UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

DANIEL DELGADO QUEISSADA

# Isolamento e seleção de microrganismos para remediação de efluente oleoso da indústria metal-mecânica

LORENA – SP

2009

DANIEL DELGADO QUEISSADA

# Isolamento e seleção de microrganismos para remediação de efluente oleoso da indústria metal-mecânica

Tese apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Biotecnologia Industrial.

Área de Concentração: Conversão de Biomassa

Orientadora: Prof[a]. Dra. Teresa Cristina Brazil de Paiva
Co-orientador: Prof. Dr. Flávio Teixeira da Silva.

LORENA – SP

2009

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catalogação na Publicação
Biblioteca Universitária
Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo – EEL/USP

Queissada, Daniel Delgado

Isolamento e seleção de microrganismos para remediação de efluente oleoso da indústria metal-mecânica / Daniel Delgado Queissada; orientadora Teresa Cristina Brazil de Paiva e co-orientador Flávio Teixeira da Silva. -- Lorena: 2009.

121 p. : fig.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial. Área de Concentração: Conversão de Biomassa) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo.

1. Microrganismos autóctones 2. Tratamento de efluentes industriais 3. Processos Oxidativos Avançados. I. Título.

628.5 - CDU

# DEDICATÓRIA

Dedico a todas as pessoas que fazem da pesquisa científica um prazer, e não apenas uma maneira de ganhar dinheiro.

## AGRADECIMENTOS

- Aos meus pais Sergio e Lindalva e meus irmãos Juliana e Sergio (e família). Sem vocês eu não teria chegado até aqui.

- À minha esposa Ingrid, por todo amor, paciência, companheirismo e dedicação. A quem espero fazer sempre feliz, pois ninguém é mais merecedora. E a Monaliza, pelos momentos de descontração.

- À minha família alagoana, Marinécia, Alcemir, David, Gel, Mano e Belinha. Muito obrigado por tudo.

- À amiga Lucinha. Sua ajuda foi fundamental para a realização desse trabalho. Muito obrigado também pelas conversas agradáveis e conselhos que levarei por toda vida.

- Aos professores Teresa e Flávio pela oportunidade de realizar este trabalho.

- Aos meus amigos e amigas Carol e Juliana (GRANDES AMIGAS), Felipe, Lívia, Fernando, Gina, Marcelo, Serginho, Bruno, Flávio, Tayrone, Willian, Adna e a todos os colegas do Debiq. Esse trabalho também é de vocês.

- À FAPESP pelo apoio financeiro.

- Aos professores Dione Mari Morita, Ana Maria Queijeiro Lopez, André Ferraz e Patricio Peralta-Zamora, pelas respostas de tantas perguntas.

- Ao professor Arnaldo por ceder o fungo de referência *A. niger* utilizado neste trabalho.

- Aos professores Pagnocca, do departamento de Microbiologia da Unesp-Rio Claro e Rosely, do Instituto de Botânica de São Paulo, pela identificação dos fungos usados no trabaho.

- Ao Ângelo (Birão), Zé Moreira e Zé Carlos. Por terem ajudado sempre que precisei.

- A todos os funcionários da EEL, em especial a Nadir. Vocês foram indispensáveis para que esse trabalho fosse realizado em um ambiente agradável.

## EPÍGRAFE

***"Temos que lutar por espaço e não pelo espaço"***

***Renato Russo (1960 – 1996), compositor.***

# RESUMO

QUEISSADA, D. D. **Isolamento e seleção de microrganismos para remediação de efluente oleoso da indústria metal-mecânica.** 2009. 121 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2009.

A indústria metal-mecânica é responsável pela síntese de um dos efluentes oleosos mais complexos e difíceis de tratamento e reuso. Esses efluentes são constituídos, entre outros poluentes, por fluidos de corte, que servem para refrigerar e lubrificar peças metálicas no sistema de usinagem. Quando esses efluentes são tratados biologicamente é importante que se faça isso com microrganismos autóctones do mesmo, pois o uso desses microrganismos (bioaumentação) tende a ser mais eficaz, uma vez que os mesmos já estão adaptados aos poluentes nele existentes. Com este propósito, o presente trabalho teve como objetivo principal o isolamento e seleção de microrganismos para remediação de um efluente metal-mecânico através de tratamentos unitários em bioreator do tipo air-lift e por sistema oxidativo UV/$H_2O_2$, além do tratamento integrado com ambos os processos. No tratamento biológico foram utilizados os microrganismos autóctones do efluente estudado, além do uso do fungo *Aspergillus niger* como microrganismo de referência. A caracterização do efluente bruto mostrou que, em decorrência dos parâmetros determinados como, 1495 mg Pt/L de cor, DQO de 9147 mg/L, 53 mg/L de fenóis-totais, 15666 mg/L de ST, 2,5 mg$O_2$/L de OD, 887 mg/L de O&G e fator de toxicidade crônica de 1667, o mesmo possui um alto potencial poluidor. Foram isolados, da amostra do efluente, seis possíveis tipos de fungos filamentosos. Dentre os quais, *Epicoccum nigrum* e *Cladosporium* sp, foram os que se mostraram mais eficazes para a realização do tratamento do efluente em reator do tipo air-lift. No biotratamento em reator air-lift o fungo *Epicoccum nigrum* se mostrou mais eficaz na maioria das reduções dos parâmetros determinados (27% da DQO, 62% de fenóis-totais, 94% do $H_2O_2$, 44% da Cond.E e de 43% de O&G), já *Cladosporium* sp foi mais apto na redução de cor (87%). O tratamento oxidativo com sistema UV/$H_2O_2$, obteve reduções mais intensas, do que o tratamento biológico, em relação aos parâmetros de DQO (34%), $H_2O_2$ (98%) e no aumento de OD (705%) da amostra do efluente. Entretanto, foi menos eficaz nas reduções de cor (74%), fenóis-totais (24%), ST (15%) e Cond.E (34%) e atingiu um desempenho semelhante, em relação ao tratamento biológico, na redução de O&G (45%). Já o tratamento integrado do efluente por sistema UV/$H_2O_2$ seguido de tratamento biológico, propiciou uma intensificação nas reduções de todos os parâmetros avaliados pós-tratamento. Indicando assim que, o tratamento fotoquímico, antecipado ao tratamento biológico, aumentou a biodegradabilidade da amostra do efluente, facilitando desta forma a biorremediação do mesmo em reator air-lift. Entre os três sistemas de tratamento estudados (biológico, UV/$H_2O_2$ e UV/$H_2O_2$ – biológico), o processo integrado utilizando o sistema fotoquímico UV/$H_2O_2$ seguido do tratamento biológico com o fungo *E. nigrum* foi o mais eficaz para o efluente estudado.



Palavras-chave: Microrganismos autóctones. Tratamentos de efluentes industriais. Processos Oxidativos Avançados.

## ABSTRACT

QUEISSADA, D. D. **Isolation and selection of microorganisms for the oily effluent remediation of the metalworking industry.** 2009. 121 f. Thesis (Doctoral in Industrial Biotechnology) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2009.

The metalworking industry is responsible for one of the most complex and difficult to reuse and handling, oily effluents synthesis. These effluents are made by cutting fluids which provide refrigeration and purification of metallic pieces in the machining system. When these effluents are biologically treated is important to do this with autochthonous microorganisms, therefore the use of these microorganisms (bioaugmentation) tends to be more efficient because they are already adapted to the existing pollutants. The aim of this work was the isolation and selection of remediation microorganisms of metalworking effluent through unit processes (air-lift bioreactor and UV/$H_2O_2$ system) and also through their integration. In the biological treatment were used the autochthonous microorganisms from metalworking effluent beyond the use of *Aspergillus niger* as reference microorganism. The original effluent characterization presented a great pollutant potential. The value of color of the effluent was 1495 mg Pt/L, COD was 9147 mg$O_2$/L, total phenols was 53 mg/L, total solids (TS) was 15666 mg/L, dissolved oxygen (DO) was 2.5 mgO2/L, oil and grease was 887 mg/L and chronic toxicity factor was 1667. Six possible types of filamentous fungi were isolated from the effluent sample. Among them, *Epicoccum nigrum* and *Cladosporium* sp were the most efficient in the air-lift reactor treatment. In the air-lift reactor biotreatment the fungus *Epicoccum nigrum* was the most efficient in the majority of the parameters reductions (of 27% COD, 62% total phenols, 94% $H_2O_2$, 44**%** electrical conductivity and 43% oil and grease) and *Cladosporium* sp was more efficient in the color reduction (87%). The oxidative treatment system (UV/$H_2O_2$) was more efficient than the biological treatment in the reductions of COD (34%) and $H_2O_2$ (98%) and increase of the DO (705%). However was less efficient in the reductions of color (74%), total phenols (24%), TS (15%) and electrical conductivity (34%) and reached a similar performance in the oil and grease reduction (45%). On the other hand, the integrated effluent treatment by UV/$H_2O_2$ system followed by biological treatment provided an intensification of reductions in all of the evaluated parameters after treatment. Indicating that the photochemistry treatment anticipated to the biological treatment increased biodegradability of the effluent sample, facilitating bioremediation in reactor air-lift. Among the three treatment systems evaluated (biological, UV/$H_2O_2$ and UV/$H_2O_2$ – biological), the integrated processes utilizing the photochemistry system UV/$H_2O_2$ followed by the biological treatment (*E. nigrum*) was the most efficient.



Keywords: Autochthonous microorganisms. Industrial effluents treatments. Advanced Oxidative Processes.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Figura 1.** Aplicação de fluido de corte (Fonte: CIMM, 2009). ..... 30
**Figura 2:** Técnica para microcultivo de microrganismos. ..... 53
**Figura 3:** Esquema do bioreator "air-lift". ..... 55
**Figura 4:** (A) Representação esquemática do reator fotoquímico. (B) Reator fotoquímico em funcionamento. ..... 56
**Figura 5:** Colônias isoladas e purificadas da amostra do efluente bruto (FI – FVI), crescimento em meio BDA durante 7 dias, em estufa a 28ºC. ..... 65
**Figura 6:** Colônia de *E. nigrum* após 7 dias (A) e 20 dias (B) de crescimento em estufa a 28ºC. ..... 77
**Figura 7:** Conídios e conidióforos de *E. nigrum* (Fonte: The University of Adelaide. Mycology Online, 2009). ..... 77
**Figura 8:** (A) Colônia de *Cladosporium* sp. 10 dias de crescimento em estufa a 28ºC. (B) Conídios de *Cladosporium* sp. (Fonte: The University of Adelaide. Mycology Online, 2009). ..... 78
**Figura 9:** Cinética de redução da DQO e $H_2O_2$ avaliados durante os tratamentos POA - UV/$H_2O_2$ (alíquota única de $H_2O_2$) no período de 3 h. ..... 88
**Figura 10:** Gráfico de Pareto dos efeitos individuais (pH e $H_2O_2$) e combinados do tratamento com sistema UV/$H_2O_2$ utilizando alíquota única de $H_2O_2$. ..... 90
**Figura 11:** Gráfico dos efeitos principais das variáveis pH e $H_2O_2$ do tratamento com sistema UV/$H_2O_2$ utilizando alíquota única de $H_2O_2$. ..... 90
**Figura 12:** Gráfico da interpretação geométrica dos resultados (redução de DQO) do planejamento $2^2$ do tratamento com sistema UV/$H_2O_2$ utilizando alíquota única de $H_2O_2$. .... 91
**Figura 13:** (A-F) Cinética de redução de DQO, $H_2O_2$ e Fenóis totais, avaliados durante os tratamentos POA - UV/$H_2O_2$ (alíquota fracionada de $H_2O_2$). ..... 94
**Figura 14:** Gráfico de Pareto dos efeitos individuais (pH e $H_2O_2$) e conbinados, no sistema UV/$H_2O_2$ com alíquota fracionada de $H_2O_2$, analisados pela redução de DQO (A) e fenóis totais (B). ..... 95
**Figura 15:** Gráfico dos efeitos principais das variáveis pH e $H_2O_2$ sobre a redução de DQO (A) e a redução de Fenóis totais (B) no sistema UV/$H_2O_2$ com alíquota fracionada de $H_2O_2$ 96

**Figura 16:** Gráfico da interpretação geométrica dos resultados da redução de DQO (A) e da redução de Fenóis totais (B) do tratamento com sistema UV/$H_2O_2$ utilizando alíquota fracionada de $H_2O_2$. ..... 96
**Figura 17:** Cinética da redução de DQO, $H_2O_2$ e Fenóis totais, avaliados durante o tratamento POA - UV/$H_2O_2$ (sistema otimizado). ..... 97

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Potencial de oxidação de diversos oxidantes. ..... 39
**Tabela 2:** Sistemas Típicos de Processos Oxidativos Avançados. ..... 39
**Tabela 3:** Características físico – químicas da amostra do efluente sem tratamento. ..... 59
**Tabela 4:** Redução de Cor e DQO da amostra do efluente estudado em 120 h de tratamento a 15 ºC, 25 ºC e 45 ºC em pHs 5, 7 e 9 sem inóculo (S/I). ..... 67
**Tabela 5:** Redução efetiva e total de Cor e DQO da amostra do efluente estudado em 120 h de tratamento a 15 ºC e pHs 5, 7 e 9. ..... 68
**Tabela 6:** Redução efetiva e total de Cor e DQO da amostra do efluente estudado em 120 h de tratamento a 25 ºC e pHs 5, 7 e 9. ..... 70
**Tabela 7:** Redução efetiva e total de Cor e DQO da amostra do efluente estudado em 120 h de tratamento a 45 °C e pHs 5, 7 e 9. ..... 72
**Tabela 8:** Correlação Linear de Person entre os parâmetros de redução de Cor x Temperatura e redução de DQO x Temperatura (em relação à mudança de pH) e redução de Cor x pH e redução de DQO x pH (em relação à mudança de temperatura). ..... 74
**Tabela 9:** Indentificação dos microrganismos selecionados segundo as características macro e micromorfológicas. ..... 76
**Tabela 10:** Concentração de íons metálicos no efluente bruto com pH 1,7 e ajustado para os pHs 6,5; 7,5; 8,5; 9,5; 10,5 e 11,5. ..... 79
**Tabela 11:** Características físico–químicas da fase aquosa da amostra do efluente pós – precipitação química e redução (%) dos parâmetros em relação ao efluente original. ..... 80
**Tabela 12:** Parâmetros pós-tratamento em bioreator air-lift do efluente sem adição de inóculo (S/I). ..... 82
**Tabela 13:** Parâmetros pós-tratamento em bioreator air-lift do efluente com os microrganismos *A. niger*, *E. nigrum, Cladosporium* sp. e tratamento sem inóculo (S/I). ..... 83
**Tabela 14:** Contribuições nas reduções dos parâmetros pós-precipitação química e pós-biotratamento (air-lift) em relação ao efluente bruto. ..... 85
**Tabela 15:** Reduções dos parâmetros pós – tratamento com sistema UV/$H_2O_2$ utilizando alíquota única de $H_2O_2$. ..... 87
**Tabela 16:** Reduções dos parâmetros pós – tratamento com sistema UV/$H_2O_2$ utilizando alíquota fracionada de $H_2O_2$. ..... 92

**Tabela 17:** Características físico–químicas da amostra do efluente pós – tratamento POA - UV/$H_2O_2$ (sistema otimizado) durante o tempo de 1h. ..... 98
**Tabela 18:** Parâmetros do efluente pós-tratamento integrado (UV/$H_2O_2$ biológico). ..... 100
**Tabela 19:** Reduções dos parâmetros avaliados após cada tipo de tratamento realizado durante o trabalho. ..... 103

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ABNT**..... Associação Brasileira de Normas Técnicas
**AN**..... Ágar Nutriente
**BDA**..... Batata Dextrose Agar
**CETESB**..... Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
**CIMM**..... Centro de Informação Metal Mecânico
**CNAE**..... Classificação Nacional de Atividades Econômicas
**CONAMA**..... Conselho Nacional do Meio Ambiente
**Cond.E**..... Condutividade Elétrica
**DBO**……..…… Demanda Bioquímica de Oxigênio
**DQO**..... Demanda Química de Oxigênio
**EPA**……... Environmental Protection Agency
**FT**..... Fenóis Totais
**FTox**..... Fator de Toxicidade
**GESAMP**..... Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution
**IBGE**..... Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
**IM**..... Íons Metálicos
**NBR**..... Norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas
**O&G**..... Óleos e Graxas
**OSHA**..... Occupational Safety & Health Administration
**P.A.**..... Para Análise
**POAs**..... Processos Oxidativos Avançados
**S/I**..... Sem Inóculo
**ST**..... Sólidos Totais
**UFC**..... Unidades Formadoras de Colônias

## LISTA DE SÍMBOLOS

**ºC**……..... Graus Celsius

**μ**..... micrômetro

**4-AAP**..... 4-aminoantipirina

**Ag**..... prata

**Al**..... Alumínio

**As**..... arsênio

**Cd**..... cádmio

**$Cl^-$**..... íon cloreto

**cm**..... centímetro

**Co**..... cobalto

**Cr**..... cromo

**Cu**..... cobre

**Fe**..... Ferro

**$H_2O_2$**..... peróxido de hidrogênio

**$H_2SO_4$**..... ácido sulfúrico

**HCl**..... ácido clorídrico

**Hg**..... mercúrio

**$HO^{\bullet}$**..... radical hidroxila

**hv**..... fóton de luz ultravioleta (high voltage)

**IC**..... porcentagem de inibição

**kcal**..... quilocaloria

**L**……..... litros

**Lux**..... intensidade luminosa

**mg**..... miligrama

**min**……..... minutos

**mL**..... mililitros

**Mn**..... manganês

**$NaNO_2$**..... nitrito de sódio

**NaOH**..... hidróxido de sódio

**$NH_4VO_3$**..... metavanadato de amônio

**nm**..... nanômetro

**nº**……..... número

**$O_2$**..... molécula de oxigênio

**$O_3$**..... molécula de ozônio

**Pb**..... chumbo

**pH**..... Potencial Hidrogeniônico

**Pt**..... Platina

**rpm**..... rotações por minuto

**$TiO_2$**..... Dióxido de Titânio

**US**..... ultrassom

**UV**..... radiação ultravioleta

**V**..... potencial de oxidação

**$VO_3^-$**..... íon metavanadato

**$VO_3^+$**..... íon peroxovanadato

**W**..... watt

**Zn**..... Zinco

**SUMÁRIO**

1 INTRODUÇÃO ..... 25

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA ..... 29

2.1. O EFLUENTE METAL-MECÂNICO ..... 29

2.2. CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE METAL-MECÂNICO ..... 29

2.2.1 Fluidos de corte ..... 30

2.2.2 Cavacos ..... 32

2.2.3 Microrganismos ..... 33

2.3. LEGISLAÇÃO, IMPACTOS AMBIENTAIS E HUMANOS ..... 34

2.4. TRATAMENTOS DE EFLUENTES DA INDÚSTRIA METAL-MECÂNICA ..... 36

2.4.1. Tratamentos Físicos e Químicos ..... 37

*2.4.1.1 Precipitação Química* ..... 37

*2.4.1.2. Processos Oxidativos Avançados - POAs* ..... 38

2.4.2. Tratamentos Biológicos ..... 41

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS ..... 44

4. METODOLOGIA ..... 45

4.1. EFLUENTE UTILIZADO ..... 45

4.2. CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE METAL-MECÂNICO ..... 45

4.2.1 Determinação de pH ..... 45

4.2.2 Determinação de Cor ..... 45

4.2.3 Determinação de Peróxido de Hidrogênio ($H_2O_2$) ..... 46

4.2.4 Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO) ..... 46

4.2.5 Determinação de Sólidos Totais (ST) ..... 47

4.2.6 Determinação de Fenóis Totais (FT) ..... 47

4.2.7 Determinação de Óleos e Graxas (O&G) ..... 48

4.2.8 Determinação de Oxigênio Dissolvido (OD) ..... 48

4.2.9 Determinação da Condutividade Elétrica (Cond.E.) ..... 49

4.2.10 Determinação de Íons Metálicos (IM) ..... 49

4.2.11 Determinação de Cloreto ($Cl^-$) ..... 50

4.2.12 Determinação da Toxicidade Crônica ..... 51

4.3. ISOLAMENTO DOS MICRORGANISMOS AUTÓCTONES DO EFLUENTE ..... 51

4.3.1 Isolamento de Bactérias e Fungos ..... 51

4.4. SELEÇÃO DOS MICRORGANISMOS ISOLADOS DO EFLUENTE ..... 52

4.5. IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS SELECIONADOS ..... 52

4.5.1 Identificação das Características Macromorfológicas ..... 52

4.5.2 Identificação das Características Micromorfológicas ..... 53

4.6. PRÉ-TRATAMENTO DO EFLUENTE POR PRECIPITAÇÃO QUÍMICA ..... 54

4.7. BIOTRATAMENTO EM REATOR DO TIPO AIR-LIFT ..... 54

4.8. TRATAMENTO POR PROCESSO OXIDATIVO AVANÇADO (POA) – SISTEMA UV/$H_2O_2$ 55

4.8.1 Tratamento utilizando alíquota única de $H_2O_2$ ..... 56

4.8.2 Tratamento utilizando alíquota fracionada de $H_2O_2$ ..... 56

4.8.3 Tratamento UV/$H_2O_2$ otimizado ..... 57

4.9. TRATAMENTO POR PROCESSOS INTEGRADOS: POA (UV/$H_2O_2$) x BIOLÓGICO ..... 57

4.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA ..... 57

4.10.1 Correlação Linear de Pearson ..... 57

4.10.2 Determinação dos Efeitos Principais e Combinados (Planejamento Fatorial $2^2$) ..... 58

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... 59

5.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EFLUENTE ..... 59

5.2. ISOLAMENTO DOS MICRORGANISMOS AUTÓCTONES DO EFLUENTE ..... 64

5.3. SELEÇÃO DOS MICRORGANISMOS ISOLADOS DO EFLUENTE ..... 66

5.4. CORRELAÇÃO DE PEARSON ..... 73

5.5. IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS SELECIONADOS ..... 75

5.6. PRÉ-TRATAMENTO DO EFLUENTE POR PRECIPITAÇÃO QUÍMICA ..... 79

5.7. BIOTRATAMENTO EM REATOR DO TIPO AIR-LIFT ..... 81

5.8. TRATAMENTO POR PROCESSO OXIDATIVO AVANÇADO (POA) – SISTEMA UV/$H_2O_2$ 86

5.8.1 Tratamento utilizando alíquota única de $H_2O_2$ ..... 87

5.8.2 Tratamento utilizando alíquota fracionada de $H_2O_2$ ..... 92

5.8.3 Tratamento UV/$H_2O_2$ otimizado ..... 97

5.9. TRATAMENTO POR PROCESSOS INTEGRADOS: POA (UV/$H_2O_2$) x BIOLÓGICO ..... 100

5.10. COMPARAÇÃO DAS REDUÇÕES DOS PARÂMETROS AVALIADOS APÓS CADA SISTEMA DE TRATAMENTO UTILIZADO ..... 103

6. CONCLUSÕES ..... 105

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 107

# 1 INTRODUÇÃO

A legislação brasileira é considerada uma das mais avançadas com respeito ao gerenciamento de efluentes industriais e a preservação do meio ambiente. É constituída de várias leis como a nº 6.938, de 31/08/81, que dispõe a Política Nacional do Meio Ambiente, a nº 7.661, de 16/05/88, que institui o Plano Nacional de Gerenciamento Costeiro, a nº 9.433, de 08/01/97, que institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, vários decretos federais, as resoluções do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), como a de nº 357 de 17/03/05 e a nº 396 de 07/04/2008, além das leis e decretos estaduais. Porém, mesmo com a existência de uma legislação tão completa, ainda assim, no Brasil nem todos os efluentes industriais são tratados adequadamente, sendo lançados, as vezes, indiscriminadamente nos corpos receptores, comprometendo a fauna, a flora e a qualidade de vida da população. Assim, os estudos sobre os tratamentos mais adequados aos efluentes industriais são fundamentais, principalmente quando se buscam novas tecnologias e alternativas aos processos de tratamentos convencionais (MELLO, 2007).

