L/h)	TDH (h)	Volume dos reatores (L)	Composição dos reatores	*Afluente/Efluente
1	UASB	0,0895	24	2,2	Tubos e conexões de PVC	50mg.L ⁻¹ de corante RNL + 350mg.L ⁻¹ leveduras residuais pré-tratadas
	Lodos Ativados	0,164	8	1,2	Placas de vidro	Advindo do UASB
	Decantador	0,0745	6	1	Tubos e conexões de PVC	Recirculação do lodo ativado
Transição	UASB	0,0895	24	2,2	Tubos e conexões de PVC	50mg.L ⁻¹ de corante RNL + 350mg.L ⁻¹ leveduras residuais pré-tratadas
	Lagoa	0,0895	66	6	Placas de vidro	Advindo do UASB
2	UASB	0,0895	24	2,2	Tubos e conexões de PVC	Efluente têxtil bruto dez vezes diluído
	Lagoa	0,0895	66	6	Placas de vidro	Advindo do UASB

* Foi utilizada água de torneira como diluente em todas as fases de operação.

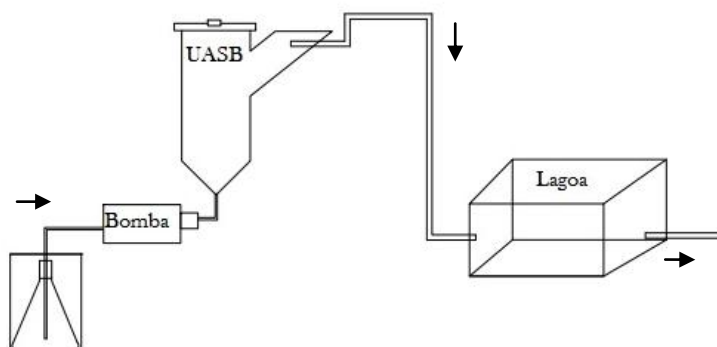
O reator aeróbio de lodos ativados recebeu o auxílio de bombas de ar comprimido e de pedras porosas para ajudar na aeração do sistema, a oxigenação foi mantida acima de 1,5 mg.L⁻¹ de oxigênio dissolvido. Bombas peristálticas da marca Milan®, modelo 628, foram usadas para o bombeamento das soluções para os reatores, sendo as conexões entre os mesmos feitas por mangueiras de silicone. O sistema de tratamento da primeira fase foi operado dentro do laboratório em temperatura ambiente. A configuração do sistema está exemplificado na (Figura 10).

Figura 10: Configuração do funcionamento do sistema de tratamento da fase 1



Antes da segunda etapa de operação, foi proposta uma fase de transição, em que o sistema de lodos ativados foi substituído pelo sistema de lagoa de polimento rasa. Esta fase tratou o mesmo afluente da fase 1, no entanto os reatores foram operados ao ar livre. Além disso, um controle contendo 50mg.L^{-1} de Amarelo Ouro Remazol foi exposto às mesmas condições dos reatores, objetivando avaliar a possível fotodegradação do corante provocada pela luz solar. O novo esquema de operação é demonstrado na (Figura 11):

Figura 11: Configuração do funcionamento do sistema de tratamento da fase de transição e da fase 2



O afluente tratado na segunda fase foi um efluente têxtil real, inicialmente tratado bruto, e posteriormente 10 vezes diluído, com o pH calibrado a 7 ± 2 . Este, foi coletado na cidade de Itabirito (MG), na Cia Itabirito Industrial e Tecelagem de Algodão empresa têxtil de capital privado, especializada em beneficiamento de tecidos tintos e estampados, com produção atual de cerca de 9 milhões de m^2 /ano de tecidos planos. O efluente foi captado no tanque de equalização, etapa que precede o tratamento do mesmo.

4.5 Inóculos

4.5.1 Reator UASB

A coleta da biomassa anaeróbia foi feita em reatores UASB alimentados com esgoto sanitário operados em escala de demonstração no Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento (CePTS) da Universidade Federal de Minas Gerais UFMG/COPASA, localizado na Estação de Tratamento de Esgoto Arrudas (ETE-Arrudas). Em todas as fases de operação utilizou-se o lodo com concentração de sólidos suspensos voláteis - SSV - de 10.000 mg.L^{-1} .

4.5.2 Reator de Lodos Ativados

A biomassa aeróbia foi retirada do tanque de aeração de um sistema de lodos ativados que tratam o esgoto sanitário na ETE-Arrudas (Figura 12), a biomassa foi usada no reator a uma concentração de SSV de 4.200 mg.L^{-1} .

Figura 12: Coleta de lodos ativados nos reatores aeróbios da ETE-Arrudas



Fonte: Própria Autora

O Tempo de retenção celular do lodo do sistema aeróbio foi calculado a partir da equação (4). A idade do lodo refere-se ao tempo em que a célula bacteriana permanece no sistema de tratamento (θ_c), que deve ser superior ao necessário para a mesma se duplicar. Caso contrário, a célula será varrida do sistema antes que possa se multiplicar, conduzindo a uma progressiva redução da concentração de biomassa no reator, até a falha total do sistema.

$$\theta_c = \frac{Xv.V}{Qd.Xv.R} \quad (4)$$

Em que:

X_v = SSV no tanque de aeração (microrganismo)

$X_{v,R}$ = SSV do lodo na linha de recirculação, cuja fração também é descartada

Sugere-se que a faixa de retenção celular nos sistemas de mistura completa, taxa convencional, com recirculação de lodo seja de 3 a 10 dias.

O cálculo para remoção do lodo excedente na linha de recirculação, foi feito baseado na equação (5):

$$QD = \frac{V.X}{\theta.X_r} \quad (5)$$

Em que:

X = SSV mg.L⁻¹ totais no reator

X_r = SSV mg.L⁻¹ totais do lodo de circulação

4.5.3 Lagoa de Polimento Rasa

As microalgas foram coletadas no tanque de cultivo localizado no Herbário Professor José Badini, pertencente ao Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio Ambiente da Universidade Federal de Ouro Preto. A concentração da biomassa

algal usada foi de 6.000 mg.L^{-1} de SSV concentrada por meio de sucessivas centrifugações. O registro das microalgas foi realizado a partir de imagens geradas no microscópio óptico (Olympus CX31, Japan) equipado com a câmera Olympus SC30. Para a identificação das microalgas foi utilizada a chave: “ALGAS do Estado de São Paulo Chave Artificial para Identificação de alguns Gêneros” e “Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil - Chave para Identificação e Descrições” (Bicudo, Carlos E. De M. / Menezes, Mariângela Rima).

4.6 Métodos analíticos

4.6.1 Demanda Química de Oxigênio (DQO) filtrada

A quantificação da carga orgânica e inorgânica oxidável pelo dicromato de potássio, foi feita por meio do ensaio de DQO em uma frequência de três vezes por semana, com o intuito de estimar a concentração de matéria presente na fase líquida (solúvel) durante as etapas do tratamento anaeróbio e aeróbio. Para tal, as amostras foram filtradas em filtros de celulose de $0,45 \mu\text{m}$ de poro.

Os ensaios foram realizados de acordo com o método colorimétrico de refluxo fechado, descrito pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (AWWA/APHA/WEF, 2005).

4.6.2 Quantificação do Nitrogênio Amoniacal

Foram coletados 50ml de amostras a cada quinze dias para determinação da concentração de nitrogênio amoniacal no afluente e nos efluentes dos reatores anaeróbio e aeróbio. Esta análise objetivou avaliar a eficiência de degradação das proteínas presentes nas leveduras residuais pré-tratadas e do nitrogênio orgânico presente no efluente, assim como avaliar a oxidação da amônia nas unidades aeróbias. Os ensaios foram executados seguindo o protocolo estabelecido pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 4500.C*.

4.6.3 Análise da remoção de cor

As leituras de remoção de cor da fase 1 e de transição foram realizadas diariamente da mesma forma disposta no item (4.3). Para a conversão da absorbância em concentração de corante, foi feita uma curva de calibração na faixa de 2,5 à 60 mg.L^{-1} de Amarelo Ouro Remazol ($R^2 = 0,9951$).

Para a segunda fase de operação, adotou-se o método protocolado pelo *Standard Methods: 2120D Spectrophotometric Multi-Wavelength Method* para avaliação da remoção de cor de efluentes industriais utilizando escala de mg.L^{-1} PtCo.

4.6.4 Quantificação dos ácidos graxos voláteis (AGV)

As análises dos AGVs (fórmico-C1, valérico-C5) foram determinadas utilizando cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) Shimadzu®, com detector DAD, sendo a análise realizada no $\lambda_{\text{máx}} = 210\text{nm}$. A separação cromatográfica foi realizada em coluna de troca iônica Aminex HPX-874 (Bio-Rad®), mantida a 55°C , e utilizando como fase móvel uma solução de ácido sulfúrico 0,01 M com fluxo isocrático de 0,6 mL/min. As amostras foram previamente filtradas com filtro de $0,45\ \mu\text{m}$ de poro, e o volume injetado foi de $10\ \mu\text{l}$. O método foi devidamente validado por MESQUITA *et al.*, (2013).

Para a conversão dos AGVs em $\text{DQO}_{(\text{AGV})}$ foi utilizado a equação (6), que leva em conta os coeficientes estequiométricos de oxidação de cada ácido.

$$\text{DQO}(\text{AGV}) = 1,07 \times [\text{acetato}] + 1,51 \times [\text{propionato}] + 1,82 \times [\text{butirato} + \text{isobutirato}] + 2,04 \times [\text{valerato} + \text{isovalerato}] \quad (6)$$

4.6.5 Aferição do pH

O pH dos reatores foi medido usando pHmetro da marca Analion, modelo PM 608, calibrado ao uso, com exatidão de $\pm 0,2$. Esta medida foi realizada com intuito de verificar se o pH no interior dos reatores estava dentro da faixa considerada ideal (6,8 a 7,2) para o crescimento microbiano.

4.7 Avaliação dos Parâmetros Cinéticos dos Reatores

O conhecimento acerca do processo de degradação dos compostos têxteis pelos microrganismos pode fornecer dados importantes para um projeto de operação. Informações como a capacidade de inibição do efluente têxtil, e a velocidade de degradação do substrato provê noções da interação microrganismo – resíduo. Dessa forma, buscou-se avaliar a cinética de degradação de cor e DQO pelo reator UASB nas

duas fases de operação, objetivando determinar as constantes cinéticas mediante diferentes modelos, permitindo elucidar os mecanismos de reação (ordem de reação e tipo cinética). Para tal, quatro modelos cinéticos foram testados: cinética de Primeira ordem, Pseudo primeira ordem, Michaelis-Menten e Briggs-Haldane, com o intuito de verificar qual se encaixa melhor ao comportamento dos dados experimentais. O ajuste das constantes cinéticas pertencentes aos modelos mencionados foi baseado no esquema experimental e condições operacionais usadas, assim como no balanço de massa em estado transitório descrito pela equação (7) supondo que o reator UASB comporta-se como um reator de mistura completa:

$$V \frac{dC}{dt} = QC_i - QC - rV \quad (7)$$

Em que:

C: concentração de substrato (mg.L⁻¹)

V: volume do reator (L)

Q: vazão de alimentação e saída do reator em (L.d⁻¹),

C_i: concentração de substrato alimentado (mg.L⁻¹)

r: é a equação cinética.

O algoritmo para o ajuste das constantes cinéticas foi desenvolvido no software MatLab e consistiu na otimização do balanço de massa dinâmico (equação 8), que é uma equação diferencial ordinária (EDO), cujos únicos parâmetros a serem ajustados correspondem aos parâmetros da expressão cinética, pois experimentalmente, vazão, volume do reator e concentração da alimentação são mantidas fixas enquanto a evolução da concentração do substrato é medida no tempo. Matematicamente o algoritmo usa um método Runke-Kutta de ordem variável, para a solução da EDO, acoplado com um método de Levenberg-Marquardt para a otimização por mínimos quadrados não lineares da diferença entre as concentrações experimentais e a preditas pela solução da EDO.

Na próxima seção serão definidas e explicadas brevemente as expressões matemáticas para as equações cinéticas estudadas, assim como os parâmetros que as compõem.

4.7.1 Cinética de primeira ordem

Em uma reação de primeira ordem a velocidade depende da concentração do substrato, ou seja, a velocidade é diretamente proporcional à concentração do substrato. Para a aplicação do modelo utilizou-se a equação (8).

$$r = kC \quad (8)$$

Em que:

r : taxa ou velocidade de utilização de substrato,

k = constante de velocidade para a reação de Primeira Ordem,

C = concentração de substrato (mg.L^{-1})

4.7.2 Cinética de pseudo primeira ordem

Cinética de pseudo primeira ordem significa que a taxa de transformação biológica é diretamente proporcional à concentração dos compostos presentes na fase líquida, além da concentração da biomassa no sistema. Para aplicação do modelo utilizou-se a equação (9).

$$r = kX.C \quad (9)$$

Em que:

r = taxa ou velocidade de utilização de substrato

C = concentração de substrato (mg.L^{-1})

k = constante de velocidade para reação de pseudo primeira ordem

X = concentração de microrganismos (SSVmg.L^{-1})

4.7.3 Modelo de Briggs-Haldane ou inibição por substrato

O modelo descrito por Briggs-Haldane relaciona a taxa de crescimento microbiano com a de remoção do substrato, considerando a possível taxa de inibição do substrato. O modelo é descrito pela equação (10):

$$r = \frac{V_{m\acute{a}x}C}{K_m + C + \frac{C^2}{K_i}} \quad (10)$$

Em que:

r : velocidade da reação

$V_{m\acute{a}x}$: velocidade máxima de reação

K_m : constante de saturação

C : concentração de substrato (mg.L^{-1})

K_i : constante de inibição

4.7.4 Modelo Michaelis-Menten

O modelo descrito por Michaelis e Menten estabelece uma relação quantitativa entre a velocidade de reação enzimática e a concentração do substrato. As reaoes catalisadas por enzimas são saturáveis, e a sua velocidade de catálise não indica uma resposta linear face ao aumento de substrato. Se a velocidade inicial da reação  medida sobre uma escala de concentraoes de substrato $[C]$; a velocidade de reação (r), aumenta com o acréscimo de $[C]$. A medida que $[C]$ aumenta, a enzima satura-se e a velocidade atinge o valor máximo V_{max} . Este modelo é representado pela equação (11):

$$r = \frac{V_{m\acute{a}x}C}{K_m + C} \quad (11)$$

Em que:

r : velocidade da reação

$V_{m\acute{a}x}$: velocidade máxima da reação

C : concentração do substrato (mg.L^{-1})

K_m : constante

4.8 Análise de toxicidade

Foram realizadas análises de toxicidades do afluente, do efluente do reator anaeróbio e aeróbio, nas fases 1 e 2 de operação. Um volume de 5ml de amostra de cada efluente e afluente foram coletados e filtrados em filtro de celulose de $0,45\mu\text{m}$, a fim de remover células microbianas que poderiam comprometer o resultado do bioensaio. Cada

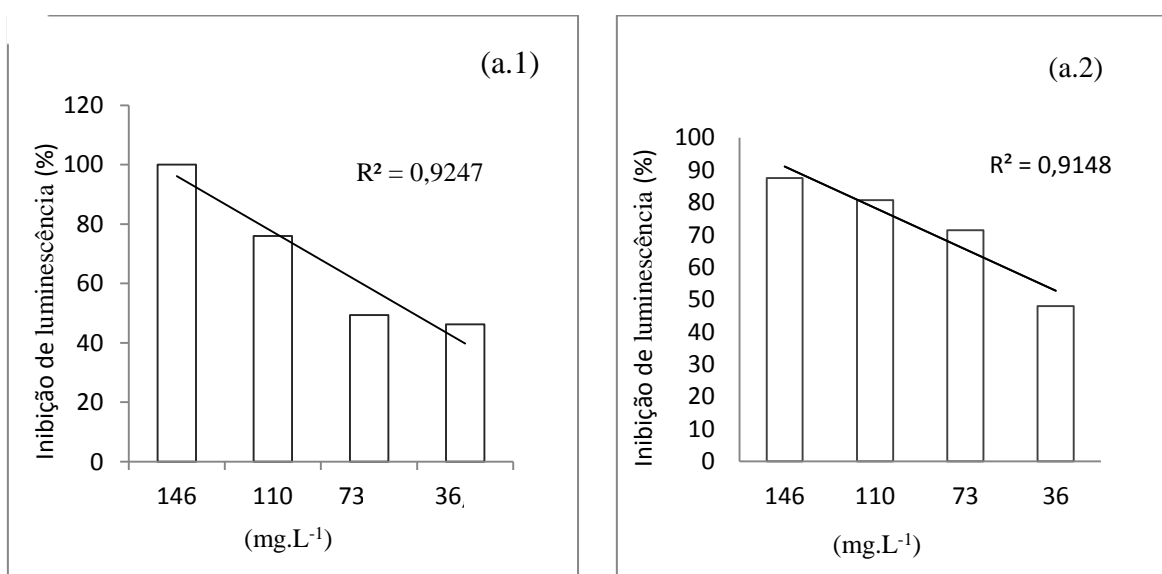
amostra foi então submetida à diluição seriada descrita na Tabela 8. A execução do ensaio seguiu os mesmos critérios apresentados no subitem 4.1.

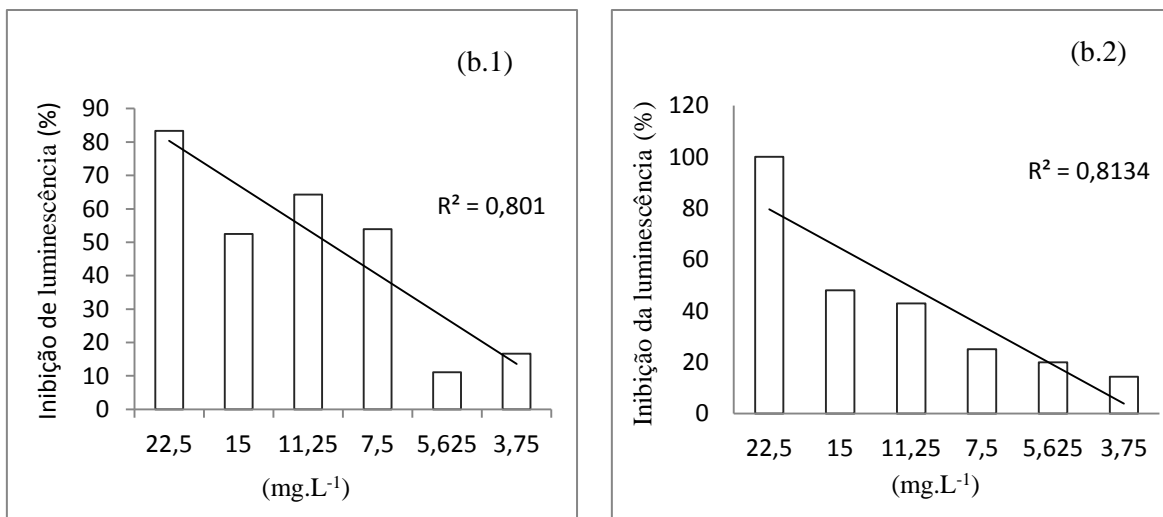
5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1 Miniaturização do ensaio de toxicidade

Com o intuito de estabelecer uma substância tóxica de referência para todos os ensaios, testou-se duas substâncias sugeridas pela Norma (ABNT NBR – 15411-1): sulfato de zinco heptahidratado, e dicromato de potássio. Neste ensaio foram utilizadas alíquotas da bactéria fresca (recém cultivada) e congeladas a (-70°C) a fim de comparar a sensibilidade de cada uma. Os valores mais próximos entre os valores de CE_{50} apresentados na norma (teóricos) e os obtidos com a miniaturização foram para o controle sulfato de zinco heptahidratado, para o tempo de exposição à amostra de 30 min. Na Figura 13 é demonstrado o perfil de inibição.

Figura 13: Inibição da luminescência provocada pelo sulfato de zinco heptahidratado e pelo dicromato de potássio utilizando bactéria submetida a congelamento e recém cultivada.





* (a.1): Inibição da luminescência provocada pelo sulfato de zinco heptahidratado utilizando bactéria recém cultivada; (a.2): Inibição da luminescência provocada pelo sulfato de zinco heptahidratado utilizando bactéria submetida a congelamento; (b1): Inibição da luminescência provocada pelo dicromato de potássio utilizando bactéria recém cultivada; (b2): Inibição da luminescência provocada pelo dicromato de potássio utilizando bactéria submetida a congelamento.

A partir da análise dos quatro perfis de inibição das duas substâncias referências testadas (Figura 13), pode-se perceber que o menor ajuste foi obtido para o controle dicromato de potássio, com valores similares entre bactérias congelada e recém cultivada. Assim o melhor ajuste foi observado para o controle sulfato de zinco, de forma similar para a bactéria congelada e recém cultivada.

Após calcular os valores das médias experimentais obtidas para CE₅₀ verificou-se que o dicromato de potássio apresentou concentração cinco vezes maior que a estipulada pela norma para a bactéria submetida a congelamento (Tabela 14). Já para a bactéria recém cultivada a sensibilidade ao composto foi maior. A única substância que apresentou valores próximos aos valores de referência (teórico) foi o sulfato de zinco heptahidratado para as duas condições de ensaio da bactéria. Diante disto, optou-se pela utilização do sulfato de zinco como substância de referência (controle positivo) para a avaliação da toxicidade proveniente dos efluentes do sistema de tratamento combinado para efluentes têxteis proposto nesta pesquisa. Além disso optou-se por utilizar a bactéria fresca (recém cultivada), para que fosse possível a produção de mais lotes bacterianos a partir de um único cultivo.

Tabela 14: Comparação dos valores de CE₅₀ teóricos e experimentais

CE ₅₀ Substância de referência	CE ₅₀ teórica (Norma ABNT) * (mg/L)	CE ₅₀ experimental (mg/L)	
		Bactéria estocada em freezer	Bactéria recém cultivada
sulfato de zinco heptahidratado	26	36	36
dicromato de potássio	2,726	15	7,5

5.2 Caracterização química das leveduras residuais pré-tratadas

O extrato de levedura obtido a partir da lise osmótica da levedura residual de processo cervejeiro foi submetido à caracterização elementar. A Tabela 15 apresenta os resultados da espectroscopia por fluorescência de raios-X com reflexão total dos dois lotes de leveduras produzidos. Para fins de comparação também utilizou-se os resultados obtidos por VICTRAL (2015) para um lote comercial e um residual.

Tabela 15: Caracterização elementar das leveduras residuais submetidas a lise osmótica

Amostras	Fonte	Elementos (µg.L ⁻¹)								
		Cl	Al	Ca	K	Mn	Zn	Fe	Br	Sc
Residual 1	Este trabalho	48	127	9,06	1,66	2,52	0,175	L/D	L/D	L/D
Residual 2	Este trabalho	84	845,8	16,69	5,28	L/D	0,420	0,74	L/D	L/D
Residual 3	Victral (2015)	72,4	L/D	2,718	17,830	L/D	0,267	0,14	0,04	1,14
Comercial	Himedia	53,5	L/D	1,912	11,370	L/D	0,124	0,12	0,05	1,32

*LD: concentração menor que o limite de detecção do método

As soluções preparadas para a análise em TXRF possuíam concentração de 350 mg.L⁻¹ de levedura residual, mesma concentração utilizada pelo pesquisador VICTRAL (2015). Elementos dantes não reportados pelo autor, como Alumínio e Manganês, foram encontrados nos lotes produzidos. O Alumínio detectado provavelmente advém da lixiviação do Alumínio presente nas dornas de fermentação, já o Manganês é considerado um constituinte natural da biomassa integral de leveduras de cervejaria (CABALLERO-CÓRDOBA *et al.*, 1997). Em outra caracterização realizada por CABALLERO-CÓRDOBA e colaboradores, (1997) foram encontrados elementos não descritos em nenhuma das caracterizações apresentadas na Tabela 15, como Lítio (5,89 mg/100g), Vanádio (0,63 mg/100g), Chumbo (9,69 mg/100g) e Cádmiio (0,29 mg/100g). Isso sugere que ocorre uma variação na composição das leveduras residuais,

que provavelmente está associado ao tipo de cerveja (pilsen, pale ale, etc.), e ao tempo de detenção nas dornas de produção.

Do ponto de vista elementar o extrato comercial (Himedia) poderia ser substituído pelas leveduras residuais. Porém o extrato residual não seria um bom substituinte para o meio nutricional utilizado (Tabela 10), pois verifica-se que os elementos presentes no extrato residual (Ca, Fe, Cl, Zn e K) não estão em concentração suficiente para suprir as demandas pré-determinadas, que incluem ainda micronutrientes como o Níquel e Cobre que não fazem parte da composição do extrato residual. Contudo, experimentos em batelada propostos nesta pesquisa poderão avaliar a viabilidade do uso de água de torneira, sem a adição da solução nutriente, como fonte desses elementos, eliminando a necessidade da adição do mesmo em estações de tratamento com grandes vazões (VICTRAL, 2015).

5.2.1 Ensaios de remoção de cor em batelada para avaliação do efeito nutricional das leveduras residuais pré-tratadas.

Com o intuito de avaliar a possibilidade em utilizar leveduras residuais pré-tratadas como fonte nutricional para os microrganismos responsáveis pela remoção de cor de um efluente têxtil sintético, realizou-se um ensaio em batelada em quatro diferentes condições. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16: Eficiências de remoção de cor obtidas no ensaio em batelada na presença de diferentes fontes de nutrientes

Condição experimental	% de remoção de cor (\pm desvio padrão)	
	12h	48h
C1	50 % ($\pm 0,01$)	71% ($\pm 0,05$)
C2	46 % ($\pm 0,05$)	71% ($\pm 0,2$)
C3	47 % ($\pm 0,1$)	76 % ($\pm 0,06$)
C4	48% ($\pm 0,02$)	71% ($\pm 0,01$)

*(%) média de remoção das triplicatas; (C1) com levedura residual pré tratada e solução nutriente; (C2) levedura residual pré-tratada, água de torneira e sem solução nutriente; (C3) com solução nutriente e extrato de levedura comercial; (C4) sem solução nutriente e com extrato de levedura comercial.

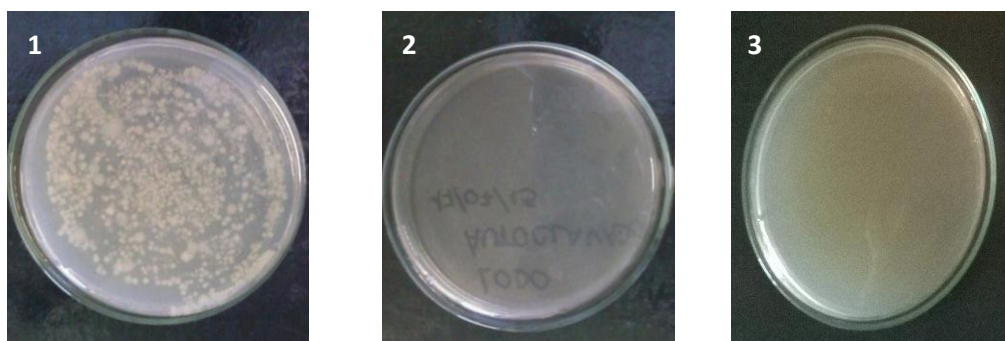
As eficiências de remoção de cor encontradas na batelada, demonstram a capacidade das leveduras residuais pré-tratadas em atuar como fonte nutricional para os microrganismos agirem na degradação redutiva do azo corante modelo. Esse

desempenho se deve também a presença da riboflavina, e sua habilidade de acelerar a cinética das reações de descoloração reductiva (VICTRAL,2015). A eficiência de descoloração alcançada na condição contendo levedura residual na presença (C1) e ausência (C2) de solução nutriente foram praticamente as mesmas, indicando a aplicabilidade da levedura residual em substituição ao meio de cultura convencional. Além disso, os resultados também foram semelhantes aos ensaios em que utilizou-se extrato de levedura comercial. Desta forma conclui-se que, do ponto de vista de remoção de cor, o uso da solução nutriente é desnecessária quando ao ensaio é adicionado extrato de levedura comercial ou pré-tratado na concentração de 350mg.L^{-1} e água de torneira. Além disso, as leveduras residuais pré-tratadas apresentam a vantagem de reduzir o custo embutido na aquisição de reagentes químicos, uma vez que podem ser adquiridas em descartes de cervejarias por um baixo custo.

5.2.2 Determinação da descoloração por adsorção da biomassa

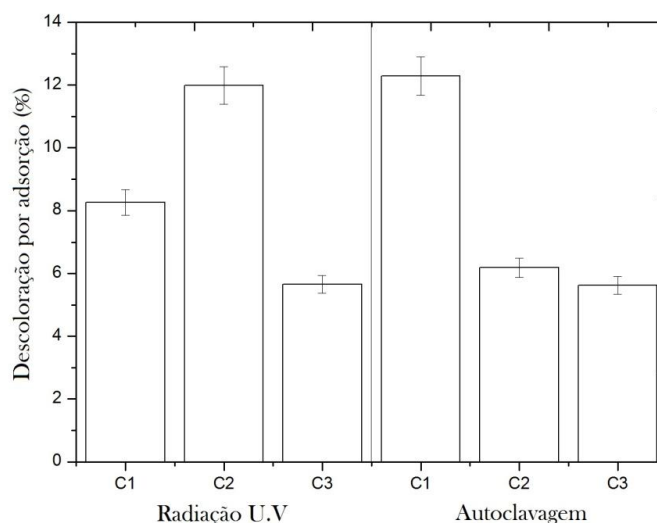
Com o intuito de determinar a porcentagem de descoloração por adsorção nas células microbianas, realizou-se um ensaio em batelada com a biomassa inativada. Foram investigados dois mecanismos de inativação: o de autoclavagem que rompe por completo todas as células e o por radiação U.V, que inativa a célula, porém a mantém íntegra. Nos plaqueamentos de controle realizados antes e após as inativações, é possível observar o crescimento dos microrganismos na biomassa não inativada (Figura 14-1), e a inativação completa por autoclavagem (Figura 14-2) e por irradiação U.V (Figura 14.3)

Figura 14: Controle das biomassas com e sem pré-tratamento



* 1: Biomassa sem pré-tratamento; 2: biomassa submetida à autoclavagem; 3: biomassa submetida à radiação U.V.