Um dos efluentes de grande impacto ambiental é o oleoso. Estes descartados fora dos parâmetros físico-químicos estabelecidos pela legislação podem provocar uma série de efeitos nocivos aos organismos aquáticos, como por exemplo, asfixia em aves e peixes, diminuição brusca da fotossíntese realizada pelas algas, além de contaminação de animais e plantas situadas à beira dos corpos d'água. Esses efeitos podem ser ampliados ou minimizados de acordo com alguns fatores, sejam eles ambientais ou relativos às próprias características do produto envolvido. Os impactos esperados estão também associados ao tipo e volume de óleo, ao seu comportamento no ambiente, e também ao tipo de ambiente contaminado, seja pela persistência do produto, seja pela sensibilidade da biota (CETESB, 2009).

Dentre os efluentes oleosos, os produzidos pela indústria metal-mecânica estão entre os mais abstrusos e difíceis de tratamento e reuso devido à alta variedade e à complexidade dos compostos presentes neste tipo de efluente. O principal componente dos efluentes metais-mecânicos é o fluido de corte ou óleos de corte, os quais servem para refrigerar e lubrificar peças metálicas no processo de usinagem (RUNGE; DUARTE, 1990).

Segundo Cheng, Phipps e Alkhaddar (2005), são utilizados cerca de 2 x $10^9$ L de fluidos de corte por ano em todo mundo. Este valor pode aumentar em dez vezes quando quantificado o efluente gerado pelo uso destes fluidos, já que os mesmos são previamente diluídos para sua utilização. De acordo com Kammermeier (2000) no ano 2000 no Brasil, circulavam, nos centros de usinagem, de 20 a 100 L/min de fluidos de corte. Atualmente, possivelmente, essa quantidade aumentou e representa um grande volume para ser gerenciado de forma a não comprometer o meio ambiente e a saúde do operador.

Ainda são encontrados nos efluentes metais-mecânicos íons cromo, ferro e zinco, além de uma variedade de outros compostos como, ácido sulfúrico, ácido clorídrico, hidróxido de potássio, refrigerantes sintéticos e surfactantes (IGNÁCIO, 1998). Todos esses compostos fazem do efluente metal-mecânico um poluidor potencial, dentre os efluentes oleosos em geral. Mesmo assim, poucos estudos são direcionados para este tipo de efluente. Geralmente tem-se aplicado os mesmos tratamentos para todas as tipologias de efluentes oleosos. Esta perda de especificidade, muitas vezes, faz com que o tratamento seja ineficaz. Portanto, faz-se necessário, anteriormente ao tratamento, seja ele físico, químico ou biológico, a caracterização mais completa possível do efluente, com o objetivo de propiciar um tratamento mais direcionado para cada tipo de efluente e seus constituintes, de forma a torná-lo mais eficaz.

Além de buscar o melhor tratamento para cada tipo de efluente, é de suma importância que sejam realizados estudos que visem produzir novas tecnologias e alternativas aos

processos de tratamentos convencionais. Entre os sistemas de tratamentos de efluentes oleosos, os biológicos são os que propiciam uma maior flexibilidade econômica para a busca de alternativas que resultem em soluções eficazes e economicamente viáveis para seus tratamentos (MARIANO, 2001). Estes efluentes podem conter vários tipos de microrganismos, sendo a sua presença e os seus tipos dependentes da constituição do efluente metal-mecânico onde se encontram.

Bactérias, leveduras e fungos filamentosos têm sido citados na literatura como agentes transformadores eficazes, pela sua habilidade em degradar uma grande variedade de substâncias orgânicas, comumente encontradas nos efluentes oleosos (MENDES et al., 2005; VAN DER MERWE; BADENHORST; BRITZ, 2005; TANO-DEBRAH et al., 1999). Porém, a falta de especificidade nos tratamentos biológicos faz com que este tipo de processo também seja por vezes ineficaz. Para a solução deste problema, o mais indicado é a realização da bioaumentação dos microrganismos mais eficazes na degradação dos poluentes presentes no efluente a ser tratado. Para tanto, é de grande importância que seja realizado o tratamento biológico com microrganismos isolados do próprio efluente a ser tratado, pois o processo de tratamento realizado com esses microrganismos (bioaumentação) tende a ser mais eficaz, uma vez que os mesmos já estão adaptados aos poluentes nele existentes (HURURAY; PEREIRA JUNIOR; MARINS, 1998). Este isolamento ainda pode propiciar a descoberta de novos microrganismos degradadores de compostos recalcitrantes presentes nos efluentes metais-mecânicos, e que ainda não são citados na literatura em processos de tratamentos desse tipo de efluente industrial.

Mesmo aumentando a especificidade dos tratamentos biológicos nos efluentes metais-mecânicos, geralmente o uso desses processos de forma unitária ainda não é satisfatório, para que os efluentes tratados se enquadrem dentro dos padrões de descarte exigidos pela legislação. Sendo assim, é necessária a utilização de tratamentos complementares para que o

efluente final seja descartado, no corpo receptor, de forma adequada (GOGATE; PANDIT, 2004). A busca de novas tecnologias para complementar os tratamentos de efluentes contaminados com compostos recalcitrantes como, por exemplo, os metais-mecânicos, faz com que os Processos Oxidativos Avançados (POAs) tenham um destaque entre outros tipos de processos, devido á sua eficácia e rapidez no tratamento desses efluentes. Os POAs são processos em que o principal agente oxidativo corresponde ao radical hidroxila (•OH). Estes radicais não são seletivos e promovem a degradação de todos os compostos orgânicos, reagindo de $10^6$ a $10^{12}$ vezes mais rápido que oxidantes como o ozônio (MALATO et al., 2000).

Geralmente, quando há o uso de tratamentos integrados constituídos de processos oxidativos avançados e biológicos, a integração destes processos ocorre nesta mesma ordem e está baseada na premissa que as tecnologias dos processos oxidativos geralmente possibilitam a eliminação ou transformação de compostos resistentes à biodegradação (refratários) em produtos com maior biodegradabilidade (MORAIS, 2005).

Dentro deste contexto, no presente trabalho se estudou o isolamento e a seleção de microrganismos autóctones de um efluente da indústria metal-mecânica com potencial de realizar a biorremediação do mesmo, tanto em tratamento biológico de forma isolada como integrado com processo oxidativo avançado.

# 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## 2.1. O EFLUENTE METAL-MECÂNICO

O setor metal-mecânico se enquadra nos seguintes segmentos difundidos pela Classificação Nacional de Atividades Econômicas (CNAE): metalurgia básica; produtos de metal, máquinas e equipamentos; máquinas para escritório e equipamentos de informática; máquinas, aparelhos e materiais elétricos; material eletrônico, aparelhos e equipamentos de comunicações; equipamentos de instrumentação médico-hospitalar, ópticos e outros; veículos automotores e ainda outros equipamentos de transporte (IBGE, 2005). Sendo a usinagem o principal processo do setor metal-mecânico.

Segundo Oliveira (2005), a usinagem é o processo que, ao conferir forma à peça, ou as dimensões ou o acabamento, ou ainda uma combinação qualquer destes três itens, produzem cavaco. O cavaco é a porção de material metálico removido da peça original com auxílio de um fluido de corte. Portanto, o efluente gerado no processo de usinagem, nas indústrias do setor metal-mecânico, é composto de constituintes metálicos, como o zinco e o ferro, providos dos cavacos e de vários outros compostos presentes nos fluidos de corte, como biocidas e anticorrosivos, previamente diluídos. Além de microrganismos presentes no próprio ambiente de trabalho que geralmente se incorporam a esses efluentes.

## 2.2. CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE METAL-MECÂNICO

A caracterização desses efluentes é de extrema importância para que os processos de tratamentos dos mesmos sejam eficazes. Pois, desta maneira, se consegue especificar e aperfeiçoar a tipologia do tratamento a ser usado através das características de cada efluente. Além das características físico-químicas, é muito importante a determinação das características microbiológicas (isolamento de microrganismos) do efluente, já que este é um

fator crucial para que um eventual tratamento biológico, através da bioaumentação, seja realizado de forma eficaz (MUSZYNSKI et al., 2007).

Além disso, a caracterização do efluente a ser tratado também se torna importante quando se quer optar pelo reuso do mesmo. Já que o uso do efluente tratado em outras atividades como, por exemplo, a irrigação, só ocorre se suas características estiverem dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação (MONTEIRO, 2006).

### 2.2.1 Fluidos de corte

Os fluidos de corte são utilizados no processo de usinagem com o objetivo de propiciar a lubrificação e a refrigeração na região de corte (Figura 1).

**Figura 1. Aplicação de fluido de corte (Fonte: CIMM, 2009).**

A refrigeração promovida pelos fluidos de corte remove o calor gerado durante a operação de corte (RUNGE; DUARTE, 1990). Isso proporciona o prolongamento da vida útil das ferramentas e garante a precisão dimensional das peças, através da redução de distorções térmicas. Já a lubrificação é importante para a melhoria do acabamento superficial da peça produzida, pois pequenas saliências existentes na ferramenta de corte podem colidir com saliências existentes nos cavacos, resultando no seu desgaste mais rapidamente (ANDERSON et al., 2003).

A constituição dos fluidos de corte depende da tipologia de cada um, porém existem compostos que geralmente são comuns a todos os tipos de fluidos. Entre eles está o óleo mineral, que é considerado o composto básico dos fluidos de corte. O mesmo pode ser utilizado no estado puro ou com a presença de aditivos (EL-BARADIE, 1996). De acordo com Runge e Duarte (1990), os óleos minerais parafínicos são os mais utilizados por apresentarem elevado índice de viscosidade, que lhes permite resistir melhor às variações de viscosidade que ocorrem devido as variações de temperaturas, maior resistência à oxidação e cor mais clara, resultando assim, em produtos de melhor aceitação pelos operadores das máquinas de corte. Esses compostos oleosos após saírem da linha industrial seguem para o sistema de tratamento, e devem ser retirados ao máximo antes do processo de tratamento biológico, pois em grandes concentrações podem inibir o desenvolvimento microbiano, além de, ocasionalmente, atrapalharem o funcionamento de aeradores (CHERYAN; RAJAGOPALAN,1998).

Os aditivos são os demais compostos, além do óleo mineral, encontrados nos fluidos de corte. Eles são incorporados aos fluidos para que os mesmos obtenham propriedades que aperfeiçoem o seu uso e eficácia. Entre os aditivos mais utilizados estão os biocidas, como o $H_2O_2$; os anticorrossivos, que dentre os mais usados, está o nitrito de sódio ($NaNO_2$); os antiespumantes (óleos de silicone), e os emulgadores, como sabões de ácidos graxos (SOKOVIC; MIJANOVIC, 2001; MOTTA; MACHADO, 1995).

Outras substâncias importantes presentes em efluentes contendo os fluidos de corte são os compostos fenólicos. Segundo Van Schie e Young (1998), esses compostos representam a maior classe de poluentes orgânicos oriundos de diversas atividades industriais, entre elas a metal-mecânica, geralmente sendo recalcitrantes à biodegradação e tóxicos à maioria dos microrganismos. Os compostos fenólicos também constituem esses tipos de

efluentes como intermediários durante a biodegradação de compostos contendo anéis aromáticos, tais como benzeno, tolueno e xileno (VAN SCHIE; YOUNG, 1998).

### 2.2.2 Cavacos

Outros constituintes do efluente metal-mecânico são os cavacos. O cavaco é a porção de material metálico removido da peça original com auxílio do fluido de corte. No efluente final do sistema de produção de usinagem os cavacos são retirados do mesmo através de um tratamento físico, geralmente o peneiramento. Porém partes dessas peças continuam no efluente, podendo estar dissolvidas ou não. Por esse motivo, efluentes da indústria metal-mecânica geralmente são constituídos de altas concentrações de metais.

Entre os metais mais encontrados nos efluentes metais-mecânicos estão o ferro, cromo, zinco e alumínio. Entretanto, outros metais, como, por exemplo, o manganês, o cobre e o arsênio, podem ser encontrados dependendo da natureza do processo de usinagem. Vale ressaltar que, outros metais ainda podem ser incorporados ao efluente metal-mecânico originários de outras fontes como, o desgaste de componentes mecânicos da máquina de corte e das formulações de alguns aditivos (EKANEM; LORI; THOMAS, 1997).

Segundo Pereira Neto et al. (2008), geralmente são encontradas em efluentes metais-mecânicos concentrações de metais muito além das permitidas pela legislação (CONAMA 357/05). Estes autores realizaram o levantamento dos metais em um efluente metal-mecânico e encontraram concentrações de 92000 mg/L de Fe, 70000 mg/L de Zn, 30 mg/L de Al, enquanto que o limite estabelecido pela legislação é de 15 mg/L, 5 mg/L e de 0,1 mg/L, respectivamente.

A remoção destes metais, até os limites exigidos pela legislação, geralmente é efetuada utilizando-se o tratamento por precipitação química (KURNIAWAN et al., 2006; OLIVEIRA, 2005). Quando esse tratamento é realizado de forma eficaz nos efluentes consegue-se deixar as concentrações dos metais nos limites legais exigidos. Como por exemplo, Tessaro (2008)

que encontrou concentrações de Zn e Al de 5 mg/L cada, nesse tipo de efluente. Já Costa, Schneider e Rubio (2000) encontraram 5 mg/L de Zn e 4 mg/L de Fe.

### 2.2.3 Microrganismos

Os microrganismos presentes nos efluentes metais-mecânicos normalmente são incorporados aos mesmos no próprio ambiente de trabalho, já que os fluidos de corte concentrados são praticamente livres dos mesmos. Isso se deve ao fato de a pressão osmótica em fluidos sem diluição ser elevada, além da presença de biocidas encontrados nos mesmos para evitar a sua biodegradação. Porém, para a sua utilização, os fluidos de corte são diluídos, e com essa diluição é formado um ambiente propício para o desenvolvimento de microrganismos que, ocasionalmente, resistam aos biocidas neles presentes (PIUBELI et. al., 2004; GAST et. al., 2003). Vale ressaltar ainda que, alguns microrganismos presentes nos efluentes metais-mecânicos também são incorporados a ele assim que se inicia a linha de tratamento. Isto porque, a maioria dos sistemas de tratamentos de efluentes industriais utilizados funciona em ambientes abertos. O que propicia, desta forma, a absorção dos microrganismos oriundos de outras localidades, como, por exemplo, plantas e dispersados pelo vento (PELCZAR et al.,1997).

Alguns gêneros de bactérias como *Pseudomonas, Bacillus, Acinetobacter, Achromobacter, Mycococcus, Flavobacterium* e *Geobacillus* são comumente encontrados em ambientes com óleo cru e seus derivados como os efluentes metais-mecânicos (IWASHITA et al., 2004). Já os fungos mais encontrados nestes ambientes oleosos são dos gêneros *Cladosporium, Aspergillus* e *Penicillium*, além de leveduras como *Candida* e *Rhodotorula* (OLLIVER; MAGOT, 2005). Entretanto, a sobrevivência e predominância destes microrganismos nestes ambientes depende de outros fatores como pH, temperatura e concentração oleosa. A maioria dos fungos filamentosos e leveduras são adaptados para ambientes ácidos com pHs próximos de 5, ao contrário das bactérias que predominam em

ambientes aproximadamente neutros, com pHs entre 6,5 e 7,5. Em relação à temperatura do meio, a maioria das bactérias sobrevive melhor em temperaturas próximas de 37ºC. Já os fungos filamentosos e as leveduras se desenvolvem melhor em temperaturas próximas de 28ºC (OLLIVIER; MAGOT, 2005; IWASHITA et al., 2004; BONCH-OSMOLOVSKAYA et al., 2003; BENTO; GAYLARDE, 2001; VEILLETTE et al., 2001 PELCZAR et al.,1997).

Em efluentes oleosos a concentração de óleo também pode ser um fator importante para a predominância de um tipo de microrganismo. Isso pode ser observado em trabalhos como o realizado por Iwashita et al. (2004) que isolaram microrganismos de efluente contendo fluido de corte e constataram a existência de *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Achromobacter sp*. Esses autores evidenciaram que alterando a concentração de óleo na amostra a população predominante de microrganismos também variava.

## 2.3. LEGISLAÇÃO, IMPACTOS AMBIENTAIS E HUMANOS

De acordo com o "Occupational Safety & Health Administration - U.S. Department of Labor, 2006" (OSHA), os fluidos de corte, presentes nos efluentes da indústria metal-mecânica, podem causar vários danos à saúde do homem, seja através do contato da pele ou da inalação da névoa proveniente do processo de trabalho. As exposições por via aérea e dérmica implicam em problemas de saúde incluindo a irritação da derme, dos pulmões, olhos, nariz e garganta. Além disso, cânceres já foram associados com o contato intenso dos fluidos de corte. Segundo Silliman (1992), algumas considerações e cuidados importantes são necessários para a manipulação de fluidos, quando se leva em conta a segurança e a saúde do trabalhador. Deve-se realizar a correta seleção, armazenamento, descarte e manutenção dos mesmos, além de controlar, quando é possível, a concentração do fluido, pH, níveis de bactérias e fungos, os inibidores de corrosão e a concentração de biocidas.

Já o impacto ambiental causado pelo lançamento inadequado dos efluentes metais-mecânicos é bem mais visível pela população em geral. Mesmo com uma exigente legislação ambiental, muitas indústrias do setor metal-mecânico continuam descartando seus efluentes sem o tratamento adequado. Após o lançamento desses efluentes nos corpos receptores, o óleo sofre vários processos químicos e biológicos chamados conjuntamente de intemperismo que ocasiona a sua desintegração e decomposição, cuja a taxa é influenciada pelas condições do meio. Em condições em que o corpo receptor já se encontra fragilizado, a taxa de desintegração e decomposição de compostos oleosos providos desses efluentes é muito mais reduzida (CETESB, 2009). O excesso dos compostos oleosos nos corpos d'água, além de acarretar problemas de origem estética, diminui a área de contato entre a superfície da água e o ar atmosférico, impedindo, dessa maneira, a transferência do oxigênio da atmosfera para a água. A redução desta transferência de oxigênio, além de causar danos para o processo de fotossíntese, ainda acarreta no aumento intensivo da DBO e da DQO (GESAMP, 1993).

De acordo com a CETESB (2009), existem duas vias principais nas quais os compostos oleosos causam impactos nos organismos, que são o efeito físico resultante do recobrimento e o efeito químico, associado à toxicidade destes compostos que está normalmente associada às frações aromáticas dos mesmos. Entre os componentes mais tóxicos estão o benzeno, tolueno e xileno. Estas substâncias apresentam considerável solubilidade em água, o que torna os organismos aquáticos mais vulneráveis, uma vez que absorvem estes contaminantes pelos tecidos, brânquias, por ingestão direta da água ou de alimento contaminado (GESAMP, 1993). Devido a todos esses problemas causados pelo lançamento inadequado dos efluentes oleosos nos corpos receptores, a legislação brasileira é extremamente exigente em relação aos parâmetros físicos, químicos e biológicos de descarte dos mesmos. Porém, a fiscalização dessas normas junto às indústrias é, por vezes, inversamente proporcional à alta exigência da legislação.

Entre as várias resoluções, leis e decretos existentes estão a resolução do CONAMA 09/93, que imprimi a proibição de quaisquer descartes de óleos usados em solos, águas superficiais, subterrâneas, no mar territorial e em sistemas de esgoto ou evacuação de águas residuais. Além de qualquer forma de eliminação de óleos usados que provoque contaminação atmosférica superior ao nível estabelecido na resolução 05/89 do CONAMA, que cita medidas para a proteção do ar atmosférico. Mesmo os resíduos derivados dos tratamentos de fluidos de corte usados ou contaminados são proibidos de serem dispostos no meio ambiente sem tratamento prévio, que assegure a eliminação das características tóxicas e poluentes dos mesmos.

Já na resolução do CONAMA nº 357/05 prevalece que, os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos corpos de água, após o devido tratamento e desde que obedeçam às condições, padrões e exigências dispostos na resolução. Alguns padrões dispostos nesta resolução são importantes se tratando de efluentes da indústria metal-mecânica. Como por exemplo, os limites de 20 mg/L para os óleos minerais, de 0,5 mg/L para os fenóis totais e os limites estabelecidos para os parâmetros inorgânicos. Todavia, a resolução do CONAMA nº 397/08 estabelece novos parâmetros inorgânicos e orgânicos para o lançamento de efluentes, além de estabelecer outra condição de temperatura para o mesmo, alterando estes parâmetros em relação a resolução nº357/05.

## 2.4. TRATAMENTOS DE EFLUENTES DA INDÚSTRIA METAL-MECÂNICA

Os tratamentos dos efluentes gerados pela indústria metal-mecânica são divididos em tratamentos físico-químicos e tratamento biológico (NUNES, 2001; LEE et al., 2000). Esses tratamentos têm como objetivo, tanto o descarte do efluente tratado em corpos receptores como seu reuso. Cada escolha depende da necessidade e disponibilidade econômica de cada indústria, visto que, normalmente o reuso do efluente tratado, inicialmente, é mais

dispendioso do que o descarte do mesmo. Porém, a longo prazo, o reuso se torna mais viável do ponto de vista econômico (FREITAS, 2002). Geralmente, o efluente industrial tratado, quando reusado, é direcionado para a jardinagem e limpeza de banheiros e pátios. Para tanto, é fundamental que haja a caracterização da qualidade desta água, para que a mesma tenha as características necessárias para cada tipo de reuso escolhido (MONTEIRO, 2006).

### 2.4.1. Tratamentos Físicos e Químicos

Os processos físicos e químicos são considerados tratamentos primários em um sistema de tratamento de efluente metal-mecânico, eles são responsáveis pela remoção de sólidos grosseiros e íons metálicos dos efluentes. Além de, geralmente, oxidarem vários compostos aumentando a biodegradabilidade dos mesmos. Essa transformação de compostos complexos em moléculas mais simples facilita um posterior tratamento biológico (DUTTA et al., 2001). Entre os principais processos físico-químicos utilizados pela indústria metal-mecânica esta a flotação, floculação, filtração por membranas e a precipitação química (NUNES, 2001; LEE et al., 2000; SCHUCH et al., 2000; RAVINA, 1993).

#### *2.4.1.1 Precipitação Química*

A utilização da precipitação química no sistema de tratamento das indústrias metais-mecânicas tem como objetivo principal a retirada de íons metálicos provenientes, em grande parte, dos cavacos (KURNIAWAN et al., 2006; OLIVEIRA, 2005). Os metais comumente encontrados neste tipo de efluente são zinco, cádmio, manganês, chumbo, entre outros (FUNGARO; IZIDORO; ALMEIDA, 2005; NASCIMENTO; HYPOLITO; RIBEIRO, 2006). Contudo, a concentração de cada metal específico pode variar muito de indústria para indústria, dependendo do processo de usinagem utilizado (PEREIRA NETO et al., 2008).

O processo de precipitação química é um sistema simples de ser executado e relativamente de baixo custo. Segundo Pereira Neto et al. (2008), esse processo consiste no ajuste de pH do efluente até que o meio esteja em condições propicias para uma baixa

solubilidade dos metais existentes no meio. Com uma baixa solubilidade, estes metais tendem a precipitar e esses precipitados formados, geralmente, são removidos e enviados para co-processamento.

Alguns autores relatam remoções satisfatórias de metais de efluentes do setor metal-mecânico utilizando o processo de precipitação química. Pereira Neto et al. (2008) realizaram o tratamento por precipitação química em um efluente metal-mecânico altamente ácido. Elevaram o pH do meio acima de 7 e alcançaram níveis de remoção eficazes para Fe, Zn, Al, Ni e Cu às concentrações exigidas pela legislação (CONAMA 357/05). Da mesma forma, Bresaola Jr. e Carrara (2000), realizaram a remoção de metais presentes em efluente da indústria metal-mecânica, ajustando o pH do mesmo na faixa de 7 a 11. E obtiveram uma remoção acima de 90 % de metais como Fe e Zn em pH 8.