Para o ensaio que avaliou a descoloração por adsorção, foram testadas três condições experimentais, as médias de remoção se encontram na Figura 15.

Figura 15: Descoloração por adsorção da biomassa em ensaios de batelada

*(C1) biomassa incubada com extrato residual e água de torneira, (C2) biomassa incubada com extrato comercial, (C3) biomassa incubada sem extrato e com solução nutriente.

A partir dos resultados obtidos neste ensaio, pode-se perceber que as maiores remoções por adsorção foram alcançadas nas condições (C1) na qual a biomassa foi submetida à autoclavagem (12,3%) e (C2) para a biomassa submetida à radiação UV (11,9%). A remoção por adsorção na presença de biomassa e extrato variou de 6 a 12%, ao passo que na ausência de extrato (condição C3), obteve-se as menores remoções por adsorção. Isto sugere que o extrato adicionado (residual ou comercial) promove certa remoção de cor, por mecanismo de adsorção à fração do extrato não dissolvida, ou por reação do corante com os constituintes dissolvidos do extrato.

Diante disto, pode-se considerar a porcentagem de descoloração por adsorção de 12% (biomassa submetida à autoclavagem), uma vez que corresponde a adsorção obtida na condição experimental que se aplicará aos reatores operados em contínuo para ao tratamento do azo corante Amarelo Ouro Remazol.

5.3 Monitoramento e avaliação do sistema combinado de tratamento UASB/lodo ativado no tratamento de efluente têxtil sintético

Com o intuito de avaliar a viabilidade do uso das leveduras residuais pré-tratadas no tratamento do efluente têxtil sintético composto por Amarelo Ouro Remazol, alimentou-se continuamente um sistema de reatores combinados compostos por um reator anaeróbio (UASB) em série com um reator aeróbio (Lodos ativados) e decantador

secundário. Com a finalidade de avaliar o desempenho do sistema, foram feitas análises de remoção de DQO, cor, nitrogênio amoniacal e por fim de toxicidade.

5.3.1 Avaliação da remoção de cor e DQO

A avaliação da remoção de cor foi avaliada periodicamente por meio de leituras de absorbância no $\lambda_{\text{máx}}$ de 410nm. Os resultados estão apresentados nas (Figuras 16 e 17).

Figura 16: Variação temporal da concentração do corante Amarelo Ouro Remazol no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e lodos ativados (LOA) alimentados com solução corante

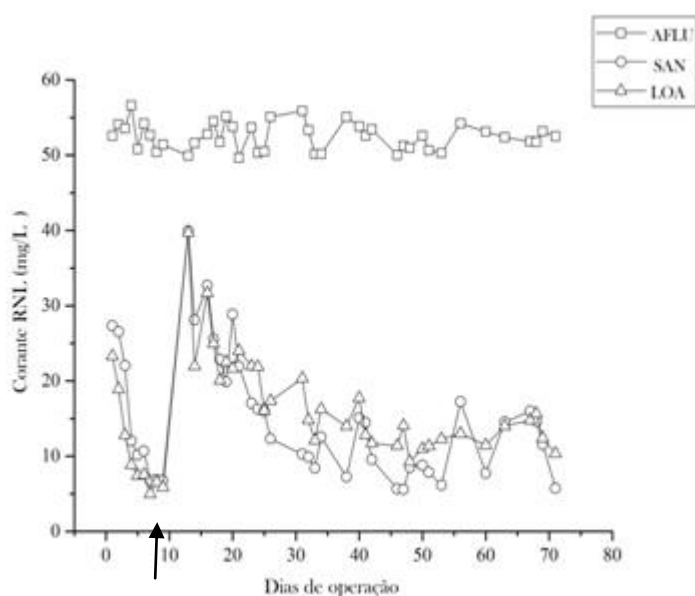
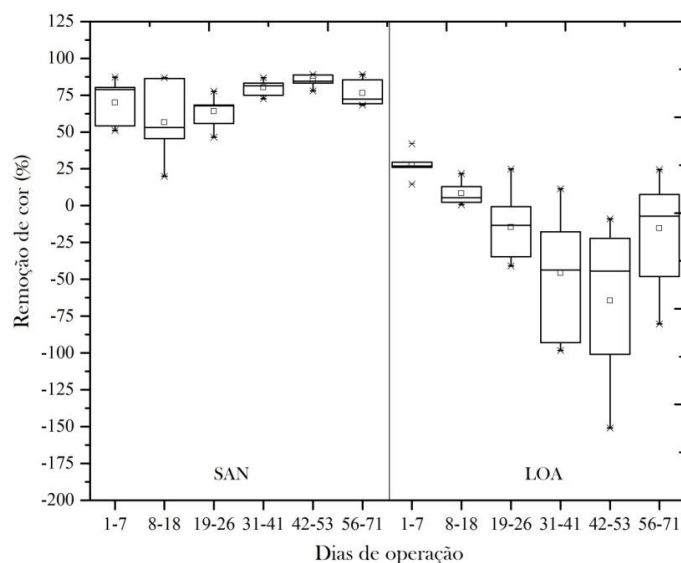


Figura 17: Variação semanal da eficiência de remoção de cor nos reatores anaeróbio (SAN) e de lodos ativados (LOA) alimentados com solução corante



A partir dos dados apresentados nas Figuras 16 e 17, percebe-se que a remoção de cor oriunda do reator anaeróbio alcançou um percentual de até 75% próximo ao dia 7, posteriormente essa eficiência caiu abruptamente no dia 10 de operação (indicado pela seta). Isto ocorreu devido a um vazamento de lodo do reator anaeróbio em decorrência do rompimento de uma mangueira. Diante disso foi feita uma nova avaliação do SSV do reator, e posteriormente foi realizada uma reinoculação do lodo perdido. Contudo o sistema se recuperou e estabilizou a remoção em um percentual de ~85%. Como visto no ensaio em batelada (item 5.2.2), cerca de 12% do percentual de descoloração corresponde a adsorção à biomassa e as leveduras residuais, portanto 71% da descoloração pode ser atribuída a degradação do azo corante estudado. Porém vale ressaltar que as condições para a adsorção são mais favoráveis em batelada comparada a condição em reatores em contínuo, desta forma a biodegradação está sendo subestimada. A elevada remoção de cor também pode ser atribuída à presença de mediadores redox, tal como a riboflavina presente nas leveduras residuais pré-tratadas, responsável por acelerar a cinética de degradação do corante conforme observado em estudos anteriores (FIELD & BRADY, 2003; VICTRAL, 2015). Em pesquisa similar realizado por DOS SANTOS e colaboradores (2007) estudou-se o comportamento de um reator anaeróbio acrescido do mediador redox (AQDS) em condições mesofílicas

para o tratamento de corantes azo. A descoloração obtida com o uso do mediador chegou a 88%, já sem o (AQDS) a descoloração não ultrapassou 56% .

O reator de Lodos ativados (LOA) apresentou baixa eficiência na remoção de cor, que não ultrapassou 25%, DOS SANTOS, (2005) afirma que a descoloração por este sistema dificilmente ultrapassa 30%. Próximo ao dia 16 esta eficiência decaiu, provavelmente devido ao processo de dessorção de corante promovido pelos microrganismos do floco biológico característico deste sistema. Como visto no (item 5.2.2) os microrganismos são capazes de adsorver corante no meio líquido, segundo ARAÚJO *et al* (2010) estes microrganismos podem ser considerados partículas coloidais vivas, portanto, alterações na composição de sua superfície celular durante a fase de crescimento, ou em função de mudanças na composição do meio são capazes de alterar sua capacidade adsorptiva. A baixa eficiência na remoção de cor pelo sistema aeróbio também foi relatado por PANSUWAN & PANSWAD (1997) e O'NEILL *et al.*, (2000).

Outro fator que pode ter influenciado negativamente o desempenho do reator aeróbio na remoção de cor, é a composição do efluente liberado pelo UASB. Sabe-se que após a quebra da ligação azo, geram-se aminas aromáticas, subproduto tóxico resultante do processo de descoloração característico desta classe de corantes. Essas aminas podem ter impactado negativamente os microrganismos aeróbios, uma vez que é possível verificar que a redução da eficiência do sistema aeróbio é proporcional ao aumento de eficiência de descoloração do sistema anaeróbio, como visto na Figura 17.

No Brasil não há padrão de lançamento de cor para efluentes industriais. Contudo, na Resolução CONAMA 357/05 nos artigos 15 e 16, define-se que não será permitida a presença de corantes provenientes de fontes antrópicas que não sejam removíveis por processos de coagulação, sedimentação e filtração convencionais. Entretanto corantes reativos, como o azo corante estudado nesta pesquisa não pode ser removido pelos processos descritos na legislação, uma vez que são altamente solúveis em água. Caso esta resolução fosse rigorosamente aplicada, esta classe de corante não poderia ser utilizada pela indústria. (DAMASCENO, 2008)

As análises de DQO nas amostras do afluente e dos efluentes dos sistemas anaeróbio e aeróbio, assim como as eficiências de remoção de cada etapa são apresentadas nas Figuras 18 e 19.

Figura 18:Variação temporal da concentração de DQO no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e de lodos ativados (LOA) alimentados com solução corante

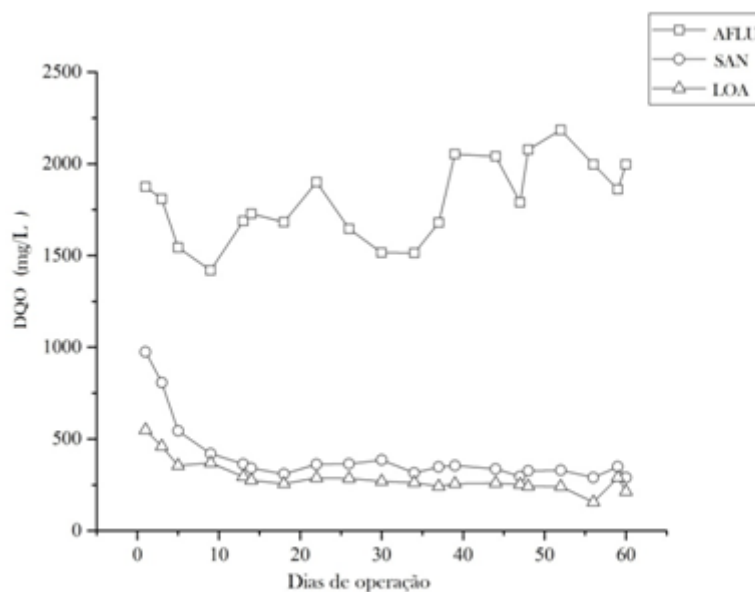
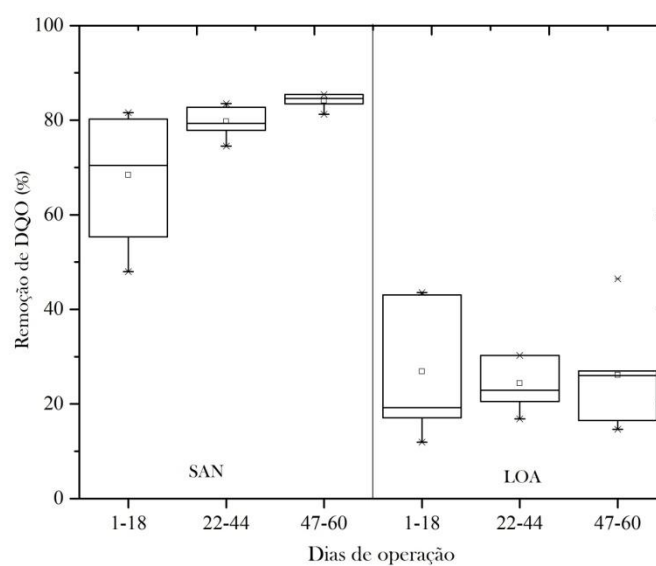


Figura 19:Variação temporal da eficiência de remoção de DQO nos reatores anaeróbio (SAN) e de lodos ativados (LOA) alimentados com solução corante



O sistema anaeróbio demonstrou uma elevada eficiência em remoção de DQO, estabilizando-se próximo ao vigésimo terceiro dia de operação, com ~84% de remoção.

A taxa de remoção biológica de DQO solúvel refere-se à porcentagem convertida em gás (metano e dióxido de carbono) e em crescimento celular. Já a DQO residual é constituída pela DQO relativa aos AGV (DQO_{AGV}), azo corante residual ($DQO_{AzoCor.}$), produtos microbianos solúveis (DQO_{SMP}), aminas aromáticas (DQO_{Amar}) formadas a partir da degradação do azo corante e, por fim, pela fração de leveduras residuais pré-tratadas que não foram degradadas no processo de digestão (DQO_{LRPT}).

De acordo com BAÊTA, *et al.*, (2015) 1g de Amarelo Ouro Remazol demanda 1,64 g de DQO para sua oxidação a partir de cálculos estequiométricos, de forma que se todo o corante (50 mg.L^{-1}) presente nos reatores fosse degradado, seria observado um consumo de 0,80 gramas de DQO. Ainda de acordo com o mesmo autor são necessários 2,26 gramas de DQO para degradar 1 grama de ácido sulfanílico, a partir de cálculos estequiométricos. O Balanço da $DQO_{residual}$ se encontra na Tabela 17.

Tabela 17: Balanço de DQO residual do reator UASB alimentado com solução corante

Dias de operação	$DQO_{Residual}$		DQO_{AGV}	DQO_{Azocor}			$DQO_{SMP+LRPT}$
				DQO_{Azocor}	DQO_{Amina}	$DQO_{SMP+LRPT}$	
		AF	0,004				
		AC	0,1				
(1-18)	537	AP	0,17	32,2	67,8	436,2	
		AIB	0,04				
		AV	0,50				
(22-44)	352	A/D		20	91,7	240,3	
(47-60)	313	AV	0,5	14,43	98	200	

* AF:ácido fórmico; AC:ácido acético; AP:ácido propiônico; AIB:ácido isobutírico; AV:ácido valérico; A/D: abaixo do limite de detecção

É possível observar que a DQO amina foi aumentando no decorrer dos dias de operação em função do aumento da eficiências de cor. Os produtos intermediários da degradação anaeróbia do azo corante amostrado no efluente, compõe baixa porcentagem da DQO residual dos primeiros dias de operação. Posteriormente a DQO_{AGV} é praticamente nula, que indica que o reator demonstrou um comportamento mais estável em resposta ao efluente tratado. Segundo AQUINO & CHERNICHARO (2005), o acúmulo de AGV é um indicador de que uma ou mais etapas do consórcio microbiano está sendo prejudicada, o que não parece ocorrer no atual sistema. Principalmente pelo fato do acetato se apresentar em baixíssima concentração, indicando que este, foi

provavelmente convertido a metano pelos microrganismos metanogênicos acetoclásticos. Sabe-se que o sucesso da remoção de DQO da fase líquida depende deste processo (CHERNICHARO, 2007). Por tanto supõe-se que ocorra uma predominância deste grupo de microrganismos no reator, mas análises microbiológicas futuras poderão confirmar esta hipótese.

O sistema de lodos ativados operado nesta pesquisa obteve uma remoção de DQO muito inferior comparado ao do UASB, este, não conseguiu ultrapassar 50% de eficiência. Na literatura, o sistema de lodos ativados é reportado como um sistema de excelência em remoção de matéria orgânica, podendo alcançar altos percentuais de remoção, motivo pelo qual, é frequentemente usado em plantas de estação de tratamento de esgoto (VON SPERLING *et al.*, 2000). A DQO de chegada a este sistema é composta pela DQO_{residual} do UASB, que é basicamente formada por aminas aromáticas, corante, produtos microbianos solúveis e leveduras residuais. O balanço da DQO residual é apresentada na (Tabela 18).

Tabela 18: Balanço de DQO residual do reator de Lodos ativados alimentado com o efluente advindo do reator UASB

Dias de operação	DQO_{Residual}	DQO_{Azocor}	$DQO_{\text{Amina}} + \text{SMP} + \text{LRPT}$
	mg.L^{-1}		
(1-18)	171	26,0	145,05
(22-44)	86,4	28,4	58
(47-60)	80,8	20,0	60,7

A partir dos resultados obtidos no balanço, pode-se perceber que a média da DQO residual proveniente da etapa aeróbia oscilou entre 171 e 80 mg.L^{-1} . Pode-se perceber que a DQO_{azocor} foi maior no sistema aeróbio do que no anaeróbio em decorrência da dessorção do corante.

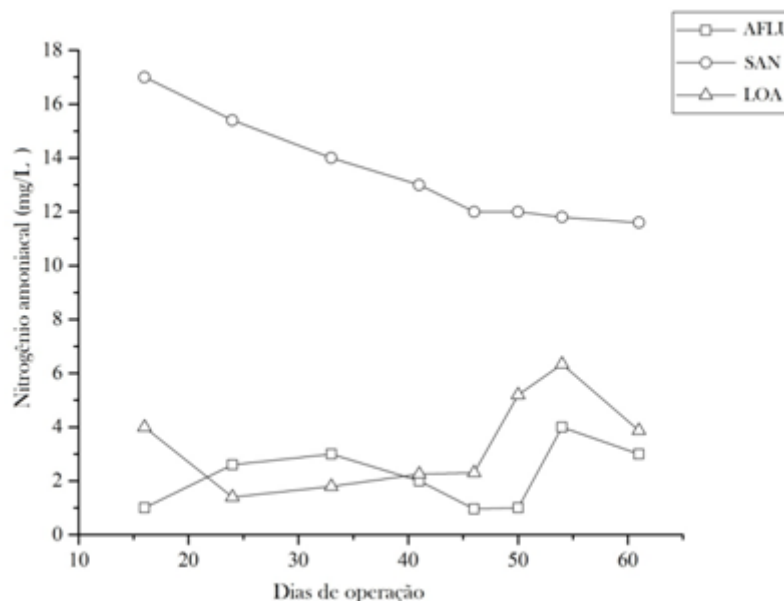
Vale ressaltar que durante o monitoramento nenhum dos reatores tiveram sua temperatura controlada, foram operados expostos a variação diária da temperatura ambiente. A temperatura média do reator UASB nos primeiros dez dias foi de 24°C, já do dia 22 ao 44 a foi de 20°C, e por fim, do dia 47 à 60 a temperatura média foi de 23°C. Sabe-se que a temperatura possui papel importante na atividade microbiana, exercendo influência no desempenho da degradação dos compostos do efluente. Este

fato foi observado no trabalho realizado por KUPPUSAMY & BRIONES (1997) onde operou-se em escala laboratorial e piloto dois reatores anaeróbios do tipo EGSB (Reator de Leito de Lodo Granular Expandido) com o propósito de depurar efluentes têxteis. Para o reator operado no laboratório houve controle de temperatura (35 ± 2 °C). Os resultados obtidos para remoção de DQO e cor foram de, respectivamente, 61 e 44% para o reator de escala laboratorial, e de 41 e 44% para o reator em escala piloto. Tais resultados mostram que o reator operado com temperatura controlada (35 °C) resultou em maior eficiência de remoção de DQO.

5.3.2 Avaliação da remoção do nitrogênio amoniacal

Com o intuito de investigar o desempenho dos reatores na decomposição do material nitrogenado, principalmente das proteínas presentes nas leveduras residuais pré-tratadas, e de averiguar se o mesmo está em conformidade com limite de lançamento permitido pela legislação ambiental, monitorou-se o nitrogênio amoniacal em ambas as etapas do tratamento. Sabe-se que durante o processo de degradação das proteínas ocorre reações de hidrólise e desaminação, onde o aminoácido perde o grupo amino (NH_2) na forma de amônia (NH_3). Na Figura 20 está representado a concentração de nitrogênio amoniacal encontrado no afluente e nos efluentes analisado

Figura 20: Variação temporal da concentração de nitrogênio amoniacal no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e de lodos ativados (LOA) alimentados com solução corante



Como é possível observar é detectado nitrogênio amoniacal no afluente, o que indica atividade microbiana dentro da solução que alimentava os reatores. O sistema anaeróbio (SAN) teve uma queda gradual de eficiência no período de operação, ou seja, sua capacidade de desaminação foi reduzida. O mesmo comportamento foi observado para o sistema aeróbio (LOA), no que diz respeito a sua habilidade de oxidar a amônia gerada na etapa anterior transformando-a em nitrito (NO_2) e posteriormente em nitrato (NO_3), através do mecanismo de respiração aeróbia. O efluente produzido durante toda fase de monitoramento, apresentou uma concentração de amônia inferior a exigida pela legislação, se enquadrando no padrões de lançamento de efluentes estipulado pela Resolução CONAMA 430/11 que estabelece o padrão de 20 mg.L^{-1} de nitrogênio amoniacal.

5.3.3 Avaliação da toxicidade dos efluentes

Com o propósito de avaliar o potencial tóxico do efluente em todas as etapas de tratamento, realizou-se o ensaio de toxicidade em microescala utilizando a bactéria *Vibrio fischeri* como organismo-teste. Utilizou-se o tempo de exposição de 30min da amostra à bactéria objetivando ter o potencial tóxico agudo máximo. Foram coletadas amostras para as análises no terceiro e vigésimo quarto dia de operação. Os resultados deste ensaio estão dispostos na Tabela 19.

Tabela 19: Análise de toxicidade de amostras dos efluentes anaeróbio (SAN) e lodos ativados (LOA) alimentados com solução corante no terceiro e vigésimo quarto dia de operação

N° de ensaio	(%) de remoção de cor	Amostra	Efeito toxicológico agudo (30min de exposição)	
1	SAN: 59% LOA: 40%	Afluente	N/D	
		Efluente do reator anaeróbio	CENO	FD 4
			CE ₅₀	FD2
			CE ₂₀	FD3
Efluente do reator aeróbio	N/D			
2	SAN: 68% LOA: 35% de desorção	Afluente	N/D	
		Efluente do reator anaeróbio	CENO	FD8
			CE ₅₀	FD2 e 3
			CE ₂₀	FD4
		Efluente do reator aeróbio	CENO	FD6
			CE ₅₀	FD2;
CE ₂₀	FD3 e 4			

*CENO: Concentração de efeito não observado, CE: Concentração Efetiva; FD: Fator Diluição; N/D: não detectado.

O primeiro ensaio de toxicidade demonstrou que o corante Amarelo Ouro Remazol na concentração de $\sim 50 \text{ mg.L}^{-1}$ não foi capaz de provocar efeito tóxico à bactéria, ao contrário do corante azo testado por VERMA, (2008), que foi considerado mais tóxico ao organismo-teste que o efluente têxtil real propriamente dito. O efluente anaeróbio no fator de diluição FD2, foi capaz de inibir a luminescência de 50% das bactérias em 30 minutos de exposição, enquanto que o FD3 inibiu apenas 20%. Essa inibição provavelmente está ligada à formação das aminas aromáticas consideradas tóxicas provenientes da quebra da ligação azo. Os fatores de diluições FD4, FD6, FD8 e FD12 não resultaram em inibição, sendo o CENO reportado no FD4. O efluente advindo da fase aeróbia não apresentou toxicidade, portanto acredita-se que as aminas foram eliminadas nesta fase e que a possível DQO residual seja apenas corante remanescente do processo, leveduras residuais e produtos microbianos solúveis, como visto no (item 5.3.1). No segundo ensaio de toxicidade realizado no vigésimo quarto dia, o afluente também não apresentou toxicidade, no entanto, o efluente da fase anaeróbia foi um pouco mais tóxico que o da primeira análise, provavelmente devido a maior concentração de aminas, em decorrência da maior remoção de cor. A CE₂₀ foi observada no FD4, que no primeiro ensaio foi FD3, esse aumento de toxicidade provavelmente se deve ao aumento de 9% de remoção de cor, e consequentemente

aumento de aminas no meio. O sistema de Lodos ativados apresentou uma queda considerável no desempenho uma vez que o FD2, que no primeiro ensaio não foi considerado tóxico, neste ensaio inibiu 50% da luminescência bacteriana, enquanto que os fatores de diluição 2 e 3, inibiram 20%.

5.3.4 Avaliação da cinética de remoção de cor e DQO pelo reator UASB

A determinação dos coeficientes cinéticos do sistema biológico, é de fundamental importância para a avaliação do projeto e do desempenho desse sistema, bem como a determinação da velocidade de degradação dos compostos pelos microrganismos. Este desempenho depende de vários fatores, diretamente relacionados às operações e processos, que nelas devem ocorrer. A eficiência está inteiramente relacionada as propriedades químicas dos reagentes, as características físico-químicas do fluído a ser tratado, ao tempo de reação e das características dos produtos formados. A eficácia dos processos biológicos (da cinética bioquímica) depende similarmente, da natureza e composição dos substratos presentes no afluente, das características e concentração da biomassa presente nos reatores, das condições ambientais como pH, temperatura, presença de nutrientes, tipo de acceptor final de elétron, presença de substâncias inibidoras, tempo de contato entre substrato e biomassa e dos fenômenos que governam o transporte de substrato às células (MENDONÇA, 2002)

Há diversos métodos para se determinar a velocidade de reação pelos dados experimentais, um deles é o método diferencial, que se baseia na diferenciação dos dados experimentais da concentração em função do tempo (SILVEIRA, 1996), este método foi usado neste estudo para avaliar a remoção de cor e DQO na primeira e na segunda fase. Posteriormente, foram aplicados modelos cinéticos. Aplicou-se três modelos para avaliar a remoção de cor, e outros dois modelos para avaliar a remoção de DQO. Para a cinética de remoção de cor foram excluídos os dados de antes do vazamento, só foram considerados os dados a partir do décimo dia de operação. As Figuras 21 e 22 indicam a cinética de remoção de cor e DQO respectivamente.

Figura 21: Cinética de remoção de cor pelo reator UASB alimentado com solução corante

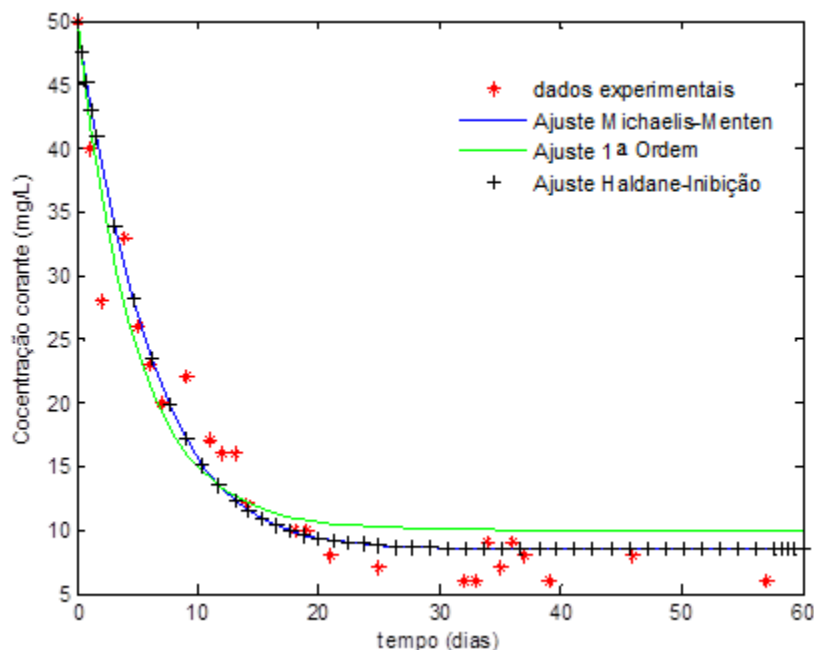


Tabela 20: Constantes da cinética de remoção de cor pelo reator UASB alimentado com solução corante

Modelo cinético	K (d ⁻¹)	μ_m (mg.L ⁻¹ d ⁻¹)	K _m (mg.L ⁻¹)	K _i (mg.L ⁻¹)	R ²
Primeira Ordem	0,1672	-	-	-	0,77
Michaelis-Menten	-	12,5577	52,9352	-	0,85
Briggs-Haldane	-	13	53	96294	0,81

*K_m: constante de Michaelis-Menten; * μ_m : taxa de descoloração; *K_i: constante de inibição do substrato; K: constante de reação de primeira ordem.

Os dados experimentais tiveram maior ajuste ao modelo de remoção proposto por Michaelis-Menten, apresentando um coeficiente de determinação de ($R^2 = 0,85$). Mas ainda sim, representa uma baixa relação para um ajuste cinético de sistemas biológicos. O valor obtido pode ser explicado pelo fato do modelo aplicado não levar em consideração a taxa de adsorção do corante pelos microrganismos, a atuação do mediador redox utilizado, a temperatura, o pH e os doadores de elétrons, que também são responsáveis pela determinação da cinética da reação (DOS SANTOS, 2001), desta forma, subestimando a eficiência de remoção de cor pelo reator.

O valor máximo de remoção de corante pelo modelo, foi de 12,5 mg.L⁻¹ d⁻¹, representado pelo valor de μ_m . Este valor se equipara ao valor descrito para a

decomposição de carboidratos na etapa acidogênica pelo tratamento anaeróbio mesofílico (CHERNICHARO, 2011).

O alto valor encontrado para a constante de inibição (K_i) demonstra que elevadas concentrações do corante Amarelo Ouro Remazol não possuiu efeito inibitório significativo para a descoloração do efluente, ou seja, o substrato em questão nas concentrações usadas, não provocou inibição aos microrganismos.

Para a cinética de remoção de matéria orgânica testou-se dois modelos: o de primeira ordem e o de pseudo primeira ordem. O ajuste e as constantes obtidas na modelagem estão dispostos na Figura 22 e na Tabela 24.