Contudo, os processos de tratamento por precipitação química podem se tornar mais dispendiosos se os metais presentes no efluente precipitarem em pHs muito distintos. Outros processos utilizados no tratamento de efluentes oleosos como o metal-mecânico que, mesmo ainda pouco usados em escala industrial, vêm crescendo cada vez mais em pesquisas de escalas de bancada e piloto, são os chamados processos oxidativos avançados.

*2.4.1.2. Processos Oxidativos Avançados - POAs*

Os processos oxidativos avançados (POAs) são sistemas alternativos de tratamentos para efluentes contaminados com compostos resistentes aos tratamentos convencionais. Esses sistemas são, por definição, processos em que o principal agente oxidante corresponde ao radical hidroxila ($^{\bullet}OH$), o qual não é seletivo, e com isso promove a degradação, em maior ou menor escala, de grande parte dos compostos orgânicos, reagindo de $10^6$ a $10^{12}$ vezes mais rápido que oxidantes como o ozônio (DUTTA et al., 2001; MALATO et al., 2000; PERALTA-ZAMORA et.al., 1999). A Tabela 1 mostra o potencial de oxidação dos mais importantes agentes oxidantes utilizados.

**Tabela 1: Potencial de oxidação de diversos oxidantes.**

| Espécie Oxidante | Potencial de Oxidação (V) |
|---|---|
| Flúor | 3,03 |
| Radical Hidroxil ($HO^{\bullet}$) | 2,80 |
| Ozônio | 2,07 |
| Peróxido de Hidrogênio | 1,78 |
| Permanganato de Potássio | 1,68 |
| Dióxido de Cloro | 1,57 |
| Ác. hipocloroso | 1,49 |
| Cloro | 1,36 |
| Bromo | 1,09 |
| Iodo | 0,54 |

**Fonte: Modificado de Legrini, Oliveros e Braun (1993).**

Em função da sua elevada reatividade, o radical hidroxila deve ser gerado no próprio meio reacional. Com este objetivo, é possível recorrer a processos heterogêneos ou homogêneos, assistidos (ou não) por radiação ultravioleta (PÉREZ et al., 2001). Desta forma, diversos sistemas podem ser utilizados, dentre os quais os mais conhecidos são mostrados na Tabela 2 (POLEZI, 2003; MORAES, 2005).

**Tabela 2: Sistemas Típicos de Processos Oxidativos Avançados.**

| Sistemas Homogêneos | | Sistemas Heterogêneos | |
|---|---|---|---|
| **Com irradiação** | **Sem irradiação** | **Com irradiação** | **Sem irradiação** |
| $UV/H_2O_2$ | $H_2O_2/O_3$ | $UV/TiO_2$ | Eletro-fenton |
| $UV/O_3$ | $Fe^{+2}/H_2O_2$(Fenton) | $UV/TiO_2/H_2O_2$ | |
| Feixe de elétrons | | | |
| US | | | |
| $US/H_2O_2$ | | | |
| US/UV | | | |

**Fonte: Modificado de Moraes (2005).**

O processo que tem evoluido como uma excelente alternativa para tratamento de efluentes da indústria metal-mecânica é o sistema $UV/H_2O_2$, devido ao peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) apresentar ótima estabilidade térmica, disponibilidade comercial, infinita solubilidade em água e alto potencial de oxidação (VANDEVIVERE; BIANCHI; VERSTRAETE, 1998).

O mecanismo para se obter $HO^{\bullet}$ a partir de $H_2O_2$ caracteriza-se pela clivagem homolítica de uma molécula de peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$), envolvendo a quebra de uma

ligação sigma de elevada energia (O-O / 48,5 kcal/mol), resultando na formação de dois radicais hidroxilas (Equação 1). A energia requerida para a clivagem corresponde à irradiação ultravioleta com comprimento de onda da ordem de 254 nm (LEAHY; SHREVE, 2000).

**Equação 1**

$$\boldsymbol{H_2O_2 + hv\ (254mm) \rightarrow 2HO^{\bullet}}$$

Segundo Vandevivere, Bianchi e Verstraete (1998) a eficiência do processo de geração do radical hidroxila é dependente do pH e da concentração do substrato a ser tratado. Em geral, o excesso de peróxido de hidrogênio favorece a recombinação radical-radical, gerando novamente $H_2O_2$ (Equação 2) e reduzindo, consequentemente, a eficiência da reação. Por isso a concentração de $H_2O_2$ deve ser muito bem calculada para que não iniba as reações de oxidação.

**Equação 2**

$$\boldsymbol{HO^{\bullet} + HO^{\bullet} \rightarrow H_2O_2}$$

Existem muitos trabalhos associando a eficiência do tratamento de efluentes oleosos através do sistema UV/$H_2O_2$, contudo em efluentes contendo fluidos de corte, esses estudos são bem mais escassos (PERALTA-ZAMORA et.al., 1999; INCE, 1999; ADAMS; KUZHIKANNIL, 2000). Entretanto, mesmo para efluentes metais-mecânicos, para que o sistema UV/$H_2O_2$ seja eficaz alguns parâmetros precisam ser considerados, pois influênciam diretamente na oxidação de vários compostos presentes nos mesmos. Entre esses parâmetros estão, além da concentração de $H_2O_2$, a temperatura e o pH.

A temperatura do tratamento é importante visto que o aumento da mesma pode reduzir a concentração de $H_2O_2$. Santos et al. (2007) observaram que temperaturas próximas de 70 ºC podem reduzir até 25% do $H_2O_2$ no meio em tratamento. O pH é outro parâmetro que pode causar uma forte influência na eficácia oxidativa do $H_2O_2$. Behnajady, Modirshahla e Shokri (2004), observaram que a acidificação do meio de tratamento pode aumentar a concentração

de íons cloreto ($Cl^-$), geralmente presentes em efluentes oleosos, na solução. Estes íons no meio reacional reagem com o $HO^\bullet$ e produzem radicais iônicos inorgânicos com menor potencial de oxidação que o $HO^\bullet$, que consequentemente, interferem na eficácia de degradação dos compostos presentes na amostra em tratamento (KANG; LIAO; HUNG, 1999).

Apesar dos estudos com UV/$H_2O_2$ mostrarem resultados de extrema importância na degradação e mineralização de diversos compostos recalcitrantes e de caráter tóxico, sua utilização em escala piloto e industrial para tratar efluentes ainda é muito limitada (EPA, 1998). Essa limitação se dá geralmente pelo alto custo de tratamento principalmente devido ao consumo de energia e de agentes oxidantes utilizados e, portanto, esta técnica deve ser aplicada em casos de substâncias refratárias aos tratamentos biológicos, que são mais econômicos ( BRITTO; RANGEL, 2008). Porém, estudos estão sendo realizados afim de aminizar este problema, com trabalhos que buscam o aproveitamento da radiação solar (BANDALA et al., 2004; SARRIA; PÉRINGER; PULGARIN, 2003)

### 2.4.2. Tratamentos Biológicos

Os processos biológicos são considerados tratamentos secundários em um sistema de tratamento de efluente metal-mecânico. As técnicas de tratamento que aplicam os processos biológicos são denominadas de biorremediação, que por definição são sistemas que empregam microrganismos com potenciais metabólicos para remoção de poluentes em efluentes ou solos (PEREIRA; LEMOS, 2004). Esses tipos de tratamentos apresentam diversas vantagens, sendo a principal delas o baixo custo. Entretanto, são processos que usados de forma unitária dificilmente proporcionam a mineralização completa de poluentes, porém, quando combinados com outros métodos, tais como os físicos e químicos, geralmente possibilitam a eficiência total do tratamento (FEITKENHAUER; MULLER; MARKL, 2003; KAMBOUROVA et al., 2003).

Como citado anteriormente, é de grande importância que os tratamentos biológicos de efluentes industriais sejam realizados com microrganismos autóctones, pois esses já estão adaptados aos poluentes existentes no meio, o que aumenta a possibilidade de eficácia do processo. Geralmente, esses tratamentos são realizados com os microrganismos que se desenvolvem no próprio efluente, porém, é de grande valia que se aumente a concentração dos microrganismos que, quando testados, apresentem uma maior taxa de degradação dos compostos de interesse do efluente. Essa técnica de aumento é chamada de bioaumentação e, infelizmente, é pouco utilizada pelos sistemas de tratamentos dos efluentes nas indústrias de maneira geral. As indústrias geralmente resistem ao uso desta técnica por, inicialmente, acarretar mais um custo à linha de tratamento de efluentes. Porém, quando o processo de bioaumentação ocorre de maneira eficaz, o mesmo reduz o tempo de tratamento biológico dos efluentes, reduzindo desta forma os custos do processo (QUEISSADA et al., 2003; VAN DER GAST et al., 2003; VAN LIMBERGEN; TOP; VERSTRAETE, 1998).

Geralmente o tratamento biológico utilizando bioaumentação é otimizado quando há o tratamento químico integrado. Na maioria das vezes, o tratamento químico é realizado antes do biológico, pois aumenta a biodegradabilidade dos compostos, além de degradar compostos que seriam tóxicos ao tratamento biológico. Porém também pode ser usado como tratamento terciário ou de polimento, degradando compostos recalcitrantes do tratamento biológico (FERNANDEZ et al., 1999; NEYENS; BAEYENS, 2003). Um dos tratamentos químicos que geralmente são utilizados nessa integração é o POA. Contudo essa integração ocorre em maior número em estudos de bancada e piloto, sendo ainda pouco utilizada em escala industrial (GOGATE; PANDIT, 2004).

A integração destes sistemas de tratamento normalmente é mais eficaz quando o processo biológico é posterior ao oxidativo avançado, pois este último oxida moléculas complexas em moléculas menores tornando-as mais biodegradáveis (NEYENS; BAEYENS,

2003). Porém, vale ressaltar que, para que o tratamento integrado com sistema biológico e químico seja eficaz é necessário que o tratamento químico, quando pré-tratamento, não sintetize compostos tóxicos ou inibidores aos microrganismos do tratamento biológico posterior (VAN DER GAST et al., 2002). Como por exemplo, a produção de compostos fenólicos durante o tratamento químico de efluentes oleosos. Quando esses compostos fenólicos formados atingem o sistema de tratamento biológico podem inibir o desenvolvimento vários microrganismos presentes no sistema (ALNAIZY; AKGERMAN, 2000). Mais uma vez fica clara a importância de realizar o tratamento biológico com microrganismos autóctones do efluente a ser tratado. Pois os mesmos estão adaptados aos poluentes, como os compostos fenólicos, nele existentes. Entretanto, alguns microrganismos podem não ser inibidos por esses compostos, mas, ao mesmo tempo, não degradarem os mesmos, por isso é de suma importância que seja realizada a bioaumentação dos microrganismos autóctones que realmente degradem os compostos de interesse (QUEISSADA et al., 2003; VAN DER GAST et al., 2003).

Neste trabalho se estudou a caracterização de um efluente metal-mecânico e o isolamento de microrganismos autóctones do mesmo, para propiciar uma otimização do tratamento biológico utilizando a técnica de bioaumentação. Além da realização de um processo oxidativo avançado integrado com o biológico para o aumento da biodegradabilidade de compostos refratários.

## 3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

**1.** Realizar a caracterização físico-química da amostra de um efluente metal-mecânico.

**2.** Isolar microrganismos autóctones deste efluente.

**3.** Selecionar os microrganismos mais aptos para a degradação dos poluentes presentes no efluente visando a realização do tratamento em reator do tipo air-lift.

**4.** Identificar os microrganismos selecionados.

**5.** Realizar o tratamento biológico do efluente, com os microrganismos selecionados e com um microrganismo referência, em reator do tipo air-lift.

**6.** Realizar o tratamento oxidativo avançado do efluente através do sistema fotoquímico UV/$H_2O_2$.

**7.** Realizar o tratamento integrado do efluente por sistema UV/$H_2O_2$ seguido do tratamento biológico em reator do tipo air-lift.

# 4. METODOLOGIA

## 4.1. EFLUENTE UTILIZADO

Foi utilizado o efluente proveniente da etapa de desemulsificação por acidificação, realizado por uma indústria metal-mecânica da região do Vale do Paraíba. Esta etapa de desemulsificação foi realizada, pela indústria, para a remoção do excesso de óleo no efluente. Após a desemulsificação, a parte aquosa do efluente foi coletada de forma que o volume de amostragem retirado para os estudos fossem representativo do todo. O volume total de amostra foi de 40 L (dividido em dois frascos de 20 L). O volume de amostragem também foi desmembrado em alíquotas de 40 mL; 600 mL; 1,5 L e 3,5 L, armazenados em recipientes plásticos e estocados em uma câmara fria à –18ºC.

## 4.2. CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE METAL-MECÂNICO

### 4.2.1 Determinação de pH

O pH da amostra do efluente obtida foi determinado por pHmetro Analion – PM608.

### 4.2.2 Determinação de Cor

A cor foi medida de acordo com metodologia padrão CPPA (1975) modificada. Em todas as determinações, as amostras foram previamente centrifugadas por 15 min a 10.500 rpm e o pH ajustado para 7,6 com NaOH 1 mol/L. A absorbância da solução no espectro visível foi determinada em 465 nm contra água destilada em um espectrofotômetro UV/visível U2000 Hitachi. Os valores de absorbância foram transformados em miligramas de platina por litro (mg Pt/L) de acordo com a Equação 3.

**Equação 3**

$$\boldsymbol{Cor = 500\,\frac{A_2}{A_1}}$$

Onde:
$A_1$ = Absorbância de uma solução padrão de platina - cobalto de 500 mg Pt/L ($A_{465}$ = 0,132).
$A_2$ = Absorbância do efluente, medida em 465 nm.

### 4.2.3 Determinação de Peróxido de Hidrogênio ($H_2O_2$)

A concentração de peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) foi determinada de acordo com o procedimento adaptado de Oliveira et al. (2001), baseado na reação entre $H_2O_2$ e o íon metavanadato ($VO_3^-$). A reação leva à formação do íon peroxovanadato ($VO_3^+$), que absorve fortemente em 450 nm. As curvas de calibração foram elaboradas a partir de soluções aquosas de $H_2O_2$, verificando-se uma faixa linear de trabalho compreendida entre 5 e 200 mg/L. Para a determinação foi adicionada uma alíquota de 1 mL de amostra em 1 mL de solução de metavanadato de amônio ($NH_4VO_3$) sob agitação constante, e após 2 min de repouso foi realizada a leitura da absorbância à 450 nm em espectrofotômetro UV/visível U2000 Hitachi. A concentração de $H_2O_2$ da amostra foi obtida pela interpolação da absorbância, medida na amostra, na curva de calibração.

### 4.2.4 Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A determinação de DQO foi realizada de acordo com o método padrão APHA (1998). Em ampolas de vidro (volume de 20 mL; diâmetro 2,3 cm) foram adicionados 2,5 mL de amostra, 1,5 mL de solução digestora (10,12 g/L de dicromato de potássio; 33,3 g/L de sulfato de mercúrio II; 0,167 L/L (v/v) de $H_2SO_4$) e 3,5 mL de solução catalítica (5,5 g de $AgSO_4$ por kg de $H_2SO_4$ p.a.). Em seguida, as ampolas foram seladas com maçarico e acondicionadas em estufa a 150 $^oC$ por 2 h. Após esfriar, com a amostra ainda na ampola selada, foi realizada leitura de absortividade, no comprimento de onda de 600 nm, em um espectrofotômetro U-2000 Hitachi, adaptado. A concentração da demanda de $O_2$ da amostra, em mg/L, foi obtida a partir de uma curva de calibração que utilizou biftalato de potássio como padrão.

### 4.2.5 Determinação de Sólidos Totais (ST)

A concentração de sólidos totais no efluente foi determinada pelo método padrão APHA (1998). Um balão de fundo redondo de 125 mL foi colocado durante 1 h em estufa a 103 ± 2ºC e, em seguida, 30 min em dessecador, para posteriormente pesagem. Uma amostra de 100 ml do efluente foi adicionada ao balão, e concentrada a vácuo em rotavapor a 50 ± 1ºC e 107 ± 1 rpm, até a secagem. Após este período, o balão foi colocado novamente durante 1 h em estufa a 103 ± 2 ºC e 30 min em dessecador. Em seguida o mesmo foi pesado e, por gravimetria, determinou-se a concentração de sólidos totais (ST) conforme a Equação 4.

**Equação 4**

$$\boldsymbol{ST\left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{\left(P_f - P_i\right) \times 10^6}{V\,(mL)}}$$

Onde:
$P_f$ = Peso final do balão (gramas)
$P_i$ = Peso inicial do balão (gramas)

### 4.2.6 Determinação de Fenóis Totais (FT)

A quantidade de fenóis totais foi determinada colorimetricamente conforme o procedimento descrito por APHA (1998). O princípio do método é a reação entre os compostos fenólicos presentes na amostra e a solução de 4-aminoantipirina em pH 7,9 na presença de ferricianeto de potássio. Para tanto, adicionou-se 250 μL de solução de hidróxido de amônio (0,5 mol/L) às amostras contendo 10 mL de efluente. Em seguida, os pHs foram ajustados para 7,9 ± 0,1 pela adição de tampão fosfato de potássio (pH 6,8). Posteriormente, adicionou-se em cada uma das amostras 100 μL de solução 4-AAP (4-aminoantipirina) a 2% (p/v) e 100 μL de solução de ferricianeto de potássio a 8% (p/v). Deixou-se em repouso por 15 min, e em seguida, foram determinadas as absorbâncias espectrofotometricamente em 500 nm. Para o branco seguiu-se o mesmo procedimento, porém foi utilizada água destilada ao invés de efluente. Os resultados foram expressos em mg/L de fenol usando-se uma curva

de calibração, na faixa de 0,01 a 10 mg/L de fenol, obtida pelo mesmo procedimento acima e usando fenol como padrão.

### 4.2.7 Determinação de Óleos e Graxas (O&G)

Empregou-se o método descrito em APHA (1998). Separou-se 50 mL de amostra, e ajustou-se o pH para 1,0. Em um funil colocou-se um disco de musseline e um de papel de filtro nº40. Em seguida filtrou-se a amostra e, com auxílio de uma pinça, foram transferidos o disco de musseline e o papel de filtro para o cartucho de extração. Assim, o cartucho de extração foi acondicionado no extrator Soxhlet. A extração foi conduzida utilizando-se n-hexano como solvente, por 4 horas a uma velocidade de 20 ciclos por hora, obtendo-se um total de 80 ciclos. Após este período, o balão foi seco em banho maria a 70 ºC até a secura. Em seguida, o mesmo foi colocado por um tempo de 1 h em estufa a 103± 2 ºC e por 30 min em dessecador (esse mesmo procedimento foi realizado antes da extração e o balão foi pesado). Posteriormente o balão foi pesado e, por gravimetria, determinou-se o teor de óleos e graxas conforme a Equação 5.

**Equação 5**

$$\boldsymbol{O}\ \&\ G\ \left(\frac{\boldsymbol{mg}}{\boldsymbol{L}}\right) = \frac{(\boldsymbol{M_1} - \boldsymbol{M_2}) \times \mathbf{10^6}}{\boldsymbol{V}\ (\boldsymbol{mL})}$$

Onde:
$M_1$ = Peso do balão com resíduo (gramas)
$M_2$ = Peso do balão sem resíduo (gramas)

### 4.2.8 Determinação de Oxigênio Dissolvido (OD)

A determinação de oxigênio dissolvido no efluente foi realizada pelo método de Winkler e descrito em APHA (1998). Para tanto, o pH da amostra foi ajustado para 7 em seguida a mesma foi colocada em frascos de DBO enchendo-os até a borda sem formar bolhas. Foram adicionados 2 mL de solução de sulfato de manganês e 2 mL de solução de iodeto de potássio, em seguida os frascos foram tampados e agitados. Deixou-se os frascos em

repouso para a formação do precipitado, a seguir foi adicionado 2 mL de ácido sulfúrico concentrado (P.A) e os frascos foram agitados até a dissolução completa do precipitado. Posteriormente foram pipetados 100 mL da amostra para erlenmeyers de 250 mL, adicionados 2 mL de solução indicadora de amido e titulado imediatamente com solução de tiossulfato de sódio padrão (0,025 mol/L). O ponto final da titulação foi dado pelo primeiro desaparecimento da cor azul característica. Os valores de OD foram obtidos de acordo com a Equação 6.

**Equação 6**

$$\boldsymbol{OD}\left(\frac{\boldsymbol{mgO_2}}{\boldsymbol{L}}\right) = \frac{\boldsymbol{V_1} \times \boldsymbol{C} \times \mathbf{8.000}}{\boldsymbol{V_2}}$$

Onde: - $V_1$ é o volume (mL) da solução de tiossulfato de sódio.
- C é a concentração do tiossulfato de sódio.
- $V_2$ é o volume (mL) da amostra utilizada na detreminação.

### 4.2.9 Determinação da Condutividade Elétrica (Cond.E.)

A condutividade elétrica da amostra foi determinada através de medidor de condutividade de bancada Tecnopon modelo *m*CA-150.

### 4.2.10 Determinação de Íons Metálicos (IM)

A determinação dos íons metálicos (Cr, Mn, Zn, Co, Cu, Ag, As, Pb, Fe, Al, Cd e Hg) foi realizada no Laboratório de Absorção Atômica da Escola de Engenharia de Lorena e foi empregado o procedimento descrito em APHA (1998). Os íons metálicos foram determinados com o efluente na sua forma original em pH 1,7 e com seis diferentes pHs ajustados (6,5; 7,5; 8,5; 9,5; 10,5 e 11,5). Após os ajustes de pHs, as amostra foram deixadas em repouso por 3 h para total decantação dos íons metálicos e, em seguida, foi coletada a fase aquosa para a determinação dos metais totais presentes na mesma. A metodologia para a sua determinação consistiu em se evaporar, até quase secura, 25 mL de amostra. Em seguida, foram acrescentados 4 mL de $H_2SO_4$ concentrado e realizado a digestão até queima total de óleos e

gorduras existentes. Posteriormente foram adicionados lentamente 4 mL de $H_2O_2$ e 0,5 mL de HCl. As amostras foram avolumadas para 25 mL. Para análise de mercúrio (Hg) foi realizada a extração da amostra sem digestão com ditizona solubilizada em clorofórmio. Todas as amostras foram determinadas por espectrometria de absorção atômica, cujas leituras foram feitas em um espectrômetro de absorção atômica, marca PerkinElmer, modelo Aanalyst 800, com sistema integrado para operação chama e forno de grafite.

### 4.2.11 Determinação de Cloreto ($Cl^-$)

A determinação foi realizada segundo o Método de Morh, de acordo com a metodologia descrita em APHA (1998). Pipetou-se 100 mL de amostra em um erlenmeyer de 250 mL. Adicionou-se 1 mL da solução do indicador (cromato de potássio) e, em seguida, solução de nitrato de prata (0,01 mol/L) agitando o líquido constantemente, até que a cor vermelha formada pela adição de cada gota desaparecesse. A adição continuou até que ocorresse a mudança de cor para castanho-avermelhada (fraca) e esta cor persistisse após uma agitação forte (ponto final). Determinou-se uma correção de branco do indicador adicionando-se 1 mL do indicador a um volume de água destilada igual ao volume final da titulação realizada com a amostra. Adicionou-se então, a solução de nitrato de prata (0,01 mol/L) até que a cor do branco ficasse igual à da solução titulada. Após esse procedimento os resultados foram aplicados na Equação 7.

**Equação 7**

$$\boldsymbol{Cl^-}\left(\frac{\boldsymbol{mg}}{\boldsymbol{L}}\right) = \frac{(\boldsymbol{A}-\boldsymbol{B})\times\boldsymbol{C}\ \times\mathbf{35450}}{\boldsymbol{mL}\ (\boldsymbol{amostra})}$$

Onde:
A= mL titulados na amostra.
B= mL titulados no branco.
C= concentração do $AgNO_3$ (0,01 mol/L).

### 4.2.12 Determinação da Toxicidade Crônica

Para a determinação da toxicidade crônica utilizou-se a alga verde *Pseudokirchneriella subcaptata*, a determinação seguiu a metodologia NBR 12648/05 (ABNT, 2005). Com este método avaliou-se os efeitos tóxicos do efluente sobre o crescimento de uma cultura específica de algas, em fase exponencial de crescimento. Para tanto, a cultura foi exposta a pelo menos cinco diferentes concentrações do efluente estudado mais o controle, em triplicatas, por 96 h a 25 ± 2 ºC, com intensidade luminosa de 3500 lux e agitação de 130 rpm. Para o teste foram utilizados erlenmeyers de 250 mL, contendo um volume final de solução teste de 100 mL. Para cada teste de toxicidade foi realizado um ensaio preliminar para a definição das concentrações a serem utilizadas no ensaio definitivo, e com este, foi determinado o Fator de Toxicidade (FTox). O FTox equivaleu à maior diluição da amostra na qual se observou a inibição do crescimento algáceo superior a 20%. Para tanto utilizou-se como cálculo a porcentagem de inibição (Equação 8). Os resultados foram considerados válidos quando no término do ensaio, o crescimento da biomassa algácea média do controle foi pelo menos 100 vezes superior à biomassa inicial, para 96 h de exposição, e o coeficiente de variação da biomassa algácea das replicatas do controle foi menor ou igual a 20%.

**Equação 8**

$$\boldsymbol{IC}\ (\%) = \frac{\boldsymbol{Biomassa_{controle} - Biomassa_{amostra}}}{\boldsymbol{Biomassa_{controle}}}$$

## 4.3. ISOLAMENTO DOS MICRORGANISMOS AUTÓCTONES DO EFLUENTE

### 4.3.1 Isolamento de Bactérias e Fungos

O isolamento de bactérias e fungos foi realizado seguindo o processo de diluição em série em placas de petri (PELCZAR et al.,1997). Foram usados dois meios nutritivos diferentes: o meio Agar Nutriente (AN) incubado a 37ºC, para o isolamento das bactérias e o meio Batata Dextrose Agar (BDA) incubado a 28ºC, para o isolamento dos fungos. As

colônias que se desenvolveram durante o isolamento foram quantificadas, em unidades formadoras de colônia (UFC), e purificadas em tubos de ensaio contendo AN ou BDA.

## 4.4. SELEÇÃO DOS MICRORGANISMOS ISOLADOS DO EFLUENTE

Os tratamentos realizados com as amostras do efluente ocorreram em shacker (150 rpm) com as temperaturas de 15ºC, 25ºC e 45ºC e pHs 5,0; 7,0 e 9,0. Para isso os microrganismos foram repicados para tubos contendo o meio de cultura Batata Dextrose Agar (BDA) e incubados por 120 h, no escuro a 28 ºC. Após esse período, a cultura sofreu uma suspensão em água destilada e autoclavada. Em seguida as células foram quantificadas em Câmara de Neubauer, padronizando um volume contendo $10^8$ esporos. Cada alíquota da suspensão foi adicionada em erlenmeyers de 125 mL, contendo 65 mL de amostra bruta (sem diluição), em triplicata e com pH ajustado (5,0; 7,0 e 9,0). Os recipientes foram colocados em shacker e após 120 h de tratamento, os mesmos foram deixados em repouso por 24 h para total decantação do lodo. Após este período foi coletada a fase aquosa do efluente, e dela determinados pH, Cor e DQO.

## 4.5. IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS SELECIONADOS

A identificação dos microrganismos isolados foi realizada pelas características macro e micromorfológicas das colônias.

### 4.5.1 Identificação das Características Macromorfológicas

Para a observação das características macromorfológicas os isolados foram cultivados em meio BDA durante 7 dias a 25 ºC no escuro. Após esse período, foram analisadas as características da colônia com auxílio de microscópio estereoscópico (lupa). As chaves de identificação taxonômicas utilizadas foram as descritas por Barron (1972); Ellis (1977); e Domsch, Gams e Anderson (1980).

### 4.5.2 Identificação das Características Micromorfológicas

Para a observação das características micromorfológicas foi utilizado a técnica de microcultivo. Para este procedimento foi colocado sobre um bastão de vidro, contido em uma placa de Petri estéril, uma lâmina esterilizada, e sobre essa um cubo de meio BDA. O microrganismo foi então inoculado nos quatro lados do cubo e o mesmo foi recoberto por uma lamínula esterilizada. Adicionou-se dentro da placa um pedaço de papel filtro estéril, embebido em água destilada também estéril, para evitar a dessecação do meio de cultura durante o crescimento do microrganismo (Figura 2). Em seguida a placa foi tampada e deixada à temperatura de 25 ºC entre 7 e 10 dias, até que se observasse desenvolvimento de hifas.

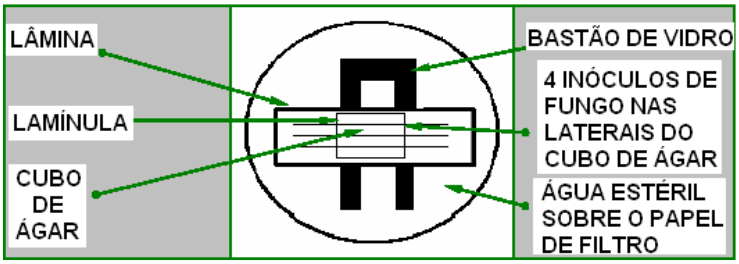


**Figura 2: Técnica para microcultivo de microrganismos.**

Após esse período, a esporulação foi inativada, adicionando 1 mL de formol ao papel filtro, e vedando a placa durante 48h. Posteriormente a lamínula e a lâmina foram retiradas da placa e adicionadas nas mesmas 2 gotas de álcool para a fixação das estruturas do microrganismo. Após a secagem do álcool foi pingada uma gota de corante azul de lactofenol-algodão (“C*otton Blue”*). Em seguida a lamínula foi montada sobre uma lâmina e na lâmina preparada foi montada uma lamínula. Ambas foram visualizadas em microscópio óptico com objetiva de 40 x, dando principal importância ao formato dos conídios (esporos). As chaves de identificação taxonômicas foram as mesmas utilizadas na observação das características macromorfológicas.

## 4.6. PRÉ-TRATAMENTO DO EFLUENTE POR PRECIPITAÇÃO QUÍMICA

Os ensaios de precipitação química foram realizados utilizando Hidróxido de Sódio (NaOH), em pérolas e em solução saturada, como agente precipitante. Em um becker de 1 L foram colocados 400 mL de efluente, em temperatura ambiente e agitado magneticamente. A agitação variou de 1800 a 2100 rpm, a agitação foi alta para que as pérolas de NaOH fossem dissolvidas por completo. Após a proximidade do pH desejado, o ajuste final foi realizado com NaOH em solução saturada. Além do tratamento realizado com o pH original da amostra (1,7), também foram realizados tratamentos com o pH ajustado para 6,5; 7,5; 8,5; 9,5; 10,5 e 11,5. Após a estabilização do sistema, em cada valor de pH, uma amostra de 30 mL foi coletada e deixada em repouso por 3 h para total sedimentação dos íons metálicos e, em seguida, foi retirada a fase aquosa para a determinação dos metais totais presentes na mesma.

## 4.7. BIOTRATAMENTO EM REATOR DO TIPO AIR-LIFT

Antes de ser realizado o biotratamento do efluente, o pH do mesmo foi ajustado para 7,5 e deixado em repouso durante 3 h, para a sedimentação de íons metálicos. Após esse tempo foi retirada a fase aquosa para ser tratada no reator do tipo air-lift.

Os tratamentos foram realizados com os microrganismos selecionados e *Aspergillus niger* como microrganismo de referência, além do tratamento sem inóculo (S/I) para a observação de uma possível oxidação dos compostos do efluente decorrente da oxigenação e fotólise. Para isso os microrganismos foram repicados para tubos contendo BDA e incubados por 120 h, no escuro a 28 ºC. Após esse período, a cultura sofreu uma suspensão com 10 mL de água destilada e autoclavada. Em seguida as células foram quantificadas em Câmara de Neubauer, padronizando um volume contendo $10^8$ esporos. Cada alíquota da suspensão foi adicionada em reator do tipo air-lift, contendo 350 mL de efluente bruto, em triplicata e com pH ajustado para 6,5. O tratamento ocorreu durante 7 dias, a 28 ºC e com uma vazão de ar,

previamente filtrada, de 80-90 mL/min, controlada por rotâmetro. Após o tratamento, o efluente foi deixado em repouso por 24 h, e a fase aquosa coletada para a determinação dos parâmetros pós-tratamento. Na Figura 3 está esquematizado o reator que foi utilizado neste experimento.

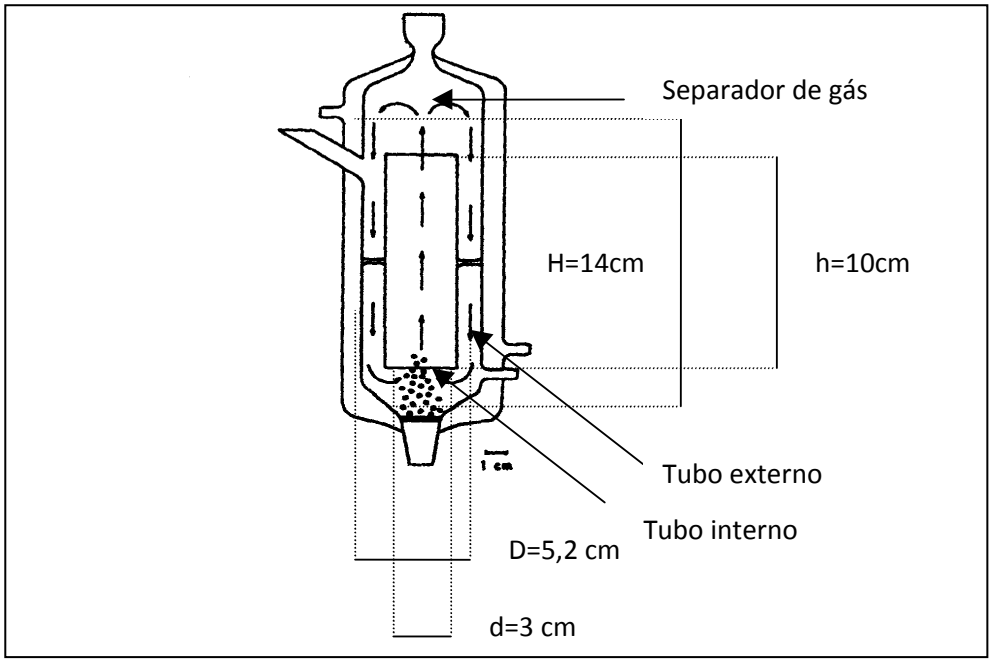


**Figura 3: Esquema do bioreator "air-lift".**

## 4.8. TRATAMENTO POR PROCESSO OXIDATIVO AVANÇADO (POA) – SISTEMA UV/$H_2O_2$

Todos os experimentos utilizando o sistema UV/ $H_2O_2$ foram realizados em um reator fotoquímico com capacidade de 0,5 L com camisa de refrigeração e operado em modo de batelada. A fonte de radiação foi uma lâmpada a vapor de mercúrio (125 W, sem o bulbo protetor), protegida por um bulbo de quartzo (Figura 4). Todos os tratamentos decorreram com uma agitação de 500 rpm, provida por um agitador magnético; 30 ºC, mantido pela camisa de refrigeração e oxigenação de 80 $mLO_2$/min.

O planejamento estatístico seguido foi o fatorial $2^2$ com duas repetições no ponto central. Sendo as variáveis e seus respectivos níveis, pH (7, 10 e 13) e concentração de peróxido de hidrogênio ([$H_2O_2$] = 500, 1000 e 1500 mg/L).

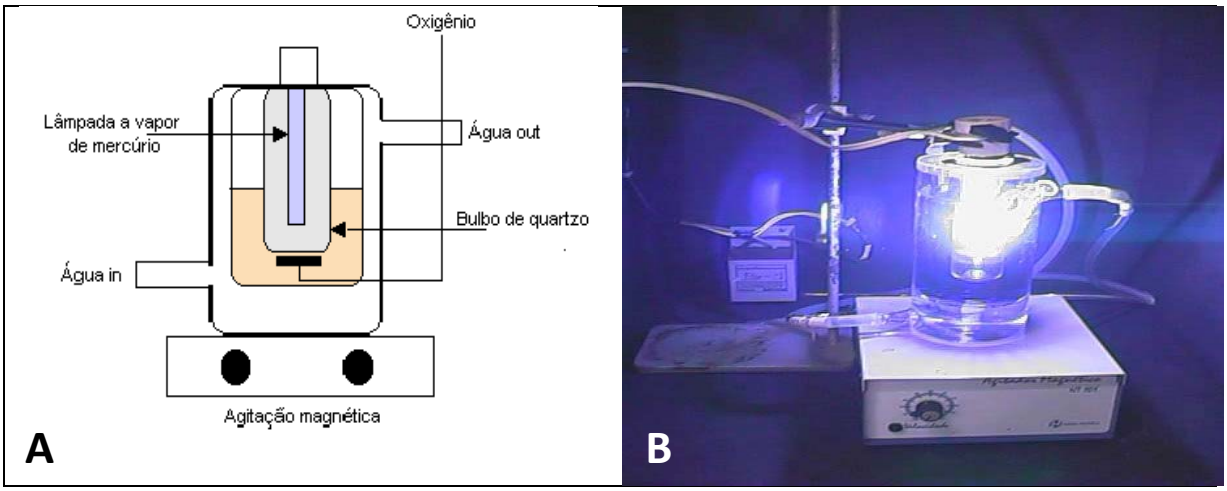


**Figura 4: (A) Representação esquemática do reator fotoquímico. (B) Reator fotoquímico em funcionamento.**

### 4.8.1 Tratamento utilizando alíquota única de $H_2O_2$

Este procedimento seguiu um planejamento fatorial $2^2$ com ponto central, através do software Minitab 15.1. Para tanto foram realizados os tratamentos nos pHs 7, 10 e 13 com as concentrações de peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) de 500, 1000 e 1500 mg/L. As alíquotas de $H_2O_2$ foram adicionadas no início de cada tratamento, em uma alíquota única, que correspondeu a cada [$H_2O_2$] desejada (500 mg/L = 0,76 mL; 1000 mg/L = 1,52 mL e 1500 mg/L = 2,28 mL). O tratamento decorreu até que a concentração de $H_2O_2$ se tornasse constante. A cada 30 min do tratamento foram coletadas amostras para as determinações de $H_2O_2$ e DQO.

### 4.8.2 Tratamento utilizando alíquota fracionada de $H_2O_2$

Esse procedimento foi realizado a fim de aperfeiçoar o tratamento no sistema UV/$H_2O_2$. Para tanto foram adicionadas alíquotas fracionadas de $H_2O_2$, para cada [$H_2O_2$] total desejada (500 mg/L = 3x0,25 mL; 1000 mg/L = 3x0,51 mL e 1500 mg/L = 3x0,76 mL). As alíquotas foram adicionadas nos tempos de 0, 0,5 e 1,5 h. O tratamento também ocorreu até a

constância na concentração de $H_2O_2$ e a cada 30 min do tratamento foram coletadas amostras para as determinações de $H_2O_2$, DQO e fenóis totais.

### 4.8.3 Tratamento UV/$H_2O_2$ otimizado

Após os tratamentos realizados conforme os itens 4.8.1. e 4.8.2., foi procedido o tratamento otimizado no sistema UV/$H_2O_2$. O tratamento foi realizado durante 1h, utilizando pH 7 e [$H_2O_2$] = 500 mg/L. A cada 15 min foram recolhidas alíquotas para as determinações de $H_2O_2$, DQO e fenóis totais.

## 4.9. TRATAMENTO POR PROCESSOS INTEGRADOS: POA (UV/$H_2O_2$) x BIOLÓGICO

Para o tratamento integrado do efluente foi realizado o tratamento oxidativo avançado no sistema UV/$H_2O_2$ conforme o item 4.8.3., em seguida coletou-se o efluente tratado e adicionou-se o mesmo em reator biológico do tipo air-lift, procedendo-se seu tratamento conforme o item 4.7. Após o tratamento biológico, o efluente foi deixado em repouso por 24 h, sua fase aquosa coletada, e da mesma, determinados os parâmetros de avaliação pós-tratamento integrado.

## 4.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

### 4.10.1 Correlação Linear de Pearson

Os resultados dos tratamentos do efluente para a seleção dos microrganismos foram analisados pelo teste de correlação linear de Pearson (Equação 9), utilizando o software SPSS (SPSS, 1996). O teste de correlação foi realizado entre Cor x Temperatura e DQO x Temperatura (em relação à mudança de pH) e Cor x pH e DQO x pH (em relação à mudança de temperatura).

**Equação 9**

Correlação Linear de Pearson (r).

$$r = \frac{N \sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{[N \sum X^2 - (\sum X)^2]\,[N \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

Onde:
N= número de pares dos dados apresentados.
X= valores de pH ou temperatura.
Y= valores de cor ou DQO.

### 4.10.2 Determinação dos Efeitos Principais e Combinados (Planejamento Fatorial $2^2$)

Os resultados dos tratamentos do efluente utilizando o sistema fotoquímico, UV/$H_2O_2$ foram analisados pelo software Minitab 15.1 (MINITAB, 2007) e assim, determinados os efeitos principais de cada varíavel utilizada nos experimentos (pH e $H_2O_2$) e o efeito combiando de ambas.

# 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 5.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EFLUENTE

Os resultados da caracterização físico-química da amostra do efluente estudado são apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3: Características físico – químicas da amostra do efluente sem tratamento.**

| PARÂMETROS | RESULTADOS | PADRÃO* |
|---|---|---|
| Temperatura | 25 ºC | < 40 ºC |
| pH | 1,7 ± 0,1 | 5 - 9 |
| Cor (mg Pt/L) | 1.495 ± 149 | 75 |
| DQO (mg / L)** | 9.147 ± 514 | |
| $H_2O_2$ (mg / L)** | 59 ± 1 | |
| ST (mg / L)** | 15.666 ± 1007 | |
| Fenóis Totais (mg / L) | 5,4 ± 0,4 | 0,5 |
| OD (mg / L) | 2,5 ± 0,2 | ≥ 5 |
| $Cl^-$ (mg / L) | 52 ± 4 | 250 |
| O&G (mg / L) | 887 ± 55 | 20 |
| Cond.E (µS / cm 20ºC)** | 20.740 ± 1 | |
| Tox. C. (FTox)** | 1667 | |
| Cr (mg/L) | 9,940 | 0,50 |
| Mn (mg/L) | 0,570 | 1,00 |
| Zn (mg/L) | 30,960 | 5,00 |
| Co (mg/L) | 0,081 | 0,05 |
| Cu (mg/L) | 0,317 | 1,00 |
| Ag (mg/L) | 0,160 | 0,10 |
| As (mg/L) | 0,018 | 0,50 |
| Pb (mg/L) | 0,146 | 0,50 |
| Fe (mg/L) | 7,850 | 15,00 |
| Al (mg/L) | 43,1000 | 0,10 |
| Cd (mg/L) | 0,001 | 0,20 |
| Hg (mg/L) | < 0,001 | 0,01 |

- valor não permitido pela legislação.
- valor permitido pela legislação.

* - limites estabelecidos pela resolução nº 357/05 do CONAMA.

** - limites não estabelecidos pela legislação estadual (SP) ou federal.

Os resultados indicaram se tratar de um efluente com um potencial altamente poluidor, pela elevada acidez (pH 1,7 ± 0,1) e coloração ( 1495 ± 149 mg Pt/L ). A coloração está associada a grupos cromóforos presentes na amostra do efluente e pode ser prejudicial no descarte desse efluente no corpo receptor, aumentando o bloqueio da luminosidade, o que consequentemente, prejudica a fotossíntese, além de dificultar a transferência de oxigênio

atmosférico para o meio ambiente aquático, reduzindo assim o oxigênio dissolvido no meio (CETESB, 2009).

A elevada DQO (9.147 ± 514 mg/L) pode ser atribuída à presença de um alto teor de matéria orgânica dissolvida. Vários autores descreveram em seus trabalhos que os efluentes da indústria metal-mecânica possuem valores altos de DQO. Cheng, Phipps e Alkhaddar (2006) determinaram uma DQO de 8.000 mg/L em um efluente metal-mecânico. Van der Gast e Thompson (2004) encontraram uma DQO de aproximadamente 10.000 mg/L, em uma amostra de efluente contendo fluido de corte. Já Monteiro (2006) caracterizou um efluente da indústria metal-mecânica semelhante ao estudado, e determinou uma DQO de aproximadamente 3.700 mg/L. Os efluentes oleosos, em geral, apresentam características complexas e altamente variáveis, sejam elas físicas, químicas ou biológicas e em seu processo de decomposição elevam a DQO reduzindo, desta forma, o OD, causando assim alterações prejudiciais aos ecossistemas aquáticos (CETESB, 2009).

Foi encontrado peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) em uma concentração de 59 ± 1 mg/L, cuja presença nesse tipo de efluente é comum, pois é utilizado como bactericida e fungicida nos óleos de corte, para evitar a contaminação dos trabalhadores por microrganismos patogênicos, além de aumentar a vida útil do fluido de corte (CANTER, 2008; PERES et al., 2008).

A quantidade de ST (15.666 ± 1007 mg/L) pode ser atribuída a presença de compostos orgânicos e inorgânicos no efluente. Muitos efluentes oleosos possuem como característica o alto nível de ST, que, se descartados nos corpos receptores, aumentam a turbidez da água e, consequentemente, a redução da atividade fotossintética do ambiente aquático (MOTA, 2003). Tessaro (2008) caracterizou um efluente metal-mecânico e determinou uma concentração de ST de 11.700 mg/L. Já Vieira et al.(2006) caracterizaram um efluente com alto nível de óleos e graxas e pH próximo de 2, e determinaram uma concentração de 26.000

mg/L de ST. Em outro trabalho, Vieira, Cammarota e Camporese (2003) encontraram em um efluente proveniente da produção de petróleo pH 6,5 e 18.444 mg/L de ST. Já Mohsen e Jaber (2002) caracterizaram vários tipos de efluentes industriais, e um dos níveis de ST mais elevados foi encontrado em um efluente oleoso proveniente de uma refinaria de petróleo chegando a 12.358 mg/L.

A alta concentração de fenóis totais determinada (5,4 ± 0,4 mg/L) é uma característica limitante desse efluente. Pois de acordo com a resolução 357/05 do CONAMA a concentração máxima permitida é de 0,5 mg/L. A toxicidade dos compostos fenólicos presentes em efluentes oleosos tem sido bastante estudada e está bem estabelecido que a presença destes contaminantes, em níveis de mg/L, prejudica significativamente o corpo receptor (GUERRA, 2001). Ademais, esses compostos ainda podem causar toxicidade aos microrganismos usados nos sistemas de tratamentos biológicos de efluentes oleosos (MISHRA; VIJAYKUMAR; JOSHI, 1995).

Os efluentes industriais, geralmente, contêm mais que um tipo de poluente fenólico, sendo que aqueles com estruturas mais complexas são, frequentemente, mais tóxicos que a molécula de fenol (ZHOU; FANG, 1997). Outra característica indesejável destes contaminantes é o fato de que os mesmos podem reagir com o cloro, produzindo clorofenóis e policlorofenóis, compostos carcinogênicos (COLARIETI; TOSCANO; GRECO JR, 2002).