Figura 22: Cinética de remoção de DQO pelo reator UASB alimentado com solução corante

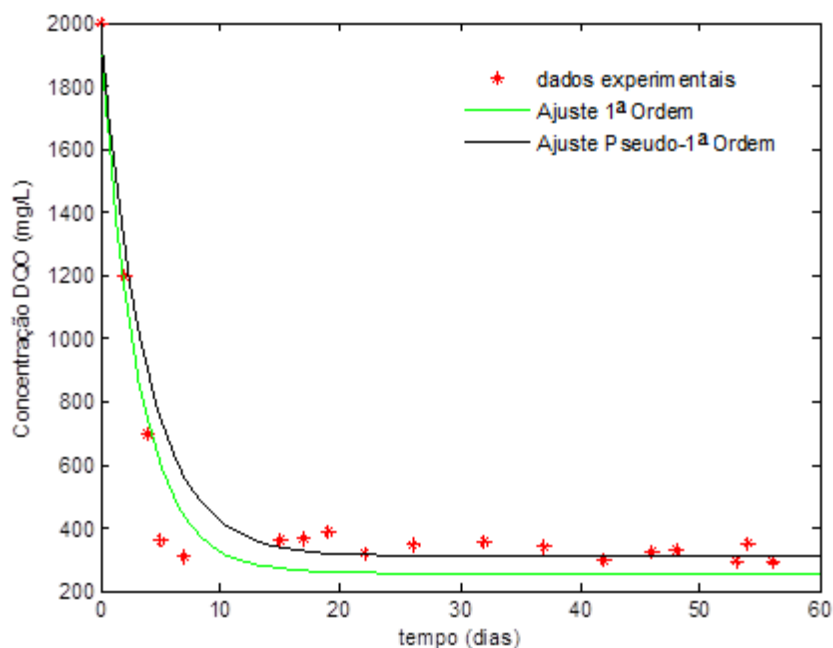


Tabela 21: Constantes da cinética de remoção de DQO pelo reator UASB alimentado com solução corante

Modelo cinético	K (d^{-1})	R^2	X (mg SSV. L^{-1})
Primeira Ordem	0,2823	0,95	-
Pseudo primeira Ordem	$3,3170 \times 10^{-5}$	0,96	10000

Pode-se perceber que os dois modelos avaliados apresentaram ajustes muito próximos aos dados experimentais de remoção de matéria orgânica, apresentando um coeficiente de determinação de 0,95 e 0,96. Mas é possível verificar que o modelo de

pseudo-primeria ordem superestima a remoção de DQO. Isto ocorre, pois o modelo não considera os produtos microbianos solúveis (SMP), que são produzidos durante o tratamento do efluente. Estas substâncias são produtos decorrentes do metabolismo microbiano associado à utilização do substrato e de produtos gerados a partir da biomassa como parte do decaimento celular. A literatura sugere que a produção de SMPs esteja intimamente ligada a fatores ambientais que impactem esta biomassa, como a deficiência nutricional, que estimula a produção de SMPs para aumentar a absorção de metais nutrientes; toxicidade, que está associado a produção de polímeros extracelulares para mitigar a toxicidade provocada por metais traço e decaimento endógeno, que promove a liberação de uma miríade de SMPs no meio extracelular durante a morte dos microrganismos. Enquanto algumas substâncias podem ser degradadas prontamente, outras podem ser mais refratárias e escapar no efluente secundário, sendo responsável pelo aumento da DQO residual do sistema (AQUINO & STUCKEY, 2002; BARKER & STUCKEY, 1999).

Além disso, pode ter ocorrido problemas de escoamento no reator, gerando zonas de volume morto e curtos circuitos hidráulicos prejudicando a eficiência do tratamento, visto que podem causar diminuição do volume útil e do tempo de detenção hidráulica (CARVALHO *et al.*, 2008). Os curtos-circuitos hidráulicos são caminhos preferenciais percorridos por partículas que resultam em um tempo de detenção hidráulico no reator menor que do que o TDH teórico, o que pode acarretar na diminuição da eficiência de remoção (RIBEIRO, 2007). Porém testes de estímulo-resposta utilizando traçadores, permitiriam uma melhor predição quanto ao comportamento hidrodinâmico a detecção de anomalias no reator utilizado no presente estudo.

5.4 Monitoramento e avaliação do sistema combinado de tratamento UASB/Lagoa no tratamento de efluente têxtil sintético

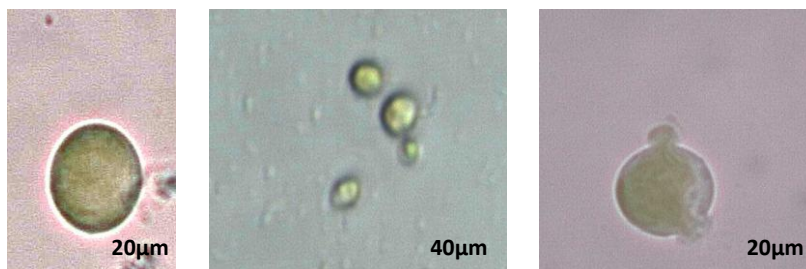
Devido ao desempenho insatisfatório do sistema de Lodos ativados ao longo da primeira fase operacional, buscou-se uma alternativa para a etapa de polimento do efluente vindo do UASB. Os sistemas mais usados experimentalmente são os sistemas aeróbios, que incluem lodos ativados convencionais, lodos ativados com aeração prolongada e lagoas (TUNUSSI & SOBRINHO, 2003; IŞIK & SPONZA, 2008; SHAW *et al.*, 2002; O'NEILL *et al.*, 2000). Com o intuito de buscar uma alternativa pouco estudada no contexto têxtil, escolheu-se testar o sistema de lagoa de polimento rasa.

Contudo o sistema sofreu uma adaptação, uma vez que foi operado com um TDH mais baixo que o usual, que acarretou na diminuição de sua área. Segundo CHERNICHARO (2007) quando se aplica um pré-tratamento anaeróbio eficiente ao efluente, pode-se aplicar um tempo de detenção hidráulico menor a fase subsequente, já que a concentração de matéria orgânica, sólidos suspensos e a cor são reduzidos em grande magnitude na primeira fase. Por este motivo adotou-se a nomenclatura lagoa de polimento para denominar as lagoas de pós-tratamento de efluentes de sistemas anaeróbios, distinguindo-as assim, de lagoas de estabilização, que trata esgoto bruto.

Antes do início de operação da lagoa buscou-se por meio de observação microscópica identificar o grupo predominante de microalgas no inóculo. O gênero de maior representatividade foi *Chlorella* (Figura 23). Este gênero possui coloração verde devido à presença dos pigmentos clorofila a e b em seu cloroplasto. Em relação ao metabolismo, além de serem fototróficas, essas células são capazes de suplementar a quantidade de carbono pela utilização de matéria orgânica dissolvida na forma de açúcares, ácidos aminados e outras moléculas pequenas, caracterizando um metabolismo mixotrófico e heterotrófico (LOURENÇO, 2006). As taxas de crescimento de microalgas autotróficas, heterotróficas e mixotróficas pode variar de 0.2 a 0.7 d⁻¹, 0.4 a 0.9 d⁻¹ e 0.3 a 0.6 d⁻¹ respectivamente (KIM *et al.*, 2013)

No metabolismo mixotrófico ocorre simultaneamente as rotas metabólicas fotoautotróficas (fotossíntese) e a heterotróficas (oxidação de compostos orgânicos externos via respiração). Quando se utiliza meios de cultivo a base de resíduos, em geral, a turbidez tende a aumentar, o que desfavorece o cultivo de microalgas fotoautotróficas estritas. Com a menor disponibilidade de luz, o crescimento de cepas mixotróficas nestes meios tende a ser melhor (MARKOU & GEORGAKAKIS, 2011; PITTMAN *et al.*, 2011). Destaca-se que esta é uma vantagem das cepas mixotróficas em comparação com as fotoautotróficas, incapazes de oxidar compostos orgânicos. Esta alta produtividade ocorre devido a vários fatores: ausência de fotoinibição; diminuição dos danos causados por excesso de oxigênio no meio de cultivo; altas taxas metabólicas, com entrada de energia tanto por meio da oxidação da fonte orgânica de carbono quanto da luz; consumo conjunto de dióxido de carbono e substrato orgânico como fontes de carbono (ANGELO *et al.*, 2014).

Figura 23: Inóculo de Microalgas do gênero *Chlorella* utilizadas no reator lagoa



Fonte: Própria Autora

5.4.1 Avaliação da remoção de cor e de DQO

Na fase de transição foi mantida as mesmas condições do sistema operacional da primeira fase, com a ressalva da alteração da etapa de polimento. A eficiência de remoção de cor foi estável pelo reator anaeróbio, uma vez que seu funcionamento não foi interrompido. Pode-se perceber isto através do gráfico apresentado nas Figuras 24 e 25.

Figura 24: Variação temporal da concentração de corante Amarelo Ouro Remazol no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com solução corante

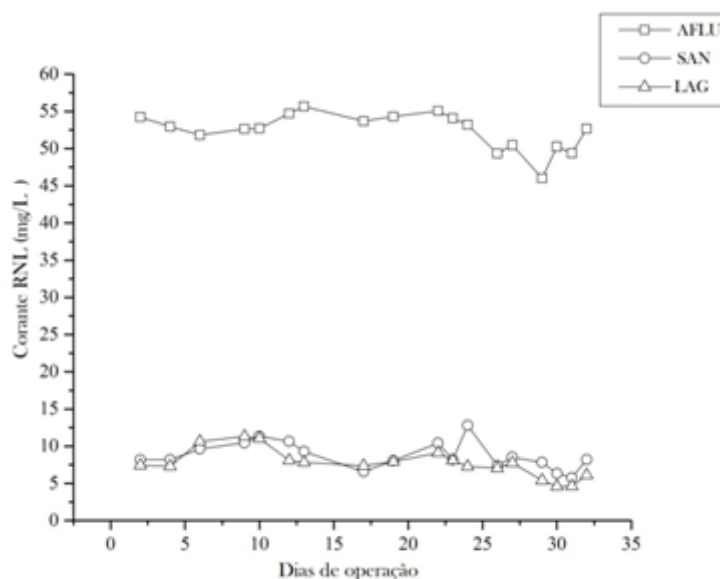
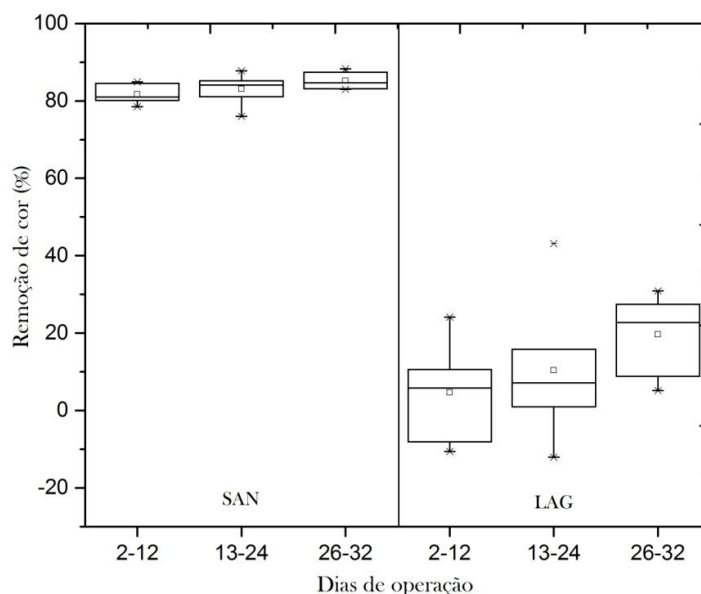


Figura 25: Variação temporal da eficiência de remoção de cor nos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com solução corante

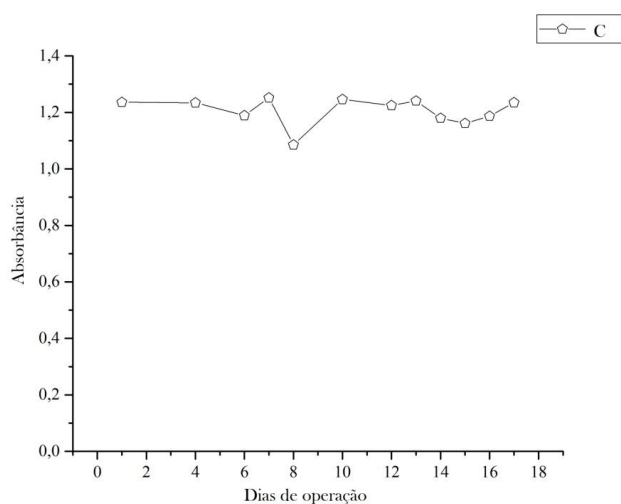


Na Figura 24 pode-se perceber que o sistema de lagoa usado durante a fase de transição foi capaz de remover corante, mesmo que em baixas concentrações. Este sistema apresentou um comportamento quase que inverso ao apresentado pelo lodos ativados. Em lugar de inicialmente remover cor e posteriormente apresentar um aumento da concentração de corante no sistema, a lagoa acumulou o corante residual no início da operação. Somente a partir do décimo terceiro dia exibiu um quadro de remoção de cor, que chegou até 40%. Isto pode ser explicado pelo fato de que a enzima responsável pela quebra da ligação azo (azo-redutase) produzida pelas algas do gênero *Chlorella*, seja uma enzima induzida, ou seja, o próprio corante funcione como um tipo de indutor. Em um experimento realizado por JINQI & HOUTIAN, (1992) as algas não aclimatadas (sem contato prévio com o corante) exibiram uma atividade de azo-redutase mais baixa em comparação com as algas aclimatadas. Acredita-se que no início da operação as algas não foram capazes de produzir enzima, somente após um tempo de contanto com o corante foi capaz de produzi-las, e então de promover a degradação. Após a quebra da ligação azo, as microalgas ainda podem utilizar estes compostos como fonte de carbono e o nitrogênio para o seu metabolismo (SEMPLE *et al.*, 1999; JINQI & HOUTIAN, 1992)

Ademais, a descoloração feita pelas algas pode ser atribuída também ao processo de adsorção, já reportado pela literatura (AKSU & TEZER, 2005).

Com intuito de investigar se a remoção de cor proveniente da Lagoa foi fruto da atividade microbiana ou da fotodegradação provocada pela exposição solar, colocou-se um controle contendo 50mg.L^{-1} de corante Amarelo Ouro Remazol junto à lagoa e monitorou-se por 18 dias. Os resultados obtidos neste período estão dispostos na (Figura 26).

Figura 26: Controle de fotodegradação do corante Amarelo Ouro Remazol



Ao longo dos dezoito dias de monitoramento, a absorbância média da solução exposta à luz solar foi de 1,206, enquanto que a absorbância inicial foi de 1,236, ou seja, não houve remoção de cor significativa durante este período. Estes resultados permitem afirmar que durante o processo de tratamento da segunda fase, toda descoloração foi provocada pela degradação oriunda dos microrganismos presentes no reator, e não pela luz UV.

A remoção de DQO pelo sistema de lagoa foi muito superior a do sistema de Lodos ativados. Ao final da operação o sistema alcançou uma média do percentual de remoção de 86% (Figura 28), praticamente três vezes maior que àquela obtida pelo sistema anterior. O sistema anaeróbio manteve sua eficiência, uma vez que sua operação foi ininterrupta.