A baixa concentração de OD (2,5 ± 0,2 $mgO_2/L$) está certamente relacionada a alta DQO que, consequentemente, diminui a concentração de OD, uma característica comum de efluentes oleosos. Ekundayo e Fodeke (2000) determinaram um OD de 5 mg/L em um tanque receptor de vários efluentes oleosos, entre eles de indústria metal-mecânica. Já Ferreira et al. (2000) encontraram em um efluente, sem tratamento, de uma refinaria de petróleo OD inferior a 1 mg/L, enquanto que Conceição et al.(2005) detectaram um nível de OD maior em um

efluente oleoso de refinaria, com aproximadamente 7 mg/L, mostrando assim que o nível de OD é muito variável devido aos diferentes efluentes oleosos gerados pelas indústrias.

A concentração de cloreto determinada no efluente foi baixa (52 ± 4 mg/L), sendo bem inferior ao limite estabelecido pela resolução do CONAMA (357/05), que é de 250 mg/L. Essa concentração também indicou que o íon cloreto não interfiriu em outras determinações, como por exemplo na DQO, já que o íon cloreto, em concentrações acima de 2.000 mg/L, pode interferir nessa determinação (APHA, 1998). Oenning Jr. (2006) caracterizou um efluente metal-mecânico tratado e determinou uma concentração de 44 mg/L de cloreto. Vieira, Cammarota e Camporese (2003) avaliaram um efluente oleoso da produção de petróleo e encontraram uma concentração de aproximadamente 9.000 mg/L de cloreto. De acordo com CIMM (2009), a concentração de íons cloreto em efluentes da indústria metal-mecânica tende a ser menor, pois a concentração eleveda do mesmo pode acarretar corrosão às peças metálicas.

Neste trabalho foi determinada também a concentração de O&G (887 ± 55 mg/L), os quais, segundo a metodologia no ítem 2.4.8., estão associados a substâncias solúveis em n-hexano. Estas substâncias compreendem os ácidos graxos, gorduras animais, sabões, graxas, óleos vegetais, ceras e óleos minerais (CETESB, 2009). Resultados semelhantes de concentração de O&G em efluente oleoso foram reportados na literatura. Damato, Sobrinho e Morita (1997) reportaram 871 mg/L de O&G em um efluente contendo fluido de corte. Em outro trabalho, Tessaro (2008) encontrou uma concentração de 9.942 mg/L de O&G em efluentes metais-mecânicos. Já Schoeman e Novhe (2007) trabalharam com um efluente semelhante, e determinaram uma concentração de 19.794 mg/L.

O valor da Cond.E encontrado foi muito elevado (20.740 ± 1 μS/cm) e deve estar associado à íons orgânicos e inorgânicos presentes na amostra, associados ao valor elevado de ST de 15.666 mg/L (SAMPAIO et al., 2007). Em um efluente oleoso de refinaria, Otokunefor

e Obiukwu (2005) encontraram uma condutividade de 1.179 μS/cm. Já Oenning Jr e Pawlowsky (2007) determinaram em um efluente metal-mecânico 1.050 μS/cm de condutividade e aproximadamente 2.000 mg/L de ST.

O alto valor de O&G e da coloração do efluente, como também, o baixo valor de OD e do pH levou a uma interpretação inicial de que esse efluente poderia ser altamente tóxico. E isso pôde ser confirmado através do resultado da toxicidade crônica com a alga verde *Pseudokirchneriella subcaptata* , que apresentou um fator de toxicidade (FTox) de 1.667. Geralmente as algas apresentam-se mais sensíveis que invertebrados e peixes em 50% dos casos em estudos de testes toxicológicos em efluentes industriais em geral (GEIS et al. ,2000, apud HARTMANN, 2004, p. 36). Monteiro (2006) observou um FTox de aproximadamente 1.300 realizando testes de toxicidade crônica com *P. subcaptata* de um efluente semelhante.

O efluente original apresentou concentrações de cromo (Cr), zinco (Zn), alumínio (Al), cobalto (Co) e prata (Ag) acima das permitidas pela resolução do CONAMA (357/05). Geralmente os efluentes da indústria metal-mecânica contêm altas concentrações de metais dissolvidos. Tessaro (2008) realizou o levantamento dos íons metálicos em um efluente metal-mecânico e encontrou concentrações acima das permitidas pela legislação para Zn e Al, cujos valores foram de 6 e 5 mg/L, respectivamente. Pereira Neto et al. (2008) determinaram altas concentrações de íons metálicos em um efluente metal-mecânico altamente ácido (pH 0,6), com 92000 mg/L de Fe, 70000 mg/L de Zn, 30 mg/L de Al. Costa, Schneider e Rubio (2000) também em um efluente metal-mecânico, determinaram uma concentração de 6 mg/L de Co, 6 mg/L de Zn e 4 mg/L de Fe. Assim, podemos observar que, a concentração específica de cada metal nos efluentes metais-mecânicos pode ter uma grande variação, e está associada com os processos de usinagem utilizados de indústria para indústria.

## 5.2. ISOLAMENTO DOS MICRORGANISMOS AUTÓCTONES DO EFLUENTE

O isolamento dos microrganismos autóctones do efluente foi feito com o objetivo de utilizá-los posteriormente no tratamento biológico do efluente. Pois, como já foi citado na revisão bibliográfica, é fundamental que o tratamento biológico do efluente seja realizado com os microrganismos autóctones (bioaumentação), por se encontrarem adaptados aos poluentes já existentes no meio (VAN DER GAST et al., 2003).

Para o isolamento dos microrganismos presentes na amostra do efluente foram utilizados dois meios de cultura (AN e BDA), conforme descrito no item 4.4. da metodologia.

Após 120 h de incubação, no meio contendo Agar Nutriente, não foi observado nenhum crescimento bacteriano, possivelmente devido ao baixo pH e a temperatura da amostra (25 ºC), que desfavorecem o desenvolvimento da maioria das bactérias, que são mais adaptadas à ambientes com pH entre 6,5 e 7,5 e temperaturas próximas de 37 ºC (PELCZAR *et al*., 1997). Contudo, nas placas contendo BDA foi constatada uma baixa quantidade de colônias de possíveis fungos filamentosos, com média de 4,34 unidades formadoras de colônia (UFC) por placa, porém com uma alta variedade, sendo observadas seis possíveis linhagens diferentes. As colônias purificadas foram denominadas FI, FII, FIII, FIV, FV e FVI e podem ser visualizadas na Figura 5.

Vários tipos de microrganismos podem estar presentes nos efluentes oleosos. A constituição dos mesmos depende do tipo de efluente onde se encontram. Bactérias, leveduras e fungos filamentosos são citados na literatura como agentes degradadores de uma ampla gama de substâncias orgânicas, comumente encontradas nos efluentes oleosos (HURURAY; PEREIRA JUNIOR; MARINS, 1998). Alguns gêneros de bactérias como *Pseudomonas, Bacillus, Acinetobacter, Achromobacter, Mycococcus, Flavobacterium* e *Geobacillus* são comumente encontrados em ambientes com óleo cru e seus derivados, como os fluidos de corte. Já os fungos mais encontrados nestes ambientes são dos gêneros *Cladosporium,*

*Aspergillus* e *Penicillium*. Além de leveduras como *Candida* e *Rhodotorula*. Porém, a sobrevivência e predominância destes microrganismos nestes ambientes oleosos depende de outros fatores como pH, temperatura e concentração oleosa (OLLIVIER; MAGOT, 2005; IWASHITA et al., 2004; BONCH-OSMOLOVSKAYA et al., 2003; BENTO; GAYLARDE, 2001; VEILLETTE et al., 2001).

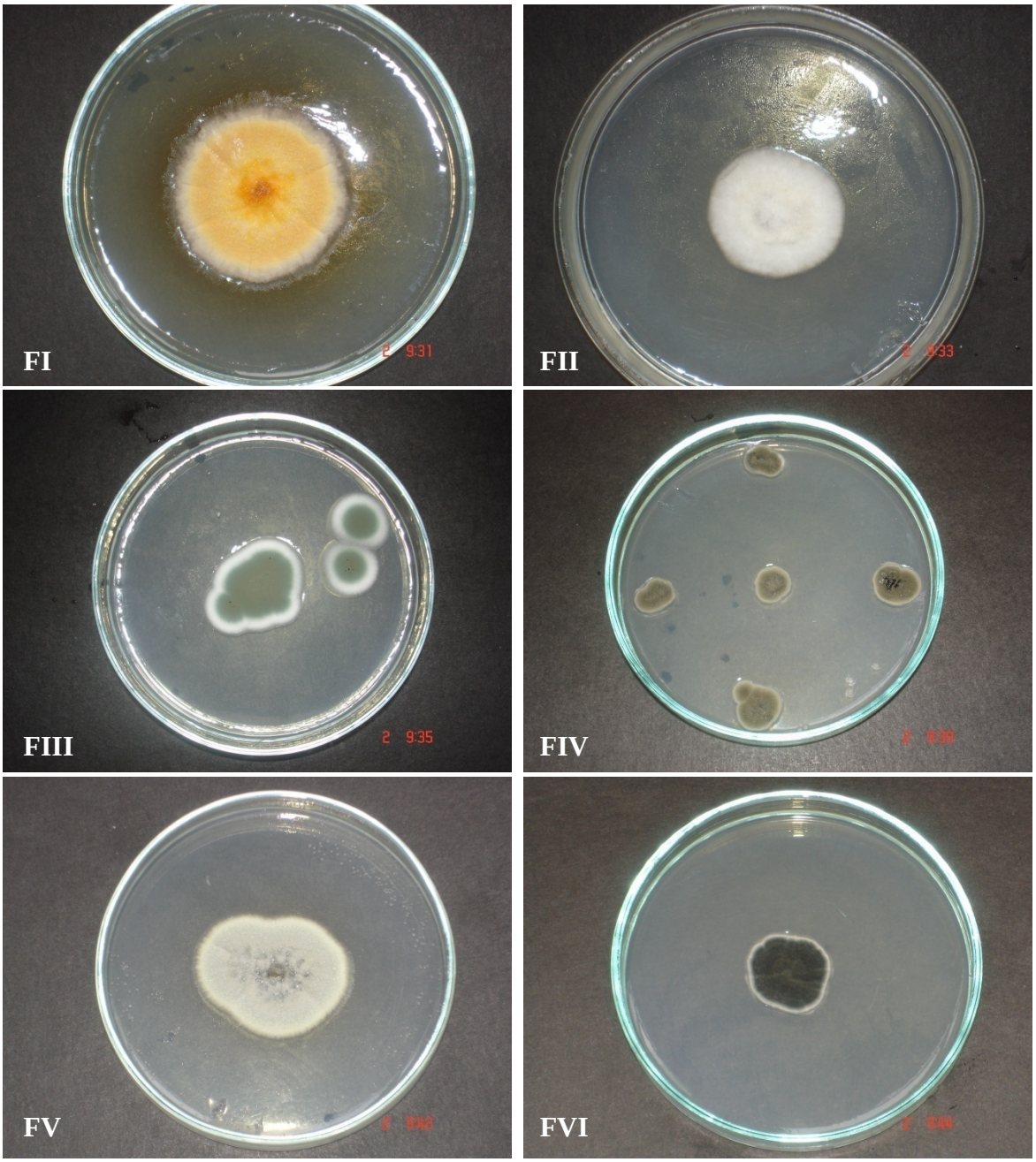


**Figura 5: Colônias isoladas e purificadas da amostra do efluente bruto (FI – FVI), crescimento em meio BDA durante 7 dias, em estufa a 28ºC.**

## 5.3. SELEÇÃO DOS MICRORGANISMOS ISOLADOS DO EFLUENTE

A seleção dos microrganismos isolados do efluente serviu para separar os microrganismos mais aptos para o tratamento biológico específico em reator do tipo air-lift. Este tipo de seleção é importante, pois alguns microrganismos que são isolados de efluentes, não são inibidos pelo mesmo em relação ao seu desenvolvimento e multiplicação, porém, eveltualmente, podem não degradar poluentes específicos deste efluente (QUEISSADA et al., 2003). Para selecionar os microrganismos foram realizados tratamentos com as amostras do efluente conforme item 4.5. da metodologia. O objetivo desse teste foi verificar quais microrganismos foram mais efetivos nas reduções de cor e DQO do efluente em estudo e, paralelamente, que sofreram menos interferência quando alteradas as condições de pH e temperatura.

Foram utilizados os microrganismos autóctones do efluente (FI, FII, FIII, FIV, FV e FVI), além do tratamento sem a adição de inóculo (S/I). Foi observado a influência da temperatura (15ºC, 25ºC e 45ºC) e do pH (5, 7 e 9) nos tratamentos. Os resultados obtidos nestes tratamentos são mostrados nas Tabelas 4, 5, 6 e 7. O resíduo produzido durante o tratamento foi congelado para posteriores pesquisas a cerca de tratamento de lodo residual. Esse lodo pode ser reciclado para diferentes objetivos, sendo que os pesquisados mais intensamentes, recentemente, são o uso em agricultura (DAYTON; BASTA, 2001; JANUÁRIO; FERREIRA FILHO, 2007) e a reciclagem para produção de materiais da construção civil (MORITA et al., 2002; HOPPEN et al., 2005).

Os resultados apresentados na Tabela 4 mostraram que, nos tratamentos realizados sem inóculo (S/I) em pH 5 ocorreu uma intensa redução na cor da amostra do efluente (94 ± 5 %) independentemente da temperatura utilizada. Como o tratamento foi realizado em shacker, na ausência de luminosidade e sem adição de oxigênio, a hipótese mais provável para a intensa redução de cor obtida pós-tratamento foi o ajuste de pH que culminou na formação

de precipitado. O precipitado possivelmente era constituído, entre outros, por compostos cromóforos. Outros compostos, como íons metálicos, também podem ter precipitado com o ajuste de pH, auxiliando na redução da coloração.

**Tabela 4: Redução de Cor e DQO da amostra do efluente estudado em 120 h de tratamento a 15 ºC, 25 ºC e 45 ºC em pHs 5, 7 e 9 sem inóculo (S/I).**

| Temperatura | pH | Cor (mg Pt/ L) | Redução (%) | DQO ($mgO_2$ / L) | Redução (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 15 ºC | 5 | 78 ± 2 | 95 ± 2 | 8356 ± 198 | 9 ± 1 |
| | 7 | 431 ± 13 | 71 ± 2 | 7895 ± 149 | 14 ± 1 |
| | 9 | 295 ± 4 | 80 ± 1 | 6995 ± 101 | 15 ± 1 |
| 25 ºC | 5 | 67 ± 2 | 95 ± 3 | 9147 ± 164 | 0 ± 1 |
| | 7 | 1495 ± 15 | 0 ± 1 | 9147 ± 179 | 0 ± 1 |
| | 9 | 715 ± 5 | 52 ± 1 | 7369 ± 197 | 19 ± 1 |
| 45 ºC | 5 | 98 ± 4 | 93 ± 4 | 8444 ± 56 | 8 ± 1 |
| | 7 | 309 ± 2 | 79 ± 1 | 7237 ± 66 | 21 ± 1 |
| | 9 | 1004 ± 8 | 33 ± 1 | 7742 ± 76 | 15 ± 1 |

Já nos tratamentos realizados em pH 7 e temperaturas de 15 ºC e 45 ºC a redução de cor foi menos intensa (75 ± 2 %). Na temperatura de 25 ºC e pH 7 não houve alteração na cor original da amostra. Entretanto, nos tratamentos realizados em pH 9 foi observado uma redução de 80 ± 1% quando a temperatura usada foi de 15 ºC. Ainda em pH 9, quando se utilizou as temperaturas de 25 ºC e 45 ºC, as reduções de cor foram de 52 ± 1% e 33 ± 1 %, respectivamente.

Em relação à redução de DQO após o tratamento os resultados mostraram que, nos tratamentos realizados na temperatura de 15 ºC quanto mais se elevou o pH mais intensa foi a redução de DQO. Isso também pode ser explicado pela formação do precipitado, constituído também por compostos orgânicos, devido o ajuste de pH.

Contudo, em 25 ºC a redução de DQO só ocorreu em pH 9 (19 ± 1%), não ocorrendo alterações quando utilizados os pHs 5 e7. Já quando foi utilizada a temperatura de 45 ºC a redução de DQO foi mais intensa em pH 7 (21 ± 1 %) do que em pH 9 (15 ± 1 %).

Os resultados obtidos nos tratamentos realizados com os microrganismos isolados, a 15 ºC e pHs 5, 7 e 9 são mostrados na Tabela 5.

**Tabela 5: Redução efetiva e total de Cor e DQO da amostra do efluente estudado em 120 h de tratamento a 15 ºC e pHs 5, 7 e 9.**

| Inóculo | $pH_i$ | $pH_f$ | Cor (mg Pt/L) | Redução Efetiva (%) | Redução Total (%) | DQO ($mgO_2$ / L) | Redução Efetiva (%) | Redução Total (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| FI | 5,0 | 5,1 ± 0,1 | 106 ± 7 | - 2 ± 2 * | 93 ± 6 | 5945 ± 64 | 26 ± 1 | 35 ± 1 |
| | 7,0 | 7,1 ± 0,2 | 78 ± 4 | 24 ± 2 | 95 ± 5 | 6205 ± 231 | 18 ± 1 | 32 ± 1 |
| | 9,0 | 9,0 ± 0,1 | 169 ± 16 | 9 ± 1 | 89 ± 8 | 6556 ± 99 | 4 ± 1 | 28 ± 1 |
| FII | 5,0 | 5,0 ± 0,1 | 24 ± 6 | 3 ± 2 | 98 ± 24 | 8510 ± 231 | 2 ± 1 | 7 ± 1 |
| | 7,0 | 6,7 ± 0,2 | 25 ± 2 | 27 ± 2 | 98 ± 8 | 8378 ± 38 | - 6 ± 1 * | 8 ± 1 |
| | 9,0 | 8,6 ± 0,3 | 38 ± 4 | 17 ± 1 | 97 ± 10 | 8203 ± 274 | - 14 ± 1 * | 10 ± 1 |
| FIII | 5,0 | 4,7 ± 0,1 | 170 ± 15 | - 6 ± 2 * | 89 ± 8 | 7237 ± 114 | 12 ± 1 | 21 ± 1 |
| | 7,0 | 7,0 ± 0,1 | 250 ± 3 | 12 ± 2 | 83 ± 1 | 6403 ± 38 | 16 ± 1 | 30 ± 1 |
| | 9,0 | 8,9 ± 0,1 | 1206 ± 183 | - 61 ± 12 * | 19 ± 3 | 5108 ± 38 | 20 ± 1 | 44 ± 1 |
| FIV | 5,0 | 4,7 ± 0,1 | 48 ± 2 | 2 ± 2 | 97 ± 4 | 7631 ± 138 | 8 ± 1 | 17 ± 1 |
| | 7,0 | 6,7 ± 0,1 | 63 ± 9 | 25 ± 2 | 96 ± 14 | 5700 ± 137 | 24 ± 1 | 38 ± 1 |
| | 9,0 | 9,0 ± 0,1 | 51 ± 2 | 17 ± 1 | 97 ± 4 | 8071 ± 137 | - 12 ± 1 * | 12 ± 1 |
| FV | 5,0 | 4,8 ± 0,1 | 33 ± 2 | 3 ± 2 | 98 ± 6 | 5459 ± 401 | 31 ± 1 | 40 ± 1 |
| | 7,0 | 6,7 ± 0,1 | 64 ± 4 | 25 ± 2 | 96 ± 6 | 6051 ± 367 | 20 ± 1 | 34 ± 1 |
| | 9,0 | 9,0 ± 0,1 | 33 ± 2 | 18 ± 1 | 98 ± 6 | 5868 ± 105 | 12 ± 1 | 36 ± 1 |
| FVI | 5,0 | 4,9 ± 0,1 | 43 ± 2 | 2 ± 2 | 97 ± 5 | 6556 ± 311 | 19 ± 1 | 28 ± 1 |
| | 7,0 | 6,7 ± 0,1 | 53 ± 3 | 25 ± 2 | 96 ± 5 | 5239 ± 38 | 29 ± 1 | 43 ± 1 |
| | 9,0 | 9,1 ± 0,1 | 39 ± 2 | 17 ± 1 | 97 ± 5 | 7720 ± 231 | - 8 ± 1 * | 16 ± 1 |

- **$pH_i$:** pH inicial. **$pH_f$:** pH final.
- **Redução Efetiva:** redução propiciada somente pela ação microbiana.
- **Redução Total:** redução propiciada pela ação microbiana e pelos ajustes de pH e temperatura.
- * aumento percentual.

Nos tratamentos realizados com os microrganismos, quando a temperatura utilizada foi de 15 ºC, o pH do meio não sofreu mudança significativa (Tabela 5).

Os tratamentos realizados em pH 5 mostraram que nenhum dos microrganismos testados conseguiram reduzir efetivamente a cor da amostra, isto pode ser visto comparando os tratamentos realizados sem inóculo a 15ºC (Tabela 4).

Em pH 7, para os tratamentos a 15ºC, foram obtidas as maiores taxas de remoção efetiva na cor da amostra do efluente, que foram em média de 25 ± 4%, exceto para FIII que reduziu em apenas 12 ± 2%.

Ainda a 15 ºC, quando o pH dos tratamentos foi elevado para 9 as reduções efetivas de cor voltaram a ser menos intensas. A maior redução efetiva de cor, nesse pH, foi obtida com o microrganismo FV (18 ± 1%). Já o microrganismo FIII elevou efetivamente a cor em 61 ± 12%.

A redução de DQO nos tratamentos a 15 ºC indicaram que as reduções efetivas mais intensas em pH 5 foram obtidas pelos fungos FV (31 ± 1%) e FI (26 ± 1%).

Em pH 7, os microrganismos que reduziram de forma mais efetiva a DQO da amostra foram FVI (29 ± 1%) e FIV (24 ± 1%). Para os tratamentos com os microrganismos FV e FI as reduções efetivas foram menos intensas do que em pH 5, sendo de 20% e 18%, respectivamente. Deepak, Anand e Bhargava (1994) realizaram biotratamento de efluente contendo fluido de corte utilizando temperatura de 15 ºC e pH 7. Os resultados obtidos por esses autores mostraram que houve uma redução, em média, de 26 % na DQO, o que está próximo aos resultados obtidos neste trabalho.

Em pH 9 todos os microrganismos, exceto FIII, produziram reduções efetivas menos intensas da DQO da amostra. Porém, FIII reduziu a DQO em 20 ± 1%. Já FII, FIV e FVI propiciaram um aumento da DQO em 14 ± 1%, 12 ± 1% e 8 ± 1%, respectivamente. Esse aumento da DQO também pode ser atribuído à formação de produtos microbianos solúveis formados durante o tratamento pelos microrganismos (MESQUITA, 2009; LIANG; LIU; SONG, 2007; AQUINO, 2003). Segundo Sheng e Yu (2006), esses produtos microbianos podem conter grandes quantidades de estruturas aromáticas e cadeias de gorduras insaturadas com vários tipos de grupos funcionais, sendo os principais componentes as proteínas e os carboidratos.

Comparando os resultados obtidos (Tabela 5) com os da literatura já citada, pode-se inferir que os microrganismos isolados são tipicamente psicrotolerantes, os quais se desenvolvem bem em baixas temperaturas. Esta adaptação é possível pelo aumento na proporção de lipídeos insaturados presentes na membrana desses microrganismos (NEDWELL, 1999).

Além disso, uma das características mais importantes nos fluidos de corte é a relação entre sua viscosidade e a temperatura ambiente. Quando há redução da temperatura o fluido de corte tende a ficar mais viscoso. Este aumento da viscosidade faz com que ocorra uma diminuição em relação à biodegradabilidade do mesmo (HAUS; GERMAN; JUNTER, 2000).

Por isso, tão importante quanto utilizar fluidos de corte que possuam uma relação baixa entre viscosidade, temperatura e biodegradabilidade, é obter microrganismos que consigam degradar estes fluidos em temperaturas baixas, independentemente de suas viscosidades.

Na Tabela 6 são apresentados os resultados obtidos com o tratamento biológico do efluente em temperatura de 25ºC e pHs 5, 7 e 9.

**Tabela 6: Redução efetiva e total de Cor e DQO da amostra do efluente estudado em 120 h de tratamento a 25 ºC e pHs 5, 7 e 9.**

| Inóculo | $pH_i$ | $pH_f$ | Cor (mg Pt/L) | Redução Efetiva (%) | Redução Total (%) | DQO ($mgO_2$ / L) | Redução Efetiva (%) | Redução Total (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| FI | 5,0 | 4,8 ± 0,1 | 66 ± 4 | 1 ± 3 | 96 ± 6 | 5569 ± 49 | 39 ± 1 | 39 ± 1 |
| | 7,0 | 7,0 ± 0,1 | 285 ± 25 | 81 ± 2 | 81 ± 7 | 6183 ± 66 | 32 ± 1 | 32 ± 1 |
| | 9,0 | 9,7 ± 0,1 | 177 ± 16 | 36 ± 1 | 88 ± 8 | 6600 ± 38 | 9 ± 1 | 28 ± 1 |
| FII | 5,0 | 4,7 ± 0,1 | 85 ± 6 | - 1 ± 3* | 94 ± 7 | 7566 ± 66 | 17 ± 1 | 17 ± 1 |
| | 7,0 | 7,0 ± 0,1 | 890 ± 4 | 41 ± 1 | 41 ± 1 | 8005 ± 76 | 12 ± 1 | 12 ± 1 |
| | 9,0 | 9,4 ± 0,1 | 145 ± 2 | 38 ± 1 | 90 ± 1 | 8181 ± 38 | - 8 ± 1* | 11 ± 1 |
| FIII | 5,0 | 2,4 ± 0,1 | 54 ± 4 | 1 ± 3 | 96 ± 7 | 7039 ± 66 | 23 ± 1 | 23 ± 1 |
| | 7,0 | 7,0 ± 0,1 | 1894 ± 24 | 27 ± 1 | 27 ± 1 | 7720 ± 38 | 16 ± 1 | 16 ± 1 |
| | 9,0 | 9,5 ± 0,1 | 157 ± 6 | 38 ± 1 | 90 ± 3 | 7083 ± 65 | 4 ± 1 | 23 ± 1 |
| FIV | 5,0 | 5,5 ± 0,1 | 44 ± 2 | 2 ± 3 | 97 ± 4 | 8751 ± 133 | 4 ± 1 | 4 ± 1 |
| | 7,0 | 7,2 ± 0,1 | 69 ± 6 | 95 ± 1 | 95 ± 8 | 7676 ± 101 | 16 ± 1 | 16 ± 1 |
| | 9,0 | 8,9 ± 0,1 | 58 ± 2 | 44 ± 1 | 96 ± 3 | 8751 ± 163 | - 15 ± 1* | 4 ± 1 |
| FV | 5,0 | 5,5 ± 0,1 | 51 ± 2 | 2 ± 3 | 97 ± 4 | 5656 ± 132 | 38 ± 1 | 38 ± 1 |
| | 7,0 | 7,2 ± 0,1 | 72 ± 3 | 95 ± 1 | 95 ± 4 | 5393 ± 198 | 41 ± 1 | 41 ± 1 |
| | 9,0 | 8,9 ± 0,1 | 410 ± 2 | 21 ± 1 | 73 ± 1 | 6995 ± 38 | 5 ± 1 | 24 ± 1 |
| FVI | 5,0 | 5,5 ± 0,1 | 54 ± 2 | 1 ± 3 | 96 ± 4 | 5942 ± 166 | 35 ± 1 | 35 ± 1 |
| | 7,0 | 7,2 ± 0,1 | 265 ± 13 | 82 ± 1 | 82 ± 4 | 6490 ± 176 | 29 ± 1 | 29 ± 1 |
| | 9,0 | 8,8 ± 0,1 | 1495 ± 19 | - 52 ± 1* | 0 ± 1 | 6732 ± 185 | 7 ± 1 | 26 ± 1 |

- **$pH_i$:** pH inicial. **$pH_f$:** pH final.
- **Redução Efetiva:** redução propiciada somente pela ação microbiana.
- **Redução Total:** redução propiciada pela ação microbiana e pelos ajustes de pH e temperatura.
- * aumento percentual.

Nos tratamentos realizados em 25 ºC o pH final do efluente tratado permaneceu inalterado significativamente, exceto quando o tratamento foi realizado com o microrganismo FIII em pH 5. Nestas condições o pH foi reduzido para 2,4 ± 1, o que indicou a formação de ácidos durante o processo.

Em pH 5 foi observado novamente que os microrganismos não foram eficazes na redução efetiva da cor da amostra.

Contudo, em pH 7 observou-se altas taxas de reduções de cor, quando os tratamentos foram efetuados com os microrganismos FV (95 ± 1%), FIV (95 ± 1%) e FI (81 ± 2%).

Ainda em relação à redução de cor da amostra a 25 ºC e pH 9, não foram obtidas reduções tão pronunciadas quanto as alcançadas em pH 7. Foram determinadas reduções de cor de 44 ± 1%, 36 ± 1% e 21 ± 1% com os microrganismos FIV, FI e FV, respectivamente. Entretanto, com o tratamento com o microrganismo FVI observou-se um aumento de cor (52 ± 1%).

A 25 ºC e pH 5 obteve-se reduções efetivas de DQO de 39 ± 1% e 38 ± 1% para os microrganismos FI e FV, respectivamente. Já, quando se ajustou o pH para 7 a redução efetiva da DQO utilizando FI foi menos intensa (32 ± 1%). Entretanto, com o microrganismo FV a redução efetiva foi um pouco maior (41 ± 1%). Resultados semelhantes foram obtidos por Connolly et al. (2006), que realizaram o tratamento biológico de um efluente metal-mecânico com consórcio microbiano a 28 ºC e pH 7, e obtiveram uma redução de 30 % na DQO, após 10 dias de tratamento. Da mesma forma Muszynski e Lebkowska (2005), trataram um efluente contendo fluido de corte com microrganismos autóctones, temperatura ambiente e pH 7, e obtiveram uma redução de 50 % da DQO após 120 h de tratamento.

Em pH 9 a 25 ºC observou-se uma forte queda nas taxas de redução da DQO. Em média, os microrganismos reduziram a DQO em apenas 6 ± 2%, ocorrendo ainda um aumento da mesma quando foram utilizados os microrganismos FII (8 ± 1%) e FIV (15 ± 1%). Em relação à redução de DQO, o comportamento dos microrganismos utilizados nos tratamentos a 25 ºC e 15 ºC foi semelhante.

Van der Gast e Thompson (2004) realizaram o tratamento biológico de um efluente contendo fluidos de corte durante duas semanas, em temperatura de 28 ºC e pHs entre 6-9. Após o período de tratamento, utilizando pH 6, os autores conseguiram uma redução de 75 % da DQO do efluente. Já nos pHs 7, 8 e 9, as reduções de DQO foram de 65 %, 58 % e 50 %, respectivamente. Porém, esses autores realizaram os tratamentos com aeração, o que, geralmente, propicia uma redução mais efetiva da DQO nos tratamentos biológicos com

microrganismos aeróbios. Contudo, os resultados obtidos por esses autores indicaram que o aumento do pH propiciou uma redução menos significativa na DQO da amostra tratada, o que vai de encontro a maioria dos resultados obtidos neste a 25ºC.

Na Tabela 7 são apresentados os resultados obtidos com o tratamento biológico do efluente em temperatura de 45ºC e pHs 5, 7 e 9.

**Tabela 7: Redução efetiva e total de Cor e DQO da amostra do efluente estudado em 120 h de tratamento a 45 °C e pHs 5, 7 e 9.**

| Inóculo | $pH_i$ | $pH_f$ | Cor (mg Pt/L) | Redução Efetiva (%) | Redução Total (%) | DQO ($mgO_2$ / L) | Redução Efetiva (%) | Redução Total (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| FI | 5,0 | 4,8 ± 0,1 | 56 ± 4 | 3 ± 4 | 96 ± 7 | 6139 ± 104 | 25 ± 1 | 33 ± 1 |
| | 7,0 | 7,1 ± 0,1 | 174 ± 5 | 9 ± 1 | 88 ± 3 | 6512 ± 93 | 8 ± 1 | 29 ± 1 |
| | 9,0 | 9,1 ± 0,1 | 174 ± 7 | 55 ± 1 | 88 ± 4 | 6710 ± 102 | 12 ± 1 | 27 ± 1 |
| FII | 5,0 | 4,2 ± 0,1 | 47 ± 6 | 4 ± 4 | 97 ± 12 | 8510 ± 47 | - 1 ± 1 | 7 ± 1 |
| | 7,0 | 8,4 ± 0,1 | 457 ± 12 | - 10 ± 2 | 69 ± 2 | 6183 ± 45 | 11 ± 1 | 32 ± 1 |
| | 9,0 | 9,9 ± 0,1 | 43 ± 2 | 64 ± 1 | 97 ± 5 | 6139 ± 38 | 18 ± 1 | 33 ± 1 |
| FIII | 5,0 | 4,3 ± 0,1 | 52 ± 2 | 3 ± 4 | 96 ± 4 | 6205 ± 38 | 24 ± 1 | 32 ± 1 |
| | 7,0 | 6,9 ± 0,1 | 326 ± 3 | - 1 ± 1 | 78 ± 1 | 6556 ± 38 | 7 ± 1 | 28 ± 1 |
| | 9,0 | 9,0 ± 0,1 | 664 ± 7 | 23 ± 1 | 56 ± 1 | 7720 ± 45 | 1 ± 1 | 16 ± 1 |
| FIV | 5,0 | 4,8 ± 0,1 | 106 ± 2 | 0 ± 4 | 93 ± 2 | 8795 ± 76 | - 4 ± 1 | 4 ± 1 |
| | 7,0 | 6,6 ± 0,1 | 309 ± 14 | 0 ± 1 | 79 ± 4 | 6842 ± 71 | 4 ± 1 | 25 ± 1 |
| | 9,0 | 8,6 ± 0,1 | 664 ± 17 | 23 ± 2 | 56 ± 1 | 7237 ± 66 | 6 ± 1 | 21 ± 1 |
| FV | 5,0 | 4,8 ± 0,1 | 43 ± 2 | 4 ± 4 | 97 ± 5 | 5656 ± 125 | 30 ± 1 | 38 ± 1 |
| | 7,0 | 6,7 ± 0,1 | 62 ± 2 | 17 ± 1 | 96 ± 3 | 5634 ± 137 | 17 ± 1 | 38 ± 1 |
| | 9,0 | 8,6 ± 0,1 | 72 ± 5 | 62 ± 1 | 95 ± 7 | 6710 ± 114 | 12 ± 1 | 27 ± 1 |
| FVI | 5,0 | 4,9 ± 0,1 | 59 ± 2 | 3 ± 4 | 96 ± 3 | 7237 ± 101 | 13 ± 1 | 21 ± 1 |
| | 7,0 | 6,6 ± 0,1 | 77 ± 2 | 16 ± 1 | 95 ± 2 | 6798 ± 128 | 5 ± 1 | 26 ± 1 |
| | 9,0 | 8,6 ± 0,1 | 186 ± 4 | 55 ± 1 | 88 ± 2 | 8181 ± 136 | - 4 ± 1 | 11 ± 1 |

- **$pH_i$:** pH inicial. **$pH_f$:** pH final.
- **Redução Efetiva:** redução propiciada somente pela ação microbiana.
- **Redução Total:** redução propiciada pela ação microbiana e pelos ajustes de pH e temperatura.
- * aumento percentual.

A 45 ºC não houve alteração significativa de pH após os tratamentos.

Em pH 5 não se observou, como nas outras temperaturas utilizadas (15 ºC e 25 ºC), uma redução significativa na coloração das amostras tratadas.

Porém, em pH 7 a 45º, diferentemente dos tratamentos realizados em 15 ºC e 25 ºC neste mesmo pH, foram alcançadas reduções efetivas intermediárias com os microrganismos FV (17 ± 1%) e FVI (16 ± 1%).

Em pH 9 foram obtidas as reduções efetivas mais intensas na coloração do efluente. Os microrganismos que produziram as reduções mais intensas foram FV (62 ± 1%), FI e FVI, ambos atingindo 55 ± 1% de redução.

A redução de DQO em pH 5, mais uma vez, foi a mais intensa entre os três pHs estudados (5, 7 e 9). Sendo que os microrganismos que mais reduziram a DQO neste pH foram FV (30 ± 1%) e FI (25 ± 1%).

Em pH 7 as reduções na DQO da amostra foram menos intensas, chegando a 17 ± 1% com o microrganismo FV e 8 ± 1% com FI. Cheng, Phipps e Alkhaddar (2006) realizaram o biotratamento de um efluente metal-mecânico a 45 ºC e pH neutro, porém, com oxigenação. Nessas condições obtiveram uma redução de 55 % da DQO original.

Em pH 9 também não foram obtidas reduções efetivas intensas na DQO da amostra tratada. Neste pH o microrganismo que obteve a maior redução foi FII (18 ± 1%).

Como já mencionado anteriormente, os experimentos realizados para a seleção dos microrganismos do efluente estudado tiveram como objetivo selecionar os mais capacitados, para o posterior tratamento biológico em sistema aerado (air-lift). Para tanto, além da redução de forma eficaz da cor e da DQO da amostra durante o tratamento, foi levado em consideração também a influência dos ajustes de temperatura e pH dos tratamentos nos microrganismos.

De acordo com os resultados observados nos tratamantos realizados (Tabelas 5, 6 e 7) os microrganismos do efluente estudado que se mostraram mais capacitados para o tratamento em sistema oxigenado (air-lift) foram FI e FV. Pois os mesmos produziram reduções significativas de cor em pH 7 (15 ºC e 25 ºC) e em pH 9 (45 ºC); e reduções significativas de DQO em pH 5, independetemente da temperatura. Ao mesmo tempo em que, em outros pHs e temperaturas, não produziram aumento nas concentrações tanto de cor como de DQO.

## 5.4. CORRELAÇÃO DE PEARSON

Em relação aos tratamentos realizados para a seleção dos microrganismos (Tabelas 5, 6 e 7) foi utilizada a Correlação Linear de Pearson entre Cor x Temperatura e DQO x

Temperatura (em relação à mudança de pH) e Cor x pH e DQO x pH (em relação à mudança de temperatura), para observar uma possível relação entre os resultados destes parâmetros pós-tratamento. Os resultados desta análise são observados na Tabela 8. Quando o coeficiente de correlação (r) está próximo do valor (1) indica que existe uma correlação positiva (diretamente proporcional) entre as variáveis. Porém quando (r) se aproxima mais de (-1) indica uma correlação negativa (inversamente proporcional). Já quando (r) está próximo de (0) indica que as duas variáveis não dependem linearmente uma da outra (TRIOLA, 1998).

**Tabela 8: Correlação Linear de Person entre os parâmetros de redução de Cor x Temperatura e redução de DQO x Temperatura (em relação à mudança de pH) e redução de Cor x pH e redução de DQO x pH (em relação à mudança de temperatura).**

| Microrganismos | pH | Correlação (r) Cor x Temp. | Correlação (r) DQO x Temp. | Temperatura (ºC) | Correlação (r) Cor x pH | Correlação (r) DQO x pH |
|---|---|---|---|---|---|---|
| FI | 5 | 0,953* | -0,251 | 15 | 0,421 | -0,988* |
| | 7 | -0,379 | -0,573 | 25 | 0,436 | -0,953* |
| | 9 | -0,958* | 0,945 | 45 | 0,914 | -0,731 |
| FII | 5 | 0,371 | -0,143 | 15 | 0,581 | -0,982* |
| | 7 | -0,824 | 0,723 | 25 | 0,832 | -0,954* |
| | 9 | 0,992* | 0,988* | 45 | 0,763 | 0,989* |
| FIII | 5 | 0,877 | 0,803 | 15 | -0,723 | 1,000* |
| | 7 | -0,623 | -0,957* | 25 | 0,973* | -0,992* |
| | 9 | 0,656 | -0,844 | 45 | 0,778 | -0,964* |
| FIV | 5 | -0,945 | -1,000* | 15 | 0,642 | -0,554 |
| | 7 | -0,432 | -0,997* | 25 | 0,451 | -0,616 |
| | 9 | 0,023 | 0,893 | 45 | 0,866 | 0,945 |
| FV | 5 | 0,655 | -0,298 | 15 | 0,667 | -0,996* |
| | 7 | -0,280 | -0,300 | 25 | 0,193 | -0,828 |
| | 9 | 0,963* | 0,189 | 45 | 0,953* | -0,969* |
| FVI | 5 | 0,655 | -0,441 | 15 | 0,642 | -0,705 |
| | 7 | -0,311 | -0,945 | 25 | -0,393 | -0,950* |
| | 9 | 0,521 | 0,070 | 45 | 0,961* | -0,999* |
| S/I | 5 | -0,890 | 0,089 | 15 | -0,611 | 0,983* |
| | 7 | 0,279 | 0,511 | 25 | -0,450 | 0,866 |
| | 9 | -0,957* | -0,982* | 45 | -0,956* | 0,579 |

*** Correlação Significativa ($\alpha$=0.05) S/I = sem inóculo.**

A Correlação Linear de Pearson, mostrou que existe uma correlação negativa significativa entre a redução de DQO e pH utilizando todos os microrganismos (exceto FIV), ou seja, quanto mais se elevou o pH menos intensa foi a redução de DQO. Isso provavelmente ocorreu devido a um metabolismo mais eficaz dos microrganismos em pH 5, partindo do pressuposto que se tratam de fungos filamentoso. Esse metabolismo mais eficaz possivelmente degradou maior quantidade de matéria orgânica.

Nas correlações entre as reduções de cor x Temperatura e cor x pH observou-se que, quando há uma correlação significativa, a mesma ocorre principalmente em pH 9 (variando as temperaturas) ou em 45 ºC (variando os pHs). Contudo, os demais resultados não mostraram nenhuma correlação significativa entre os parâmetros analisados.

El-bestawy, El-masry e El-adl (2005), trabalharam com a biodegradação de óleos e graxas, nos pHs 6,5; 7,0; 7,5 e 8,0, e nas temperaturas de 30 e 37 ºC, observaram pouca correlação entre a biodegradação destes compostos e os pHs testados. Porém, nesse mesmo trabalho, a relação entre a biodegradação e as temperaturas testadas foi mais intensa.

Além da correlação entre os parâmetros físicos e químicos, existe a correlação desses parâmetros com o meio oleoso onde ocorre as reações de biodegradação. Pyrchenkova et al. (2006), estudando o crescimento de diferentes microrganismos em dois meios oleosos, combustível diesel e óleo lubrificante, em diferentes temperaturas, observaram pouca correlação entre o meio contendo óleo e as diferentes temperaturas, porém, esta relação se intensificou quando o meio usado foi o combustível diesel.

## 5.5. IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS SELECIONADOS

Após a seleção dos microrganismos que obtiveram melhor desempenho na redução de cor e DQO do efluente, realizou-se a identificação dos mesmos. Para tanto, considerou-se as características macro e micromorfológicas das colônias crescidas em meio BDA. Os procedimentos para a identificação ocorreram no Instituto de Botânica de São Paulo (São Paulo-SP) e na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – Campus de Rio Claro (Unesp- Rio Claro). As características dos microrganismos selecionados (FI e FV) e suas identificações são apresentadas na Tabela 9.

**Tabela 9: Indentificação dos microrganismos selecionados segundo as características macro e micromorfológicas.**

| Características | Microrganismos | |
|---|---|---|
| | FI | FV |
| Cor da colônia | amarelo alaranjado | verde ou cinza |
| Borda (forma e cor) | regular e branca | regular e verde clara |
| Velocidade de crescimento | 1-5 dias | 5-10 dias |
| Pigmentação difusa | presente (amarelo alaranjado) | ausente |
| Textura | plumosa | aveludada |
| Conídio | - formação de conídios isolados e compactados (globosos ou piriformes)<br>-15-25 μm (diâmetro)<br>- formação de esporodóquios escuros | - conídio com formato elipsoidal, raramente globoso<br>- conídio < 5 μm (diâmetro) |
| **IDENTIFICAÇÃO** | ***Epicoccum nigrum*** | ***Cladosporium* sp.** |

Os microrganismos selecionados (FI e FV) foram identificados como *Epicoccum nigrum* (Figuras 6 e 7) e *Cladosporium* sp. (Figura 8).

O *Epicoccum nigrum* é um fungo cosmopolita, endofítico e com fase teleomorfa ainda desconhecida, isolado principalmente em folhas de plantas vivas ou em decomposição. Porém, a espécie ainda pode colonizar diversos substratos, podendo ser isolada em solos, animais e no ar (BRIDGE; SPOONER; ROBERTS, 2009; GUSMÃO; BASEIA, 2001; KIRK et al., 2001; GUSMÃO; GRANDI, 1997).

Geralmente, *E. nigrum* é considerado um fungo saprofítico, mas tornam-se parasita em plantas sob determinadas circunstâncias, como, por exemplo, com o empobrecimento de nutrientes no solo e, consequentemente, a redução da resistência imunológica da planta (WITTIG; JOHNSON; PSCHEIDT,1997). Isolados de *E. nigrum* ainda são utilizados para controle biológico de doenças fúngicas em plantas, frutos e hortaliças (LARENA; DE CAL; MELGAREJO, 2004; BHUIYAN et al., 2003; MÉNDEZ; MONDINO, 1999).

Trabalhos utilizando *E. nigrum* em meios aquosos como efluentes industriais ou domésticos são escassos, assim, poucos são encontrados na literatura. Pascual, Melgarejo e Magan (2002) observaram a sensibilidade do fungo *E. nigrum* frente a amostras aquosas

contendo soluto não iônico (glicerol) e iônico (NaCl), para futuro uso do mesmo como biocontrole em ambientes contendo esses compostos. Esses autores observaram que o fungo foi mais sensível ao soluto iônico (NaCl) do que ao não iônico (glicerol).

Enquanto que Thanh e Simard (1973) realizaram um tratamento de efluente doméstico com vários fungos, entre eles *E. nigrum*, e conseguiram uma redução da DQO de 27% utilizando este fungo durante 72 h em pH 5.