Figura 27: Variação temporal da concentração de DQO no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com solução corante

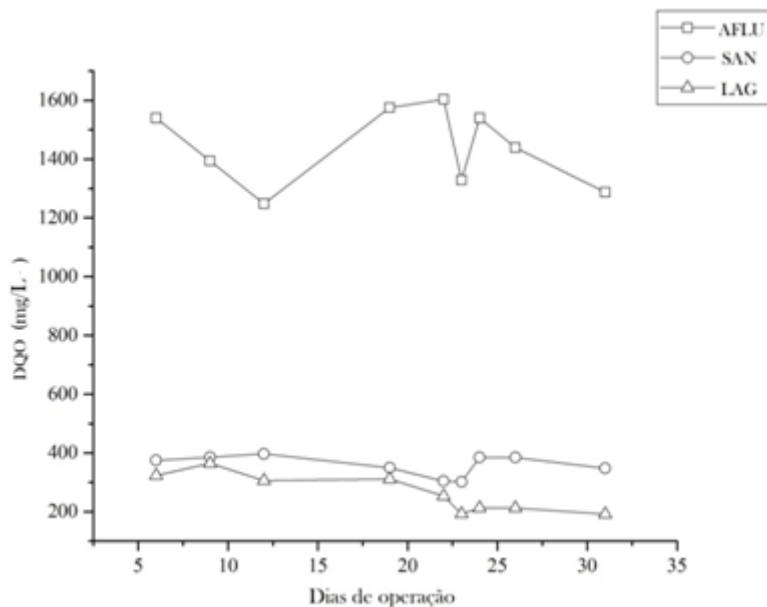
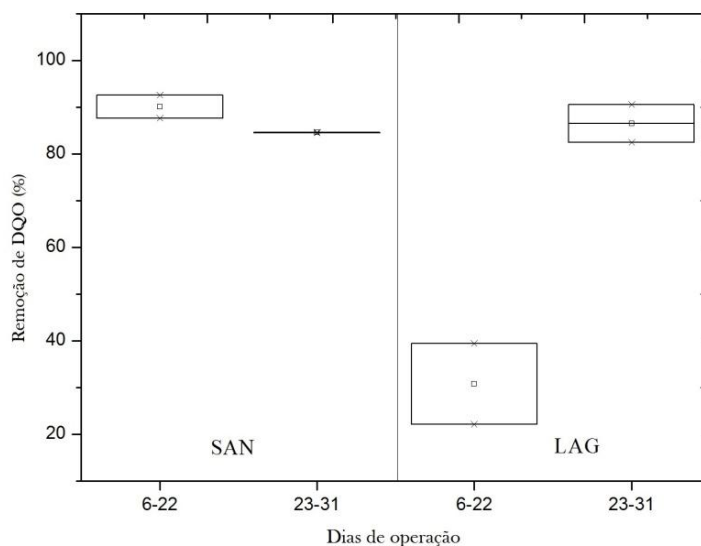


Figura 28: Variação temporal da eficiência de remoção de DQO nos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com solução corante

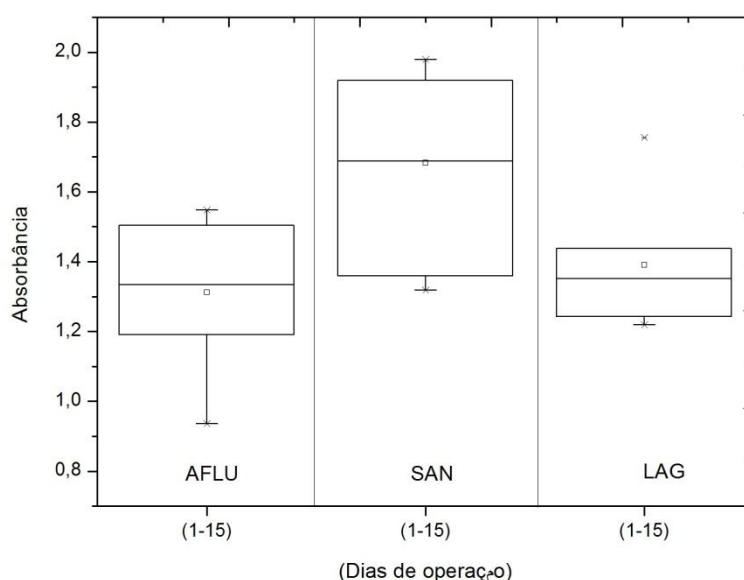


5.5 Monitoramento e avaliação do sistema combinado de tratamento UASB/lagoa no tratamento de efluente têxtil real

A segunda e última fase de operação teve a mesma estrutura operacional da fase de transição, porém em lugar de tratar um efluente têxtil sintético, tratou-se um efluente têxtil real, inicialmente sem diluição, e posteriormente dez vezes diluído. A diluição se

fez necessária porque os reatores não foram capazes de tratá-lo bruto nos primeiros 15 dias de operação (Figura 29). Ocorreu um acúmulo dos compostos presentes no efluente têxtil no UASB, que culminou no aumento significativo da absorbância.

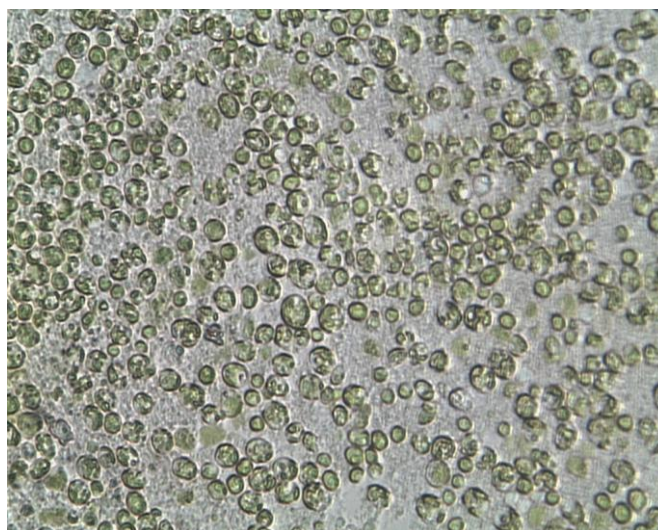
Figura 29: Variação da absorbância a (λ 465nm) do afluente têxtil real diluído 10X (AFLU) e dos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG)



Diante disso, optou-se por uma “lavagem” da biomassa através de uma sobrecarga hidráulica com uma solução composta por água de torneira e leveduras residuais pré-tratadas. A sobrecarga hidráulica foi feita através do aumento súbito de vazão, gerando uma diluição no conteúdo do reator, que foi responsável pela “lavagem” das bactérias no meio. Este procedimento foi aplicado objetivando a retirada do excesso do efluente bruto do reator, priorizando ainda, a permanência dos microrganismos já selecionados pelo efluente. Por esta razão foi feito uma nova avaliação do SSV do reator, e posteriormente uma reinoculação complementar à biomassa. Para a lagoa foi feita uma reinoculação de toda biomassa algal.

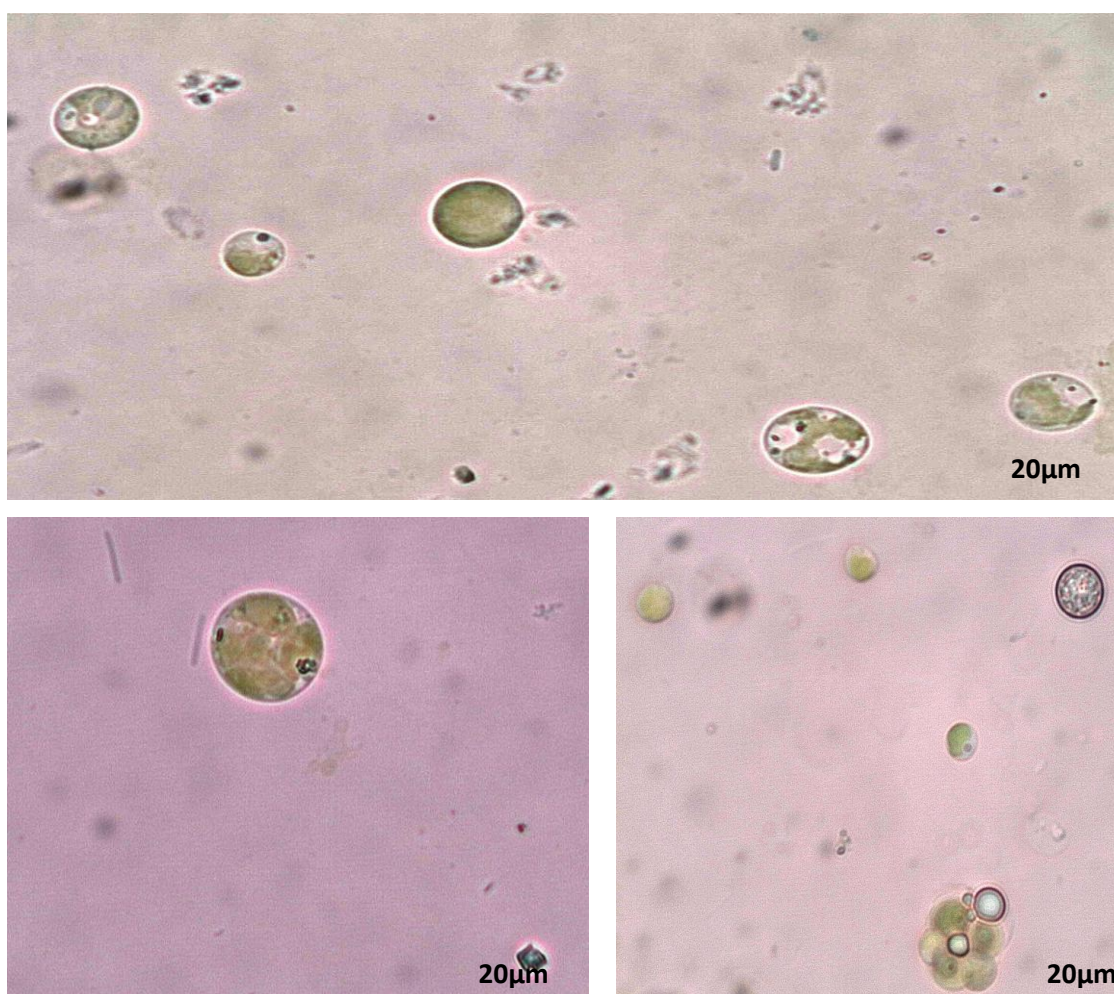
Com o objetivo de registrar as microalgas presentes no reator, foram feitas imagens através de microscopia de alta resolução do inoculo e das algas no reator já em operação. As imagens estão representadas nas Figuras 30 e 31.

Figura 30: Inóculo da biomassa algal antes do início de operação dos reatores



Fonte: Própria Autora

Figura 31: Microalgas presentes nos reatores em operação



Fonte: Própria Autora

5.5.1 Avaliação da remoção de cor e de consumo de DQO

Para análise de remoção de cor utilizou-se o comprimento de onda ($\lambda=465\text{nm}$), estabelecido pelo *Standard Methods: 2120D Spectrophotometric Multi-wave Length* para análise de efluentes industriais. As (Figuras 32 e 33) demonstram a variação da remoção de cor no decorrer do período de operação.

Figura 32: Variação temporal da concentração de cor (PtCo mg.L^{-1}) no afluyente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com efluente têxtil real diluído 10X

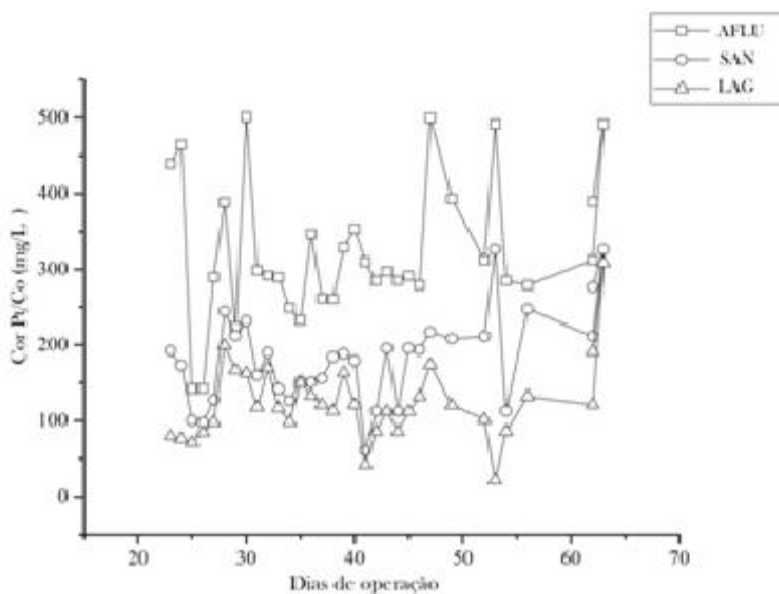
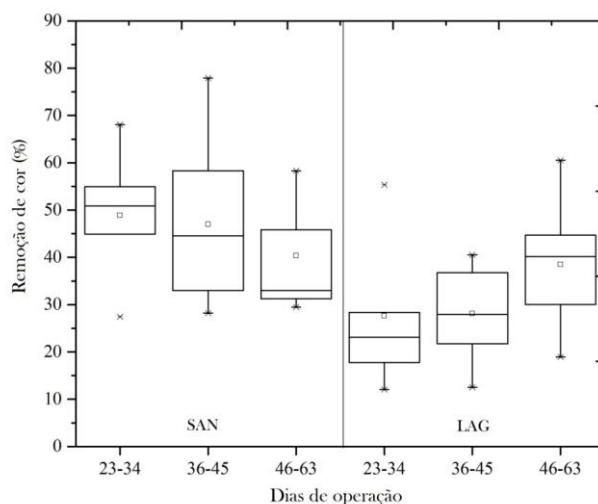


Figura 33: Variação temporal da eficiência de remoção de cor ($\text{PtCo}/\text{mg.L}^{-1}$) nos reatores anaeróbio (SAN) e Lagoa (LAG) alimentados com efluente têxtil real



O reator UASB removeu 50% da cor do efluente têxtil no início da operação. Contudo o sistema foi apresentado uma piora ao decorrer dos dias de operação, a eficiência mediana decaiu para ~35%. Vale ressaltar que estas taxas de descoloração obtidas pelo reator UASB, foram alcançadas com um TDH de 24h. KAPDAN & ALPARSLAN (2005) alcançaram um percentual de descoloração de ~ 60 a 90% em reator do tipo UASB para o tratamento de um efluente têxtil real, mas o tempo de detenção hidráulica usado pelos pesquisadores foi de (48h), o dobro do utilizado no atual estudo.

Já a lagoa apresentou o mesmo comportamento da primeira fase, foi melhorando a descoloração com o decorrer do tempo, aumentando a média de remoção de cor de 20 para 40%. A descoloração total, comparando-se o efluente aeróbio com o afluente ao reator anaeróbio, chegou a 75% no início de operação, e ao final a 68%. As eficiências de descoloração obtidas pelo sistema de lagoa de polimento se equiparam ao as taxas de descoloração obtidas pelo sistema de lodos ativados utilizados por TUNUSSI & SOBRINHO (2003) que não ultrapassou 50%.