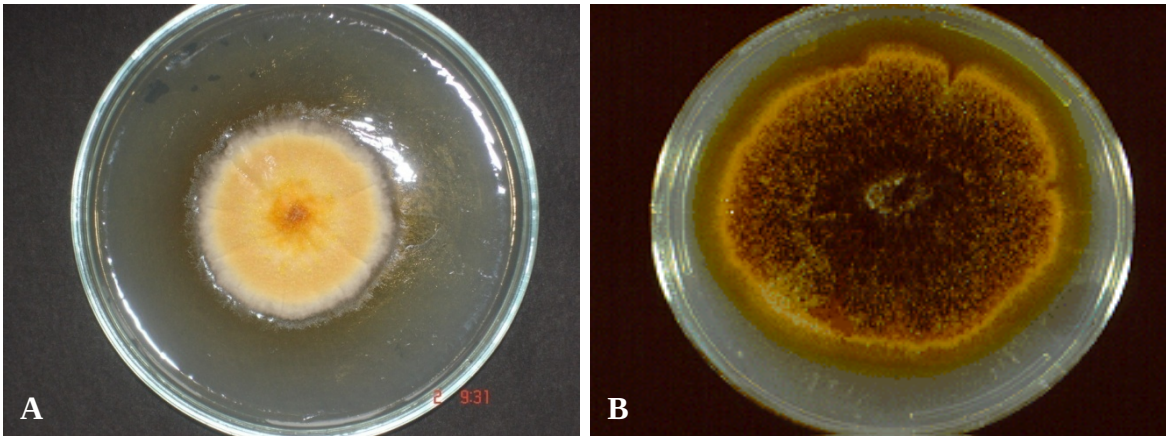


**Figura 6: Colônia de *E. nigrum* após 7 dias (A) e 20 dias (B) de crescimento em estufa a 28ºC.**

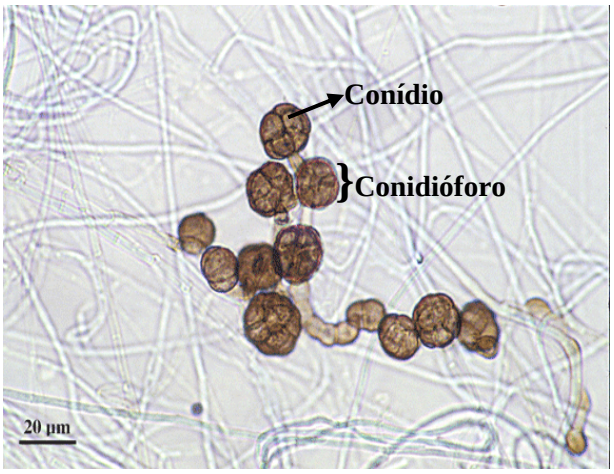


**Figura 7: Conídios e conidióforos de *E. nigrum* (Fonte: The University of Adelaide. Mycology Online, 2009).**

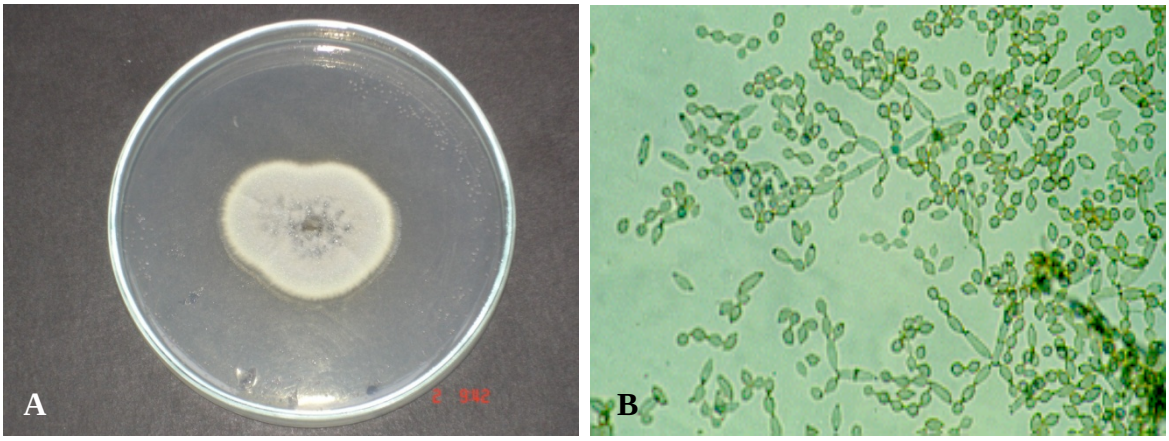


**Figura 8: (A) Colônia de *Cladosporium* sp. 10 dias de crescimento em estufa a 28ºC. (B) Conídios de *Cladosporium* sp. (Fonte: The University of Adelaide. Mycology Online, 2009).**

*Cladosporium* sp. também é considerado um fungo cosmopolita, por isso pode ser encontrado nos mais variados ambientes. Porém, seu uso para tratamento de efluentes já possui uma amplitude maior nas pesquisas realizadas nessa área. Comumente, *Cladosporium* sp. é capaz de degradar diversas tipologias de óleos e derivados, desta maneira, se torna corriqueiro o isolamento deste microrganismo em ambientes oleosos (POTIN; VEIGNIE; RAFIN, 2004). Morillo et al. (2008) isolaram o fungo *Cladosporium* sp. de efluente contendo óleo vegetal. Já Okpokwasili e Okorie (1988) isolaram esse mesmo microrganismo de óleo lubrificante. Enquanto que Ururahy (1998) isolou vários fungos de um efluente de refinaria de petróleo, entre eles *Cladosporium* sp.

Os efluentes oleosos, geralmente, são ambientes com condições extremamente difíceis para a sobrevivência da maioria dos microrganismos. Muitas vezes, esses microrganismos precisam se adaptar a extremas condições de pH, temperatura e compostos xenobióticos. Os fungos do gênero *Cladosporium* possuem essa capacidade de adaptação, e por isso, geralmente, estão presentes nesses ambientes extremos (CONCEIÇÃO et al., 2005; GOPINATH; ANBU; HILD, 2005).

## 5.6. PRÉ-TRATAMENTO DO EFLUENTE POR PRECIPITAÇÃO QUÍMICA

O objetivo deste tratamento foi a retirada de possíveis íons metálicos presentes na mesma.

Os íons metálicos foram determinados com o efluente bruto (pH 1,7) e após o seu ajuste para os seguintes pHs, 6,5; 7,5; 8,5; 9,5; 10,5 e 11,5. Os resultados são apresentados na Tabela 10.

**Tabela 10: Concentração de íons metálicos no efluente bruto com pH 1,7 e ajustado para os pHs 6,5; 7,5; 8,5; 9,5; 10,5 e 11,5.**

| | pH | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Metal (mg/L)** | **1,7** | **6,5** | **7,5** | **8,5** | **9,5** | **10,5** | **11,5** |
| **Cr** | 9,940 | 0,070 | 0,045 | 0,497 | 0,130 | 0,093 | 0,296 |
| **Mn** | 0,570 | 0,514 | 0,465 | 0,234 | 0,109 | 0,132 | 0,220 |
| **Zn** | 30,960 | 14,490 | 2,280 | 3,260 | 1,100 | 1,990 | 9,300 |
| **Co** | 0,081 | 0,037 | 0,029 | 0,061 | 0,076 | 0,055 | 0,031 |
| **Cu** | 0,317 | 0,078 | 0,093 | 0,051 | 0,137 | 0,166 | 0,206 |
| **Ag** | 0,160 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,111 | 0,153 | 0,160 |
| **As** | 0,018 | 0,014 | 0,008 | 0,013 | 0,008 | 0,003 | 0,012 |
| **Pb** | 0,146 | 0,003 | 0,006 | 0,008 | 0,005 | 0,005 | 0,006 |
| **Fe** | 7,850 | < 0,011 | 0,551 | 2,959 | 3,784 | 7,017 | 7,260 |
| **Al** | 43,100 | 0,860 | < 0,010 | 4,060 | 5,030 | 18,810 | 26,230 |
| **Cd** | 0,0008 | < 0,0001 | 0,0002 | 0,0001 | 0,0006 | 0,0004 | 0,0004 |
| **Hg** | < 0,001 | < 0,001 | < 0,001 | < 0,001 | < 0,001 | < 0,001 | < 0,001 |

- valor aceitável pela resolução nº 357/05 do CONAMA.
- valor acima do permitido pela legislação.
- pH onde o efluente se apresentou com todas as concentrações aceitáveis.

Conforme a Tabela 10, quando o pH do efluente foi ajustado para 7,5 todos os metais presentes em sua fase aquosa apresentaram concentrações permitidas pela legislação.

Os metais podem ser precipitados na forma de hidróxidos, sulfetos e complexos orgânicos. Porém, quando ocorre excesso do agente precipitante, como, por exemplo, NaOH, pode haver o aumento da solubilidade do metal. Isso ocorre devido à formação de íons complexos que podem se ligar com outros íons de carga oposta, ou com moléculas de água (VOGUEL, 1981).

Pereira Neto et al. (2008) ajustaram o pH de um efluente metal-mecânico, altamente ácido, para diferentes valores, e conseguiram remover de forma satisfatória os metais Fe, Zn, Al, Ni e Cu. Esses autores obtiveram concentrações permitidas pela legislação (resolução

CONAMA nº357/05) de todos os metais estudados em valores de pH superiores a 7,0. Já Bresaola Jr. e Carrara (2000) ajustaram o pH de um efluente da indústria metal-mecânica entre 7 a 11, e conseguiram uma remoção acima de 90 % dos íons metálicos Fe e Zn em pH 8 e com tempo de sedimentação de 1,5 h.

Após o ajuste de pH para 7,5 e a retirada dos íons metálicos por precipitação química, o pH do efluente foi ajustado em 6,5 para o tratamento biológico. Porém, com a precipitação química realizada, a fase aquosa dessa amostra de efluente apresentou suas características originais modificadas. Como o posterior tratamento biológico ocorreu com o efluente pré-tratado, foi necessária a caracterização do mesmo. Os resultados da caracterização da fase aquosa do efluente pós-precipitação química são descritos na Tabela 11.

**Tabela 11: Características físico–químicas da fase aquosa da amostra do efluente pós – precipitação química e redução (%) dos parâmetros em relação ao efluente original.**

| PARÂMETROS | RESULTADOS | Redução (%) | PADRÃO* |
|---|---|---|---|
| Temperatura | 25 ºC | - | ≤ 40 ºC |
| pH | 6,5 ± 0,1 | - | 5 - 9 |
| Cor (mg Pt/L) | 536 ± 4 | 64 ± 1 | 75 |
| DQO (mg / L)** | 6019 ± 165 | 34 ± 2 | |
| $H_2O_2$ (mg / L)** | 5,3 ± 0,1 | 91 ± 1 | |
| ST (mg / L)** | 13091 ± 1060 | 16 ± 6 | |
| Fenóis Totais-FT (mg / L) | 4,6 ± 0,2 | 15 ± 4 | 0,5 |
| OD (mg / L) | 3,7 ± 0,2 | 48 ± 8*** | ≥ 5 |
| O&G (mg / L) | 600 ± 57 | 32 ± 6 | 20 |
| Cond.E (µS / cm 20ºC)** | 15550 ± 21 | 25 ± 1 | |
| Tox. C. (FT) ** | 588 | 65 | |

- valor não permitido pela legislação.
- valor permitido pela legislação.

* - limites estabelecidos pela resolução nº 357/05 do CONAMA.
** - limites não estabelecidos pela legislação estadual (SP) e federal.
*** - aumento percentual.

Comparando os resultados da Tabela 3 com os apresentados na Tabela 11, através do tratamento do efluente por precipitação química foram obtidas reduções de 64 ± 1 % na cor e de 34 ± 2% na DQO. Observou-se também uma redução significativa, de 91 ± 1%, na concentração de $H_2O_2$. Entretanto, os ST tiveram uma redução de 16 ± 6%, assim como os fenóis totais que sofreram redução de apenas 15 ± 4%. A concentração de óleos e graxas (O&G) e a condutividade elétrica (Cond. E) foram reduzidos em 32 ± 6% e 25 ± 1%,

respectivamente. Houve aumento do oxigênio dissolvido (OD) de 48 ± 8%. Já a toxicidade crônica apresentou um fator de toxicidade (FTox) de 588 que equivaleu a 65% de redução da toxicidade crônica em relação ao efluente bruto.

Com esses resultados podemos sustentar que, o tratamento por precipitação química, além de remover os íons metálicos de forma satisfatória, também propiciou a redução de todos os outros parâmetros do efluente, e o aumento do OD. Porém este tipo de tratamento ainda não foi totalmente eficaz, pois as concentrações de cor, fenóis totais (FT), OD e O&G continuaram acima das permitidas pela legislação.

## 5.7. BIOTRATAMENTO EM REATOR DO TIPO AIR-LIFT

Esta etapa do trabalho envolveu o tratamento com os microrganismos selecionados (*E. nigrum* e *Cladosporium* sp.) e *A. niger*, usado como referência, utilizando o efluente pré-tratado por precipitação química. Foi realizado também o tratamento sem adição de inóculo (S/I) para se observar uma possível contribuição na oxidação de compostos devido a fotólise e a aeração no sistema de tratamento.

O objetivo dessa parte do estudo foi verificar o organismo mais eficaz na bioremediação do efluente de fluido de corte, utilizando um sistema oxigenado (air-lift). As vantagens quanto ao uso do reator tipo "air-lift" são a simplicidade do equipamento, facilitando assim seu manuseio, a diminuição de cisalhamento das células, evitando o rompimento das mesmas, boa mistura e a melhor assepsia nas longas operações, devido à eliminação da haste do agitador mecânico (GOUVEIA; HOKKA; BADINO, 2000).

Os tratamentos foram realizados durante 7 dias, contendo 350 mL de efluente pré-tratado com pH ajustado para 6,5 e temperatura de 28 ºC. Os resultados destes tratamentos estão expostos nas Tabelas 12 e 13.

**Tabela 12: Parâmetros pós-tratamento em bioreator air-lift do efluente sem adição de inóculo (S/I).**

| Parâmetros pós - tratamento | Valor | Redução (%)** |
|---|---|---|
| pH | 6,4 ± 0,1 | 2 ± 2 |
| Cor (mg Pt/L) | 482 ± 15 | 10 ± 2 |
| DQO (mg/L) | 5955 ± 54 | 1 ± 1 |
| $H_2O_2$ (mg/L) | 0,9 ± 0,1 | 82 ± 2 |
| ST (mg/L) | 12991 ± 95 | 1 ± 1 |
| FT (mg/L) | 4,4 ± 0,2 | 4 ± 4 |
| OD (mg/L) | 8,2 ± 0,1 | 121 ± 3* |
| O&G (mg/L) | 585 ± 18 | 3 ± 2 |
| Cond.E (μS/cm) | 13410 ± 95 | 14 ± 1 |
| Tox. C. (FT) | 575 | 2 |

* - aumento percentual
** - reduções calculadas em relação ao efluente pré - tratado por precipitação química.

O tratamento sem inóculo (S/I) reduziu o $H_2O_2$ em 82 ± 2% e aumentou o OD em 121 ± 3%. O consumo de $H_2O_2$ possivelmente foi propiciado pela fotólise do mesmo, em decorrência da luminosiodade natural que o reator recebeu durante o tratamento. Já o aumento do oxigênio dissolvido na amostra após o tratamento já era esperado pela adição do mesmo durante o processo, além de um possível aumento através da decomposição de $H_2O_2$ (SUZNJEVIC et al., 1997). O tratamento sem inóculo ainda reduziu em 10 ± 2% a cor da amostra e em 14 ± 1% a condutividade elétrica (Cond.E), essas reduções podem ter ocorrido pela destruição de grupos cromóforos e/ou mineralização de compostos orgânicos, respectivamente, por radicais hidroxilas formados pela possivel decomposição do $H_2O_2$ (MATTOS et al., 2003). Entretanto, em relação aos outros parâmetros determinados após o tratamento o sistema sem inóculo não acarretou uma influência significativa.

Na Tabela 13 são apresentados os resultados obtidos com o tratamento biológico do efluente em reator air-lift com os fungos autóctones do efluente (*E. nigrum* e *Cladosporium* sp.) e o fungo de referência *A. niger*.

**Tabela 13: Parâmetros pós-tratamento em bioreator air-lift do efluente com os microrganismos *A. niger, E. nigrum, Cladosporium* sp. e tratamento sem inóculo (S/I).**

| Parâmetros pós tratamento | Microrganismos | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *A. niger* | | | *E. nigrum* | | | *Cladosporium sp.* | | |
| | Valor | Redução Efetiva (%) | Redução Total (%) | Valor | Redução Efetiva (%) | Redução Total (%) | Valor | Redução Efetiva (%) | Redução Total (%) |
| pH | 7,3 ± 0,1 | 10 ± 2* | 12 ± 1* | 7,3 ± 0,1 | 10 ± 2* | 12 ± 1* | 6,9 ± 0,1 | 4 ± 2* | 6 ± 1* |
| Cor (mg Pt/L) | 117 ± 5 | 68 ± 4 | 78 ± 3 | 117 ± 5 | 68 ± 4 | 78 ± 3 | 71 ± 3 | 77 ± 4 | 87 ± 4 |
| DQO (mg/L) | 4701 ± 150 | 21 ± 1 | 22 ± 1 | 4397 ± 175 | 26 ± 1 | 27 ± 1 | 5442 ± 140 | 9 ± 1 | 10 ± 1 |
| $H_2O_2$ (mg/L) | 0,8 ± 0,1 | 2 ± 1 | 84 ± 2 | 0,3 ± 0,1 | 12 ± 3 | 94 ± 2 | 0,5 ± 0,1 | 8 ± 3 | 90 ± 2 |
| ST (mg/L) | 11905 ± 80 | 8 ± 1 | 9 ± 1 | 9720 ± 80 | 25 ± 1 | 26 ± 1 | 11715 ± 83 | 10 ± 1 | 11 ± 1 |
| FT (mg/L) | 2,6 ± 0,1 | 39 ± 4 | 43 ± 2 | 1,7 ± 0,1 | 59 ± 4 | 63 ± 2 | 2,4 ± 0,1 | 44 ± 4 | 48 ± 2 |
| OD (mg/L) | 8,0 ± 0,2 | 5 ± 2 | 116 ± 5* | 7,8 ± 0,3 | 10 ± 2 | 111 ± 8* | 7,6 ± 0,1 | 16 ± 4 | 105 ± 3* |
| O&G ( mg/L) | 530 ± 15 | 9 ± 4 | 12 ± 3 | 340 ± 10 | 40 ± 2 | 43 ± 1 | 405 ± 15 | 30 ± 4 | 33 ± 3 |
| Cond.E (µS/cm) | 10490 ± 25 | 19 ± 1 | 33 ± 1 | 8715 ± 177 | 30 ± 1 | 44 ± 1 | 12035 ± 265 | 8 ± 1 | 22 ± 1 |
| Tox. C. (FT) | 526 | 9 | 11 | 295 | 48 | 50 | 312 | 45 | 47 |

* aumento percentual.

Com o tratamento do efluente em reator air-lift observou-se que o pH aumentou efetivamente, em média 8 ± 3% após o tratamento. Esse aumento de pH pode estar associado à decomposição de ácidos graxos, presentes na amostra, pela ação enzimática dos fungos (MENDES et al., 2005).

A redução efetiva de cor foi semelhante para os três fungos. Utilizando o fungo *Cladosporium* sp. a redução foi de 77 ± 4%, enquanto que para *E. nigrum* e *A. niger* foi de 68 ± 4%.

Já a redução efetiva de DQO foi mais significativa quando o efluente foi tratado com o microrganismo *E. nigrum*, chegando a 26 ± 1% de redução. Já utilizando o fungo de referência *A. niger* essa redução foi menor, alcançando 21 ± 1%. Van der Merwe, Badenhorst e Britz (2005) estudaram o tratamento biológico de um efluente oleoso, com pH próximo de 5,5 e temperatura de 30 ºC. Porém, esses autores inocularam o efluente com um consórsio fúngico, e conseguiram uma redução máxima de 51 % da DQO.

A redução efetiva mais intensa de $H_2O_2$ foi utilizando o fungo *E. nigrum* (12 ± 3%). Enquanto que *A. niger* praticamente não interferiu na redução deste parâmetro.

O fungo *E. nigrum* também foi o microrganismo que propiciou a maior redução efetiva na concentração de ST (25 ± 1%), contra 8 ± 1% para o tratamento com *A. niger*.

Em todos os tratamentos realizados com os microrganismos autóctones do efluente foram alcançadas reduções acima de 40% na concentração de fenóis totais (FT). O microrganismo *E. nigrum* foi o que ocasionou a maior redução (59 ± 4%), contra 44 ± 4% e 39 ± 4% alcançado com os fungos *Cladosporium* sp. e *A. niger*, respectivamente.

Foi observado que no tratamento sem inóculo houve acréscimo de OD, possivelmente devido à adição do mesmo durante o tratamento. Porém, levando em consideração o tratamento com os microrganimos inoculados, observou-se que os mesmos, ao final do tratamento, reduziram a concentração de OD na amostra. O tratamento realizado com o fungo *Cladosporium* sp. foi o que obteve maior consumo efetivo de oxigênio, reduzindo a concentração do mesmo em 16 ± 4%. Já quando o tratamento foi realizado com os fungos *E. nigrum* e *A. niger* o OD do efluente reduziu efetivamente em 10 ± 2% e 5 ± 2%, respectivamente.

Os tratamentos realizados com os microrganismos autóctones do efluente também foram mas eficazes na redução de O&G do que o tratamento que utilizou o fungo de referência *A. niger*. Utilizando *E. nigrum* e *Cladosporium* sp. as reduções efetivas foram de 40 ± 1% e 30 ± 4, respectivamente. Já com o fungo *A. niger* a redução efetiva foi de apenas 9 ± 4%.

Tano-Debrah et al. (1999) trataram uma amostra de efluente oleoso, durante 7 dias, a 30 ºC e pH 7, com a inoculação de $5x10^8$ esporos/mL de diferentes microrganismos (sem identificação) e obtiveram 86% de degradação de O&G, aumentando o OD da amostra em 30 % e diminuindo sua DQO em 60 %.

Em relação a redução da Cond.E., o microrganismo mais eficaz também foi *E. nigrum*, que reduziu efetivamente o parâmetro em 30 ± 1%. Já *A. niger* reduziu a condutividade em 19 ± 1%.

*E. nigrum* e *Cladosporium* sp. também reduziram efetivamente de forma mais significativa a toxicidade crônica (Tox. C) do efluente do que o microrganismo de referência *A. niger*. Enquanto que *E. nigrum* e *Cladosporium* sp. reduziram efetivamente a Tox.C em 48% e 45%, respectivamente, *A. niger* alcançou uma redução efetiva de 9%. Foi observado que as reduções efetivas da toxicidade crônica alcançadas pelos três fungos testados (*A. niger*: 9%, *E. nigrum*: 48% e *Cladosporium* sp.: 45%), são semelhantes quando comparadas com as reduções efetivas de óleos e graxas propiciadas pelos mesmos (9 ± 4%, 40 ± 2% e 30 ± 4%). Por isso, a concentração de óleos e graxas do efluente pode ser, juntamente com os metais, um dos principas fatores que determina a toxicidade crônica do mesmo.

Na Tabela 14 é observado a contribuição de cada tratamento (precipitação químca e biológico) nas reduções dos parâmetros em relação ao efluente bruto.

**Tabela 14: Contribuições nas reduções dos parâmetros pós-precipitação química e pós-biotratamento (air-lift) em relação ao efluente bruto.**

| Parâmetros pós-tratamento | Tratamento | | Redução Total (%) |
|---|---|---|---|
| | Precipitação Química | Biotratamento (melhor resultado) | |
| | Redução (%) | Redução (%) | |
| **Cor** | 64 ± 1 | 31 ± 4 | 95 ± 4 |
| **DQO** | 34 ± 2 | 18 ± 1 | 52 ± 2 |
| **$H_2O_2$** | 91 ± 1 | 8 ± 2 | 99 ± 2 |
| **ST** | 16 ± 6 | 22 ± 1 | 38 ± 6 |
| **FT** | 15 ± 4 | 54 ± 2 | 69 ± 4 |
| **OD** | 48 ± 8* | 172 ± 5* | 220 ± 11* |
| **O&G** | 32 ± 6 | 30 ± 1 | 62 ± 6 |
| **Cond.E** | 25 ± 1 | 33 ± 1 | 58 ± 1 |
| **Tox. C** | 65 | 17 | 82 |

- utilizando *E. nigrum*.
- utilizando *Cladosporium* sp.
- utilizando *A. niger*.

* - aumento percentual

Foi observado que houve uma maior contribuição do tratamento por precipitação química para a redução da cor (64 ± 1%), DQO (34 ± 2%), $H_2O_2$ (91 ± 1%), O&G (32 ± 6%) e Tox.C (65%). Entretanto, o tratamento biológico foi mais eficaz para a redução de ST (22 ± 1%), fenóis totais (54 ± 2%), Cond. E (33 ± 1%), além de aumentar de forma mais significativa o OD (172 ± 5%).

Menores reduções de cor, DQO e O&G, utilizando o tratamento biológico, podem ter ocorrido por se tratar de um processo realizado com a inoculação de esporos dos respectivos microrganismos (*A. niger*, *E. nigrum* e *Cladosporium* sp.) e não com a inoculação de massa micelial desenvolvida. O método de inoculação de esporos para o tratamento biológico em reator air-lift foi escolhido por se tratar de uma metodologia que propicia uma maior exatidão em relação a quantidade de inóculo de cada microrganismo utilizado. Desta maneira, a comparação dos microrganismos para a escolha do mais eficaz no tratamento se torna mais válida.