No entanto, considerando as condições reais de tingimento, a utilização de produtos auxiliares no processo associados às gomas naturais e sintéticas, os óleos sulfonados, detergentes e a miscelânea de corantes utilizados na operação rotineira da indústria, os resultados de eficiência de remoção de cor obtidos nesta pesquisa, podem ser considerados bons.

O consumo de DQO pelo reator UASB estabilizou em 83% nos últimos dias de operação, como pode ser visto na Figuras 34 e 35.

Figura 34: Variação temporal da concentração de DQO no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com efluente têxtil real diluído 10X

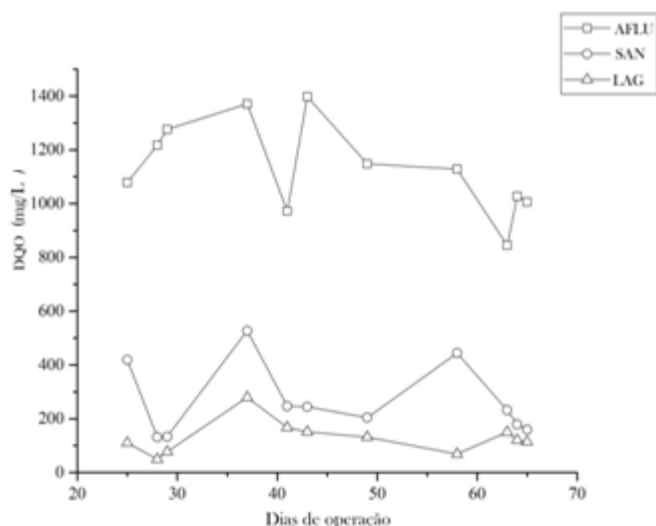
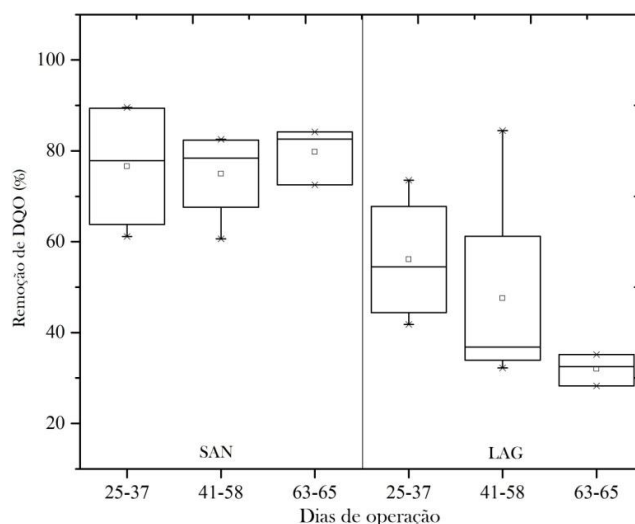


Figura 35: Variação temporal da eficiência de remoção de DQO nos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com efluente têxtil real diluído 10X



A concentração de DQO do afluente foi menor que na fase 1, porém vale ressaltar esta redução se deve principalmente à diluição do efluente bruto e a mudança de lote de leveduras residuais pré-tratadas. Já que se sabe que sua composição varia de

acordo com o lote produzido, assim como a quantidade de sal utilizada para a lise (item 4.2.1). A parcela de DQO não degradada no UASB, DQO_{efluente} , é composta pela DQO relativa aos corantes residuais ($DQO_{\text{Cor.}}$), produtos microbianos solúveis (DQO_{SMP}), leveduras residuais pré-tratadas não degradadas (DQO_{LRPT}), AGVs (DQO_{AGV}), e outros compostos não caracterizadas (DQO_{SNC}) como surfactantes, amido, auxiliares de tingimento) presentes no efluente têxtil que eventualmente passaram incólumes pelo sistema de tratamento. O balanço da DQO residual é apresentado na Tabela 22.

Tabela 22: Balanço de DQO do sistema anaeróbio alimentado com efluente têxtil real diluído 10X

Dias de operação	DQO_{Residual}	$DQO_{\text{SMP+LRPT+CORANTE+SNC}}$		
		DQO_{AGV}	mg.L ⁻¹	
25-37	303	AC	0,1265	302,9
41-58	285	AC	0,3216	284,69
63-65	190	L/D		190

* AC:ácido acético; L/D: abaixo do limite de detecção

O efluente anaeróbio continha baixa concentração de AGV, os valores reportados de ácido acético oscilaram entre 0,12 a 0,32 mg.L⁻¹, quadro também observado na primeira fase do tratamento. Sabe-se que em um reator estável, operado sob condições ótimas de crescimento microbiano, não haverá acumulação significativa de ácidos graxos voláteis, pois as populações das bactérias acetogênicas e de arqueias metanogênicas se encontram presentes em quantidades suficientes (CHERNICHARO, 2011).

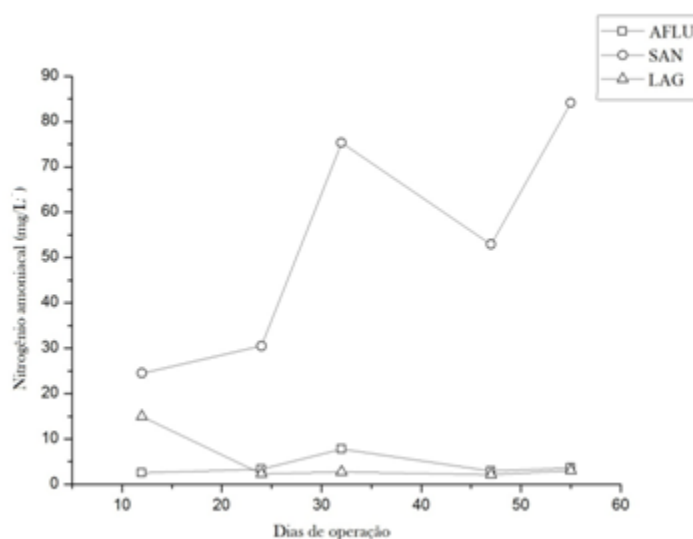
No sistema de Lagoa, foi encontrada uma quantidade ínfima de ácido fórmico logo no início da operação do sistema, posteriormente não foi encontrado nenhum AGV residual nesta etapa. Por tanto acredita-se que a DQO residual neste reator, está associada apenas aos compostos as substâncias não caracterizadas do efluente real (DQO_{SNC}), corantes residuais ($DQO_{\text{Cor.}}$), produtos microbianos solúveis (DQO_{SMP}) e leveduras residuais pré-tratadas não degradadas (DQO_{LRPTR}).

5.5.2 Avaliação da remoção do nitrogênio amoniacal

A quantidade de nitrogênio amoniacal liberado na fase anaeróbia foi muito superior a primeira fase de operação. Isto provavelmente está associada à composição do efluente equalizado somado a composição das leveduras residuais pré-tratadas. As

principais desvantagens da tecnologia anaeróbia são relacionadas à baixa remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) (AQUINO & CHERNICHARO., 2005). Contudo, o sistema de lagoa foi capaz de remover de forma eficiente o nitrogênio amoniacal, como exposto na Figura 36.

Figura 36: Variação temporal na concentração de nitrogênio amoniacal no afluente (AFLU) e nos efluentes dos reatores anaeróbio (SAN) e lagoa (LAG) alimentados com efluente têxtil real



O nitrogênio como todo nutriente, poderia ter causado problemas de superprodução de algas no reator, mas este panorama não foi observado, devido ao descarte contínuo de algas no efluente. O sistema de lagoa foi capaz de mineralizar/assimilar praticamente todo nitrogênio amoniacal advindo do sistema anterior, enquadrando o efluente produzido nas exigências ambientais em relação a este parâmetro.

5.5.3 Avaliação da toxicidade dos efluentes

Com objetivo de avaliar o desempenho do tratamento combinado (UASB/Lagoa) quanto à remoção da toxicidade do efluente têxtil real, realizou-se um novo ensaio com a bactéria *Vibrio fischeri*, os resultados obtidos estão dispostos na (Tabela 23).

Tabela 23: Análise de toxicidade de amostras dos efluentes do sistema anaeróbio (SAN) e de lagoa (LAG) alimentados com efluente têxtil real diluído 10X

(% de remoção de cor)	Amostra	Efeito toxicológico agudo (30min de exposição)	
		CENO	FD3
	Afluente	CE ₅₀	N/D
		CE ₂₀	FD2
SAN: 46%	Efluente do reator anaeróbio (SAN)		N/D
LAG: 40%	Efluente do reator aeróbio (LAG)		N/D

* CENO: Concentração de efeito não observado; N/D: não detectado

O afluente ao sistema de tratamento representado pelo o efluente da indústria têxtil, foi a única amostra que se mostrou tóxica para a bactéria, no menor fator de diluição (FD2), onde inibiu 20% da luminescência. Porém esta diluição corresponde a uma de diluição de 15 vezes, pois o afluente tratado no sistema é dez vezes diluído. Esses resultados demonstram o motivo pelo qual o afluente bruto (sem diluição) não pode ser tratado, uma vez que sua carga tóxica é aparentemente alta. Contudo, pode-se perceber que a toxicidade dantes presente no afluente foi assimilada no tratamento. Ao contrário da segunda análise de toxicidade realizada na fase 1. O grau de toxicidade dos efluentes têxteis varia em função das instalações e dos processos empregados, de acordo com os insumos utilizados. A toxicidade pode apresentar-se em diferentes níveis, ou até mesmo ausente (PINTO & LEÃO, 2002). ZHAO *et al* (2007) avaliaram o potencial tóxico do insumo auxiliar *Peristal BFL* utilizado no processo de tingimento por meio de ensaios toxicológicos que utilizaram a bactéria *Vibrio fischeri*. Os estudos mostraram que o composto em concentrações de 9 e 45mg.L⁻¹ inibiu 20 e 50% da luminescência bacteriana respectivamente em 30 min de exposição. Indicando desta forma, que outros produtos utilizados no processo também podem oferecer risco à biota quando não devidamente tratado.

5.5.4 Avaliação da cinética de remoção de cor e DQO pelo reator UASB

Os resultados obtidos na segunda fase experimental apresentaram grande variabilidade e dispersão de dados e por esta razão não puderam ser modelados.

6. CONCLUSÕES

A caracterização das leveduras residuais pré-tratadas revelou que sua composição se assemelha a das leveduras comerciais do ponto de vista elementar, e que as mesmas podem atuar como fonte nutricional para os microrganismos responsáveis pela descoloração reductiva do corante Amarelo Ouro Remazol. A eficiência de descoloração alcançada no ensaio em batelada na condição com e sem solução nutriente foram as mesmas (71%), indicando a aplicabilidade da levedura residual em substituição ao meio de cultura convencional. Além disso, os ensaios demonstraram que a remoção de cor ocorre majoritariamente por ação biológica e não por adsorção microbiana.

O sistema de tratamento combinado UASB/lodos ativados responsável por tratar a solução corante apresentou desempenho inferior ao sistema UASB/lagoa, do ponto de vista de remoção de cor e DQO. Ao contrário do reator de lodos ativados, a lagoa não apresentou dessorção de corante no decorrer da operação, demonstrando-se mais profícua para tratar este tipo de resíduo. A bactéria *Vibrio fischeri* exibiu sensibilidade aos subprodutos do azo corante, exibindo maior toxicidade ao efluente advindo do reator anaeróbio.

A eficiência de remoção de cor do efluente têxtil real pelo reator anaeróbio foi decaindo no decorrer da operação, ao contrário da lagoa, que apresentou aumento na eficiência, de ~25% para ~40%. Sob este aspecto a lagoa se revelou mais eficiente que o sistema anaeróbio. Porém, quanto a remoção de DQO o UASB obteve uma remoção maior e mais estável (~78%). Quanto ao parâmetro nitrogênio amoniacal a remoção foi elevada durante toda a operação, a lagoa foi capaz de produzir um efluente que se enquadrasse nos limites impostos pela legislação.

Do ponto de vista de instalação e operação, o reator de lodos ativados possui um custo mais elevado em relação a lagoa, devido principalmente a aeração utilizada no sistema e as análises realizadas diariamente. Em contrapartida, requer uma área de implementação menor que a utilizada pela lagoa.

7. RECOMENDAÇÕES

- Correlacionar os valores de inibição de luminescência obtidos em microescala aos obtidos em escala convencional;
- Validar o ensaio miniaturizado equiparando os valores obtidos em outros laboratórios;
- Monitorar do sistema combinado UASB/lagoa variando o TDH e por um período de operação maior;
- Caracterizar os macronutrientes (proteínas, lipídios e carboidratos) das leveduras residuais submetidas a lise osmótica.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARTHUR, J.P. Notes on the desing and operation of waste stabilization ponds in warm climates of developing countries. Technical paper n°7. Washington : Wolrd Bank, 1983.

ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A. a.; IBRAHEEM, I. B M. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 19, n. 3, p. 257–275, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>>.

ACUNER, E.; DILEK, F. B. Treatment of tectilon yellow 2G by *Chlorella vulgaris*. *Process Biochemistry*, v. 39, n. 5, p. 623–631, 2004.

AKSU, Zümriye; TEZER, Sevilay. Biosorption of reactive dyes on the green alga *Chlorella vulgaris*. *Process Biochemistry*, v. 40, n. 3-4, p. 1347–1361, 2005.

ALCÂNTARA, Maria Regina; DALCIN; DECIO. *A Química do Processamento Têxtil. Química nova*. [S.l: s.n.]. , 1996

ALMEIDA, Vitor de Cinque. Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação e extração de corantes têxteis em efluentes industriais. Tese de doutorado, p. 25–48, 2006.

ANGELO, Elisangela Andrade; ANDRADE, Diva Souza; COLOZZI FILHO, Arnaldo. Cultivo não-fotoautotrófico de microalgas: uma visão geral. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 35, n. 1, p. 115, 2014. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/13476>>.

AQUINO, S. F.; STUCKEY, D. C. Characterization of soluble microbial products (SMP) in effluents from anaerobic reactors. *Water Science and Technology*, v. 45, n. 10, p. 127–132, 2002.

AQUINO, Sérgio; CHERNICHARO, Carlos. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 10, n. 2, p. 152–161, 2005.

ARAÚJO, Emiliane Andrade *et al.* Aspectos coloidais de adesão de micro-organismos. *Quimica Nova*, v. 33, n. 9, p. 1940–1948, 2010.

BAÊTA, B E L *et al.* Use of submerged anaerobic membrane bioreactor (SAMBR)

containing powdered activated carbon (PAC) for the treatment of textile effluents. *Water Science and Technology*, v. 11, p. 65, 2012.

BAÊTA, B. E L *et al.* Evaluation of soluble microbial products and aromatic amines accumulation during a combined anaerobic/aerobic treatment of a model azo dye. *Chemical Engineering Journal*, v. 259, p. 936–944, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2014.08.050>>.

BAÊTA, Bruno Eduardo Lobo. “Tratamento de Efluentes de Indústria Têxtil Utilizando Reatores Anaeróbios de Membranas Submersas (SAMBR) com e sem Carvão Ativado em Pó (CAP)” Bruno Eduardo Lobo Baêta. 2012.

BARKER, Duncan J.; STUCKEY, David C. A review of soluble microbial products (SMP) in wastewater treatment systems. *Water Research*, v. 33, n. 14, p. 3063–3082, 1999.

BELTRAME, Terezinha Cordeiro. Caracterização de Efluente Têxtil e Proposta de Tratamento. p. 161, 2000.

BENTO, Alessandra Pellizzaro *et al.* Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados: um instrumento de avaliação e controle do processo. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 10, n. 4, p. 329–338, 2005.

BERTOLETTI, Eduardo. A presunção ambiental e a Ecotoxicologia Aquática. *Revista das Águas*, p. 1–7, 2012. Disponível em: <<http://revistadasaguas.pgr.mpf.gov.br/edicoes-darevista/edicao-atual/materias/presuncao-ambiental>>.

BETTINARDI, Ioná Walter. *Desenvolvimento de um kit monitox (Biomassa liofilizada de Vibrio fischeri) Para o automonitoramento de toxicidade de efluentes industriais.* 2009. 2009.

BILA, Daniele Maia; DEZOTTI, Márcia. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: Efeitos e conseqüências. *Quimica Nova*, v. 30, n. 3, p. 651–666, 2007.

BRAÚNA, Carlos Henrique Da Costa; MOTA, Suetônio; SANTOS, André Bezerra Dos. Descoloração redutiva do corante azo RR2 na ausência e presença de mediador redox e acceptor de elétrons nitrato. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 14, n. 2, p.

275–284, 2009.

CABALLERO-CÓRDOBA, Glenys M.; PACHECO, María Teresa B.; SGARBIERI, Valdemiro C. *Composicao química da Biomassa de Levedura integral (Saccharomyces sp.) e Determinacao do Valor Nutritivo da Proteína em Células Integras ou Rompidas Mecanicamente. Ciencia y tecnologia de Alimentos.* [S.l: s.n.]. , 1997

CARVALHO, Karina Querne De *et al.* Avaliação hidrodinâmica de reator UASB submetido à variação cíclica de vazão. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 13, n. 2, p. 226 – 235, 2008.

CORRÊA, Cássia Aparecida Rabelo *et al.* Uso de extrato de levedura como fonte de carbono e de mediadores redox, para a degradação anaeróbia de corante azo. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 14, n. 4, p. 559–568, 2009.

COSTA, Carla Regina *et al.* A toxicidade em ambientes aquáticos: Discussão e métodos de avaliação. *Quimica Nova*, v. 31, n. 7, p. 1820–1830, 2008.

COSTA, M. C. *et al.* Anthraquinone-2,6-disulfonate (AQDS) as a catalyst to enhance the reductive decolourisation of the azo dyes Reactive Red 2 and Congo Red under anaerobic conditions. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 1, p. 105–110, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.015>>.

COSTA, Mayara Carantino *et al.* Descoloração redutiva de corantes azo e o efeito de mediadores redox na presença do acceptor de elétrons sulfato. *Quimica Nova*, v. 33, n. 7, p. 1514–1519, 2010.

CRISTÓVÃO, Raquel Oliveira. Degradation of dye-containing textile effluents by enzymatic catalysis. p. 226, 2010.

DAMASCENO, Odilaine inácio de carvalho. *Remoção de corantes em solução aquosa e efluentes de indústria têxteis através de adsorção em cabelo humano.* 2008. 2008.

DANESHVAR, N. *et al.* Biological decolorization of dye solution containing Malachite Green by microalgae *Cosmarium sp.* *Bioresource Technology*, v. 98, n. 6, p. 1176–1182, 2007.

DE ARAGÃO UMBUZEIRO, Gisela *et al.* The contribution of azo dyes to the mutagenic activity of the Cristais River. *Chemosphere*, v. 60, n. 1, p. 55–64, 2005.

DOS SANTOS, André. Aplicação conjunta de tratamento anaeróbio termofílico por lodo granular e de mediadores redox na remoção de cor de águas residuárias têxteis. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 10, p. 253–259, 2005.

DOS SANTOS, André Bezerra; CERVANTES, Francisco Javier; VAN LIER, Jules Bernardus. Impacto dos mediadores redox na remoção de cor de corantes azo e antraquinônico por lodo granular anaeróbio sob condições mesofílicas e termofílicas. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 12, n. 1, p. 102–108, 2007.

DOS SANTOS, André Bezerre. *Reductive Decolourisation of Dyes by Thermophilic Anaerobic Granular Sludge*. [S.l.: s.n.], 2004. v. 64.

FARRÉ, Marinella; BARCELÓ, Damià. Toxicity testing of wastewater and sewage sludge by biosensors, bioassays and chemical analysis. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, v. 22, n. 5, p. 299–310, 2003.

FIEHN, O. *et al.* Toxicity-directed fractionation of tannery wastewater using solid-phase extraction and luminescence inhibition in microtiter plates. *Acta hydrochimica et hydrobiologica*, v. 25, n. 1, p. 11–16, 1997. Disponível em: <<http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=2554657>>. Acesso em: 10 maio 2016.

FIELD, Jim a.; BRADY, J. Riboflavin as a redox mediator accelerating the reduction of the azo dye Mordant Yellow 10 by anaerobic granular sludge. *Water Science and Technology*, v. 48, n. 6, p. 187–193, 2003.

FLYNN, Maurea Nicoletti; ROBERTO, William; PEREIRA, Luiz. Abordagem populacional na ecotoxicologia. *Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, v. v.4, n. n.3, p. 79–91, 2011.

FUQUA, W. C.; WINANS, S. C.; GREENBERG, E. P. Quorum sensing in bacteria: The LuxR-LuxI family of cell density- responsive transcriptional regulators. *Journal of Bacteriology*, v. 176, n. 2, p. 269–275, 1994.

GIROTTI, Stefano *et al.* Improved detection of toxic chemicals using bioluminescent bacteria. *Analytica Chimica Acta*, v. 471, n. 1, p. 113–120, 2002.

GUARATINI, Cláudia C I; ZANONI, Valnice B. Fixação do Corante A forma de fixação da molécula do corante a essas fibras geralmente é feita em solução aquosa e

pode envolver basicamente. *Química Nova*, v. 23, n. 1, p. 71–78, 2000.

GUO, Jianbo *et al.* The structure activity relationship of non-dissolved redox mediators during azo dye bio-decolorization processes. *Bioresource Technology*, v. 112, p. 350–354, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.106>>.

IMRAN, Muhammad *et al.* Potential of *Shewanella* sp . Strain IFN4 to Decolorize Azo Dyes Under Optimal Conditions. p. 578–584, 2014.

IŞIK, Mustafa; SPONZA, Delia Teresa. Anaerobic/aerobic treatment of a simulated textile wastewater. *Separation and Purification Technology*, v. 60, n. 1, p. 64–72, 2008.

JINQI, L; HOUTIAN, L. Degradation of azo dyes by algae. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, v. 75, n. February, p. 273–278, 1992.

KALYUZHNYI, S. *et al.* Methanogenic biodegradation of aromatic amines. *Water Science and Technology*, v. 42, n. 5-6, p. 363–370, 2000.

KAPDAN, Ilgi Karapinar; ALPARSLAN, Sabiha. Application of anaerobic-aerobic sequential treatment system to real textile wastewater for color and COD removal. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 36, n. 2-3, p. 273–279, 2005.

KASPAR, H. F.; WUHRMANN, K. Kinetic parameters and relative turnovers of some important catabolic reactions in digesting sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 36, n. 1, p. 1–7, 1978.

KIM, Sunjim *et al.* Growth rate, organic carbon and nutrient removal rates of *Chlorella sorokiniana* in autotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions. *Bioresource Technology*, v. 1, 2013.

KUNZ, Airton *et al.* Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. *Química Nova*, v. 25, n. 1, p. 78–82, 2002.

KURVET, Imbi *et al.* LuxCDABE-transformed constitutively bioluminescent *Escherichia coli* for toxicity screening: Comparison with naturally luminous *Vibrio fischeri*. *Sensors*, v. 11, n. 8, p. 7865–7878, 2011.

LEITE, Valderi D; JÚNIOR, Gilson B Athayde; SOUSA, José T De. Tratamento de águas residuárias em lagoas de estabilização para aplicação na fertirrigação. *Revista*

Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.9, v. d, p. 71–75, 2005.

MARTÍN, Ana *et al.* Bioluminiscencia bacteriana. v. 3, n. 5, p. 75–86, 2010.

MENDONÇA, Luciana Coêlho. Microbiologia e cinética de sistemas de lodos ativados como pós-tratamento de efluente de reator anaeróbio de leito expandido. *Tese*, p. 240, 2002.

MESQUITA, Patrícia Da Luz *et al.* Validação de método de cromatografia líquida para a determinação de sete ácidos graxos voláteis intermediários da digestão anaeróbia. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 18, n. 04, p. 295–302, 2013.

NOVOTNÝ, Cenek *et al.* Comparative use of bacterial, algal and protozoan tests to study toxicity of azo- and anthraquinone dyes. *Chemosphere*, v. 63, n. 9, p. 1436–1442, 2006.

O'NEILL, C *et al.* Azo-dye degradation in an anaerobic-aerobic treatment system operating on simulated textile effluent. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 53, n. 2, p. 249–254, 2000.

OLIVEIRA, Anderson Garbuglio *et al.* Bioluminescência de fungos: Distribuição, função e mecanismo de emissão de luz. *Química Nova*, v. 36, n. 2, p. 314–319, 2013.

OLIVEIRA, Dângelle M.; LEÃO, Mônica M. D. Avaliação da biodegradabilidade de efluentes têxteis de beneficiamento secundário e malhas de poliéster tratados com reagentes de feton. *Química Nova*, v. 32, n. 9, p. 2282–2286, 2009.

OMAR, H. Hannah. *Algal decolorization and degradation of monoazo and diazo dyes*. . [S.l.]: Pakistan journal of biological sciences. , 2008

PINTO, Nícia Mourão Costa; LEÃO, Mônica Maria Diniz. Produção Mais Limpa Na Indústria Têxtil De Acabamento De Malhas : Uso Da Água. n. 1, p. 1–10, 2002.

PONTES, Patrícia Procópio. Reatores uasb aplicados ao tratamento combinado de esgotos sanitários e lodo excedente de filtro biológico percolador. 2003.

RAJAGURU, P *et al.* Genotoxicity evaluation of polluted ground water in human peripheral blood lymphocytes using the comet assay. *Mutation research*, v. 517, n. 1-2, p. 29–37, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12034306>>.

ROBINSON, Tim *et al.* Remediation of dyes in textile effluent: A critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technology*, v. 77, n. 3, p. 247–255, 2001.

RODRIGUES, L. S. *et al.* Avaliação de desempenho de lagoa de polimento para pós-tratamento de reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) no tratamento de águas residuárias de suinocultura. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 61, n. 6, p. 1428–1433, 2009.

SADHASIVAM, S.; SAVITHA, S.; SWAMINATHAN, K. Redox-mediated decolorization of recalcitrant textile dyes by *Trichoderma harzianum* WL1 laccase. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 25, n. 10, p. 1733–1741, 2009.

SANSEVERINO, John *et al.* Use of *Saccharomyces cerevisiae* BLYES expressing bacterial bioluminescence for rapid, sensitive detection of estrogenic compounds. *Applied and environmental microbiology*, v. 71, n. 8, p. 4455–60, 1 ago. 2005. Disponível em: <<http://aem.asm.org/cgi/content/long/71/8/4455>>. Acesso em: 9 maio 2016.

SANTOS, Lúcia H M L M *et al.* Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, v. 175, n. 1-3, p. 45–95, 2010.

SEMPLE, K. T.; CAIN, R. B.; SCHMIDT, S. Biodegradation of Aromatic Compounds by Halophilic Archaea. v. 170, n. May 2006, p. 57477, 1999.

SHAW, C. B.; CARLIELL, C. M.; WHEATLEY, A. D. Anaerobic/aerobic treatment of coloured textile effluents using sequencing batch reactors. *Water Research*, v. 36, n. 8, p. 1993–2001, 2002.

SOMASIRI, Wijetunga *et al.* Evaluation of the efficacy of upflow anaerobic sludge blanket reactor in removal of colour and reduction of COD in real textile wastewater. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 9, p. 3692–3699, 2008.

SPERLING, Marcos Von *et al.* Pós-Tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios por Lodos Ativados. *Pós-tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios - Rede de Pesquisas formada no âmbito do Edital 02 do Programa em Saneamento Básico (PROSAB)*, p. 1–40, 2000. Disponível em:

<<http://www.finep.gov.br/prosab/livros/ProsabCarlos/Cap-5.pdf>>.

SPESSA, F C T; RIBEIRO, Paulo Lopes. *Modelação do comportamento hidráulico de leitos de macrófitas*. 2007. 2007.

STEINBERG, Spencer M. *et al.* A review of environmental applications of bioluminescence measurements. *Chemosphere*, v. 30, n. 11, p. 2155–2197, 1995.

STOLZ, A. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 56, n. 1-2, p. 69–80, 2001.

TIGINI, Valeria *et al.* Evaluation of toxicity, genotoxicity and environmental risk of simulated textile and tannery wastewaters with a battery of biotests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 74, n. 4, p. 866–873, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.12.001>>.

TUNUSSI, J. L., & SOBRINHO, P. A. Remoção de Cor e Nitrificação de Efluentes de Tinturaria Têxtil Através de Processos Biológicos Anaeróbio-Aeróbio. p. 1–7, 2003.

VAN DER ZEE, Frank P.; VILLAVERDE, Santiago. Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes - A short review of bioreactor studies. *Water Research*, v. 39, n. 8, p. 1425–1440, 2005.

VENKATA MOHAN, S. *et al.* Treatment of simulated Reactive Yellow 22 (Azo) dye effluents using Spirogyra species. *Waste Management*, v. 22, n. 6, p. 575–582, 2002.

VERMA, Y. Acute toxicity assessment of textile dyes and textile and dye industrial effluents using *Daphnia magna* bioassay. *Toxicology and industrial health*, v. 24, n. 7, p. 491–500, 2008.

VICTRAL, Davi M. *Aplicação de Levedura Residual como Fonte de Mediadores Redox na Descoloração Redutiva de um Azo Corante Modelo*. 2015. 2015.

VICTRAL, Davi M. *et al.* Enhancement of anaerobic degradation of azo dye with riboflavin and NAD harvested by osmotic lysis of wasted fermentation yeasts. *Environmental Technology*, v. 3330, n. June, p. 1–40, 2016. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09593330.2016.1198831>>.

VYAWAHARE, Saurabh; GRIFFITHS, Andrew D.; MERTEN, Christoph a.

Miniaturization and parallelization of biological and chemical assays in microfluidic devices. *Chemistry and Biology*, v. 17, n. 10, p. 1052–1065, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chembiol.2010.09.007>>.

WHITEHEAD, N A *et al.* Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol Rev*, v. 25, p. 365–404, 2001.

ZHAO, Jinsheng *et al.* The different behaviors of three oxidative mediators in probing the redox activities of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Analytica Chimica Acta*, v. 597, n. 1, p. 67–74, 2007.