## 5.8. TRATAMENTO POR PROCESSO OXIDATIVO AVANÇADO (POA) – SISTEMA UV/$H_2O_2$

Esta etapa do trabalho foi realizada para comparar a eficácia do tratamento fotoquímico com o biológico no efluente metal-mecânico estudado. Contudo, este tipo de tratamento também foi utilizado antes do processo biológico (tratamentos integrados), pois, ocasionalmente, o mesmo aumenta a biodegradabilidade do efluente, com isso facilitando a ação metabólica dos microrganismos no tratamento biológico posterior.

O processo de tratamento fotoquímico pelo sistema UV/$H_2O_2$ tem se mostrado como uma excelente alternativa para tratamento de efluentes oleosos, devido ao peróxido hidrogênio ($H_2O_2$) apresentar ótima estabilidade térmica, disponibilidade comercial, infinita

solubilidade em água e alto potencial de oxidação (VANDEVIVERE; BIANCHI; VERSTRAETE, 1998).

### 5.8.1 Tratamento utilizando alíquota única de $H_2O_2$

Este procedimento seguiu um planejamento fatorial $2^2$ com ponto central. Foram realizados os tratamentos nos pHs 7, 10 e 13 com as concentrações de $H_2O_2$ de 500, 1000 e 1500 mg/L. Os resultados alcançados no fim de cada tratamento são apresentados na Tabela 15.

**Tabela 15: Reduções dos parâmetros pós – tratamento com sistema UV/$H_2O_2$ utilizando alíquota única de $H_2O_2$.**

| Variáveis | Níveis | | |
|---|---|---|---|
| | - | ● | + |
| pH | 7 | 10 | 13 |
| $H_2O_2$ (mg/L) | 500 | 1000 | 1500 |

| Experimentos (3 h de tratamento) | Variáveis | | $H_2O_2$ Redução (%) | DQO Redução (%) |
|---|---|---|---|---|
| | pH | $H_2O_2$ | | |
| 1 | - | - | 99 | 45 |
| 2 | - | + | 99 | 28 |
| 3 | + | - | 97 | 15 |
| 4 | + | + | 99 | 21 |
| 5 | ● | ● | 97 | 32 |
| 6 | ● | ● | 98 | 25 |

**Efeitos principais** - pH: -18,50 ± 0,02 e $H_2O_2$: -5,50 ± 0,02
**Efeitos combinados** - pH x $H_2O_2$: 11,50 ± 0,02
***** os efeitos foram analisados em relação à redução de DQO.

Foi observado que em todos os tratamentos praticamente todo o $H_2O_2$ foi consumido. Isto é de suma importância, já que o resíduo de $H_2O_2$ pode ser tóxico para os microrganismos presentes em um posterior tratamento biológico ou mesmo para o descarte deste efluente em corpos receptores (MATTOS et al., 2003). A melhor redução de DQO (45%) foi obtida utilizando-se pH 7 e [$H_2O_2$] de 500 mg/L.

Durante os tratamentos com sistema UV/$H_2O_2$ também foi observada a cinética de redução de $H_2O_2$ e DQO. Para tanto, a cada 30 min de tratamento foram coletadas amostras para as determinações dos mesmos, e esses resultados são apresentados na Figura 9.

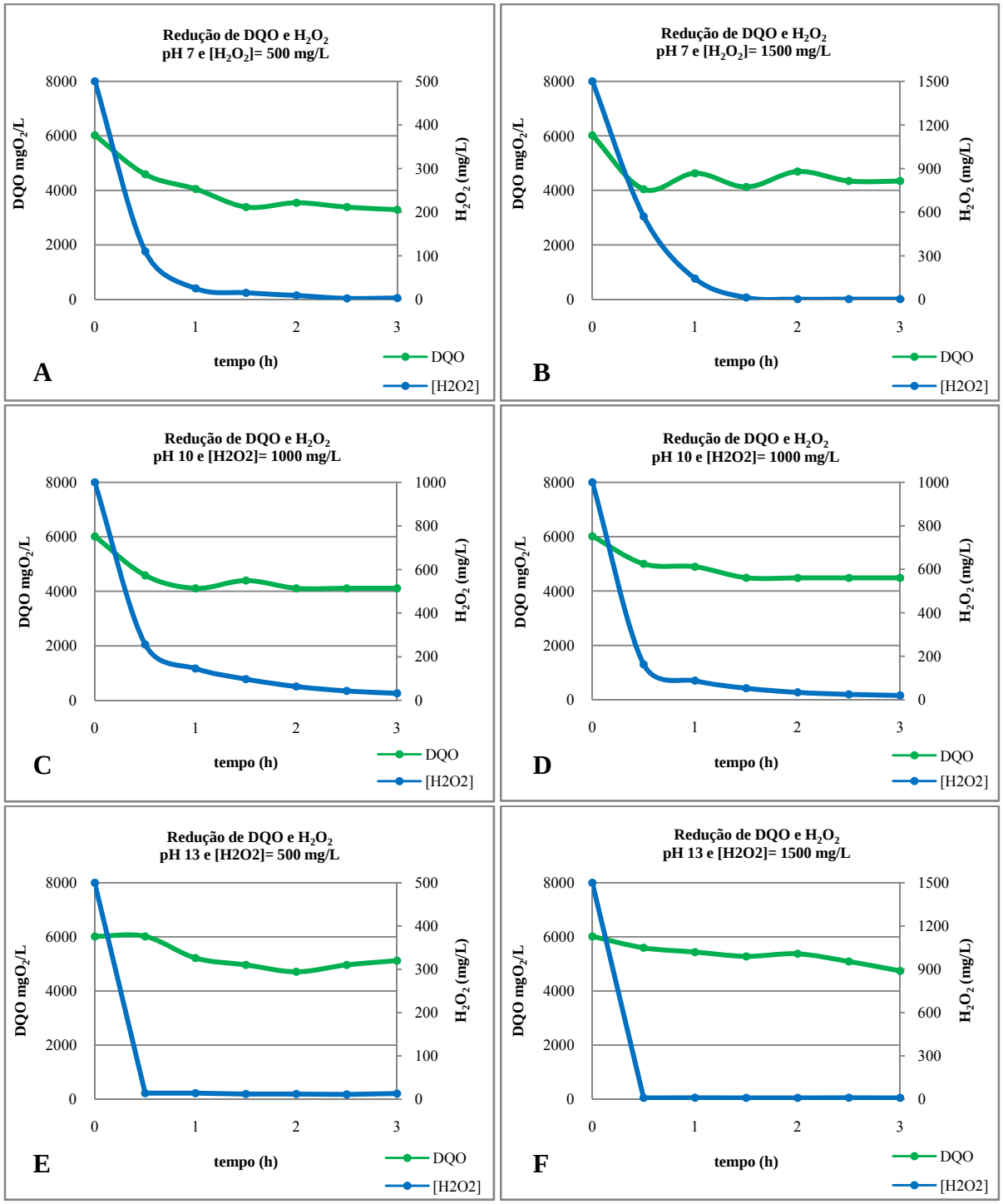


**Figura 9: Cinética de redução da DQO e $H_2O_2$ avaliados durante os tratamentos POA - UV/$H_2O_2$ (alíquota única de $H_2O_2$) no período de 3 h.**

Pelos resultados da Figura 9 observou-se que, o $H_2O_2$ adicionado foi consumido rapidamente, em média, entre 0,5 h e 1,5 h de tratamento. Essa redução foi mais significativa conforme se aumentou o pH, destacando-se desta maneira que o aumento do pH propiciou o consumo mais rápido de $H_2O_2$. Estes resultados já eram esperados, pois conforme a literatura, no tratamento de vários efluentes industriais, geralmente, a decomposição de $H_2O_2$ em $H_2O$ e $O_2$ é aumentada com a alcalinidade da amostra (MATTOS et al., 2003). A taxa de fotólise do $H_2O_2$ também é influenciada pelo pH, sendo mais efetiva em pH alcalino (ANDREOZZI et al., 2003; CISNEROS; ESPINOZA; LITTER, 2002). Entretanto, às vezes, o ajuste do pH em efluentes industriais aumenta de forma significativa o custo de tratamento (BRITTO; RANGEL, 2008).

A redução da DQO, nos pHs 7 e 10, também foi mais significativa em 0,5 h de tratamento, mostrando com isso que a DQO foi reduzida em função da concentração de $H_2O_2$. Após o consumo de $H_2O_2$, a redução de DQO ocorreu lentamente. Porém, em pH 13 e utilizando 500 mg/L e 1500 mg/L de $H_2O_2$ a redução da DQO foi menos significativa do que nos pHs 7 e 10. Com esses resultados, foi observado que em pHs mais elevados, mesmo que o $H_2O_2$ seja consumido em uma velocidade maior, isso pode não propiciar uma maior oxidação dos compostos da amostra. De acordo com Kim e Vogelpohl (1998), o potencial de oxidação dos radicais hidroxil reduz de 2,8 V em pH 0 para 1,9 V em pH 14, indicando que a capacidade de oxidação dos radicais formados decai em condições alcalinas.

Os efeitos do pH , $H_2O_2$ e da interação de ambos foram analisados ao nível de confiança de 95%, e são observados, através do gráfico de Pareto (Figura 10).

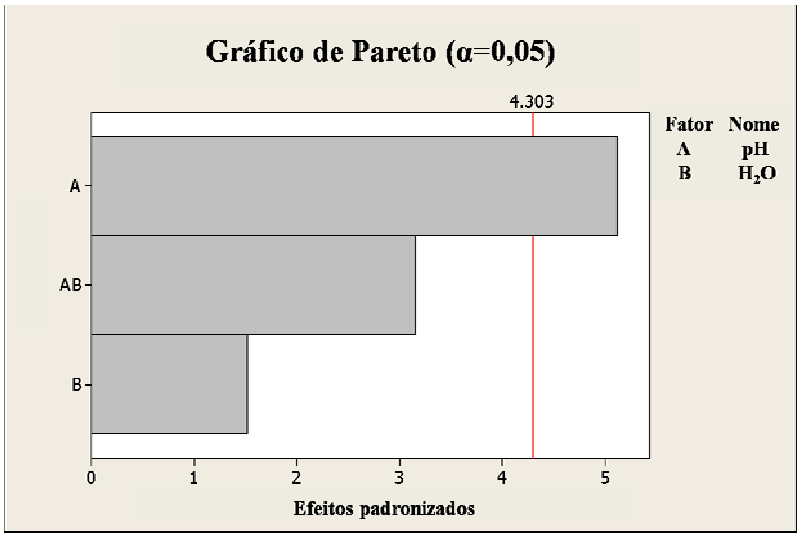


**Figura 10: Gráfico de Pareto dos efeitos individuais (pH e $H_2O_2$) e combinados do tratamento com sistema UV/$H_2O_2$ utilizando alíquota única de $H_2O_2$.**

Constatou-se que o pH foi a única variável significativa nos tratamentos realizados pelo sistema fotoquímico.

As Figuras 11 e 12 apresentam os efeitos principais das variáveis pH e $H_2O_2$ e a interpretação geométrica, em relação a redução de DQO, ao fim de cada tratamento fotoquímico, respectivamente.

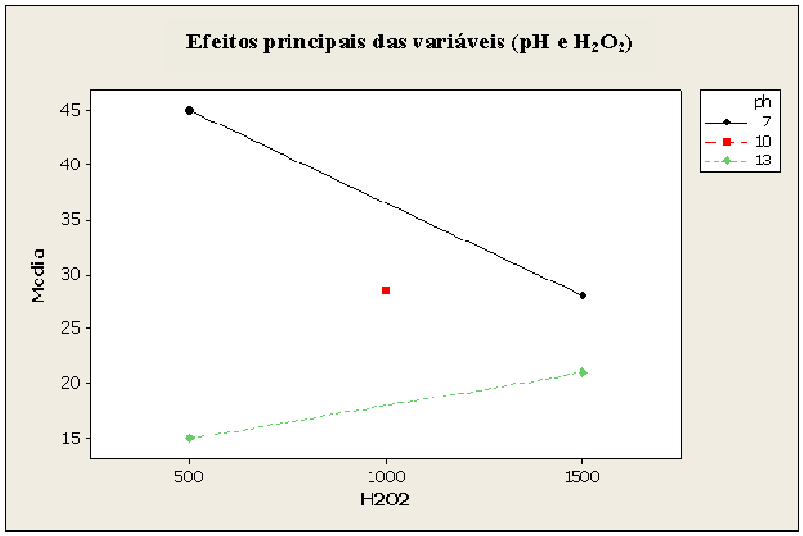


**Figura 11: Gráfico dos efeitos principais das variáveis pH e $H_2O_2$ do tratamento com sistema UV/$H_2O_2$ utilizando alíquota única de $H_2O_2$.**

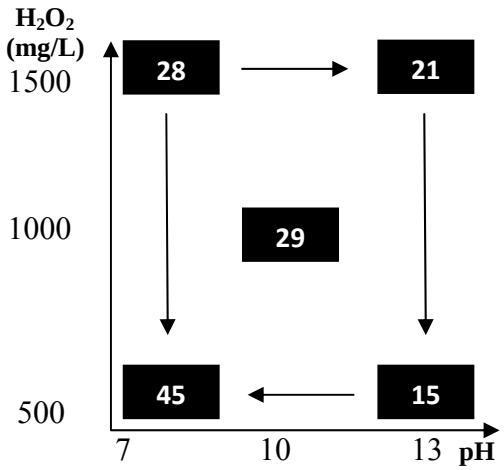


**Figura 12: Gráfico da interpretação geométrica dos resultados (redução de DQO) do planejamento $2^2$ do tratamento com sistema UV/$H_2O_2$ utilizando alíquota única de $H_2O_2$.**

Observou-se que o arranjo que apresentou o melhor resultado dentro do planejamento utilizado foi o que utilizou pH 7 e a concentração de $H_2O_2$ de 500 mg/L, o experimento realizado dentro desses parâmetros reduziu a DQO em 45%.

Entretanto, após todos os tratamentos com a adição de alíquota única de $H_2O_2$ ocorreu o aparecimento de uma coloração castanho avermelhada nas amostras tratadas. Isso pode ter ocorrido devido à degradação de possíveis compostos aromáticos presentes no efluente, e através desta degradação, a síntese de compostos fenólicos, como catecol e hidroquinona (ALNAIZY; AKGERMAN, 2000).

Os compostos fenólicos estão entre os poluentes orgânicos mais comuns presentes nos efluentes oleosos. A importância, destes compostos, se destaca entre outros, devido a sua toxicidade em concentrações muito baixas. Por isso é vital que a concentração destas substâncias, após os tratamentos dos efluentes, seja adequada tanto para o descarte como para o reuso dos mesmos (BUSCA et al., 2008). A síntese de compostos fenólicos, como o catecol e a hidroquinona, pode ocorrer devido à fotoxidação de hidrocarbonetos aromáticos como o benzeno, o tolueno e o xileno (BRITTO; RANGEL, 2008; FUJISHIMA et al., 2001). Além disso, pode ter ocorrido excesso de $H_2O_2$ e, consequentemente, de radicais hidroxila, levando

a recombinações e reações competitivas entre eles, compostos intermediários e produtos formados. Com isso, parte dos radicais hidroxila podem ter sido consumidos antes de oxidar os compostos fenólicos (ZHAO et al., 2004).

Para tentar degradar os possíveis compostos fenólicos, formados no efluente tratado, o mesmo foi submetido ao tratamento no sistema UV/$H_2O_2$, porém com a adição da alíquota de $H_2O_2$ de forma fracionada. Esta adição fracionada de $H_2O_2$ teve como objetivo principal retardar o consumo total do mesmo no meio reacional, com isso aumentando o tempo de reação para que os produtos formados pela degradação de possíveis compostos aromáticos também fossem degradados.

### 5.8.2 Tratamento utilizando alíquota fracionada de $H_2O_2$

Esse procedimento foi realizado a fim de aperfeiçoar o tratamento no sistema UV/$H_2O_2$ com a degradação de possíveis compostos fenólicos formados durante o tratamento utilizando alíquota única de $H_2O_2$. Os resultados obtidos ao fim de cada tratamento são apresentados na Tabela 16.

**Tabela 16: Reduções dos parâmetros pós – tratamento com sistema UV/$H_2O_2$ utilizando alíquota fracionada de $H_2O_2$.**

| Variáveis | Níveis | | |
|---|---|---|---|
| | - | ● | + |
| pH | 7 | 10 | 13 |
| $H_2O_2$ (mg/L) Total | 500 | 1000 | 1500 |

| Experimentos (3 h de tratamento) | Variáveis | | $H_2O_2$ Redução (%) | DQO Redução (%) | Fenóis Totais (FT) Redução (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| | pH | $H_2O_2$ | | | |
| 1 | - | - | 99 | 49 | 39* |
| 2 | - | + | 99 | 64 | 82* |
| 3 | + | - | 96 | 54 | 41 |
| 4 | + | + | 99 | 54 | 58 |
| 5 | ● | ● | 95 | 52 | 39 |
| 6 | ● | ● | 96 | 50 | 37 |

***** aumento percentual.
**Efeitos principais (DQO)** - pH: -2,5 ± 0,1; $H_2O_2$: 7,5 ± 0,1
**Efeitos combinados (DQO)** - pH x $H_2O_2$: -7,5 ± 0,1
**Efeitos principais (FT)** - pH: 110,0 ± 0,1; $H_2O_2$: -13,0 ± 0,1
**Efeitos combinados (FT)** - pH x $H_2O_2$: 30,0 ± 0,1

Os resultados das reduções de DQO, $H_2O_2$ e fenóis totais após o tratamento com sistema UV/$H_2O_2$ utilizando alíquota fracionada de $H_2O_2$ mostraram que em todos os tratamentos o consumo de $H_2O_2$ ocorreu quase totalmente, sendo o tratamento com pH 10 o de menor redução (95%).

Já a maior redução da DQO ocorreu no tratamento utilizando pH 7 e alíquotas de 500 mg/L de $H_2O_2$ (totalizando uma concentração final de 1500 mg/L). Nessas condições a redução da DQO alcançou 64%. Entretanto, nessas mesmas condições, após o tratamento, houve um aumento de 82% na concentração de compostos fenólicos na amostra. A amostra tratada em pH 7, porém com alíquotas menores de $H_2O_2$, também teve a concentração de fenóis totais aumentada, entretanto de forma menos intensa (39%). Quando as amostras do efluente foram tratadas nos pHs mais elevados (10 e 13), ao final de cada tratamento ocorreu uma redução dos compostos fenólicos. Sendo que a redução mais intensa deste parâmetro (58%) foi com pH 13 e alíquotas de 500 mg/L de $H_2O_2$ (totalizando 1500 mg/L).

Durante os tratamentos também foi observada a cinética de redução de $H_2O_2$, DQO e fenóis totais (FT). Para tanto, a cada 30 min de tratamento foram coletadas amostras para as determinações dos mesmos, e esses resultados são apresentados na Figura 13.

Foi observado que, em pH 7, após 1 h de tratamento, houve um aumento na concentração de compostos fenólicos, e que a concentração continuou elevada até o final de cada tratamento. Isso pode ter ocorrido pela degradação inicial de hidrocarbonetos aromáticos, com consequente formação dos grupos fenólicos. Porém o tratamento não foi eficaz para a degradação destes compostos fenólicos formados. A degradação dos grupos fenólicos, após 1,5 h de tratamento também foi prejudicada, possivelmente, pela redução de $H_2O_2$ no meio reacional. Ainda no tratamento utilizando pH 7, quando foram adicionadas alíquotas de 500 mg/L de $H_2O_2$, totalizando uma concentração de 1500 mg/L ao final do tratamento, observou-se uma intensa redução na DQO com 30 min de tratamento.

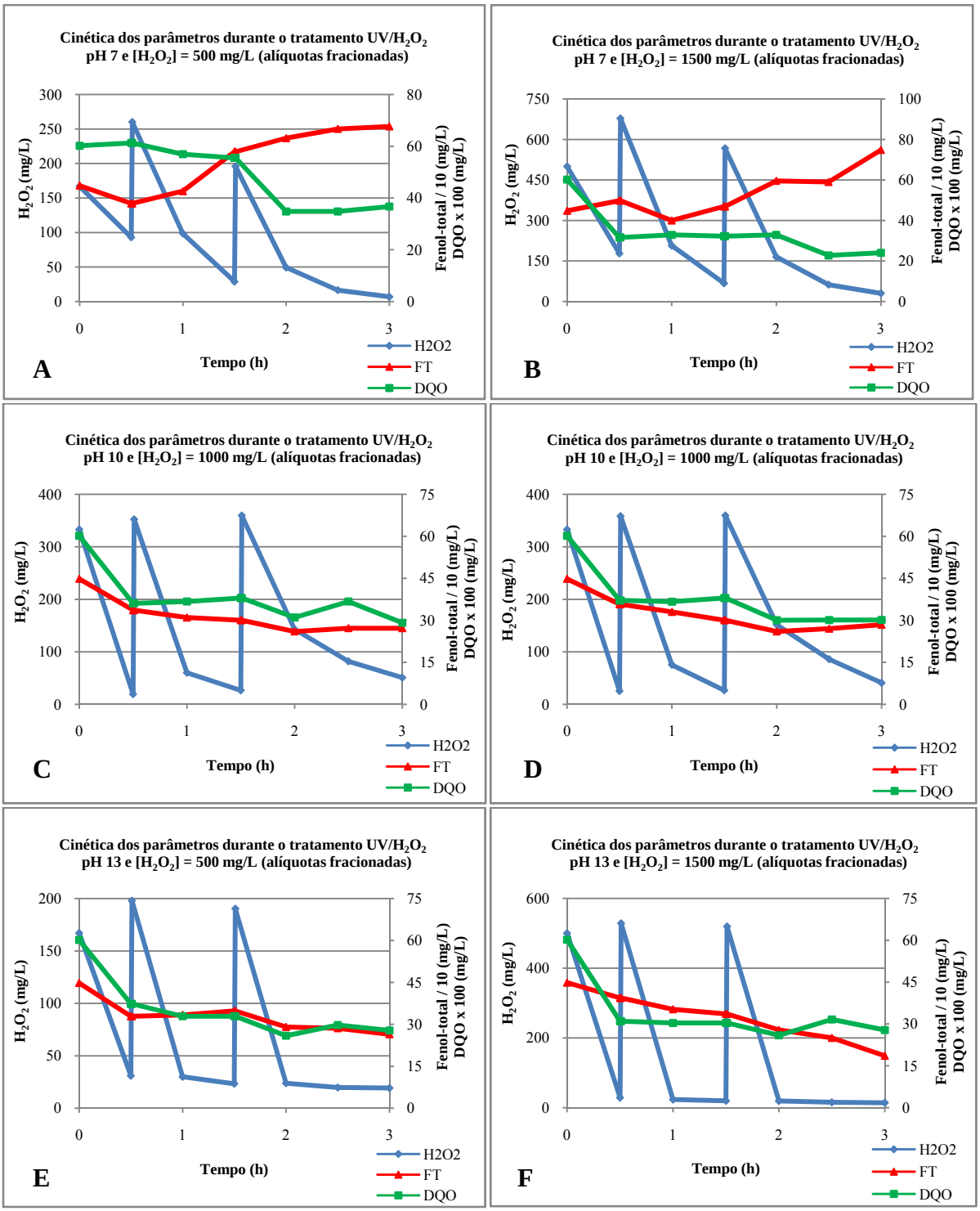


**Figura 13: (A-F) Cinética de redução de DQO, $H_2O_2$ e fenóis totais, avaliados durante os tratamentos POA - UV/$H_2O_2$ (alíquota fracionada de $H_2O_2$).**

Os tratamentos realizados em pH 10 mostraram que as concentrações dos grupos fenólicos foram reduzidas, de forma mais significativa até o tempo de reação de 2 h, que foi o

tempo aproximado de detecção de $H_2O_2$ na amostra durante o tratamento. Entretanto, estas reduções, de forma geral, foram muito brandas. Já a DQO reduziu de maneira significativa em 30 min de tratamento. Após este período quase não houve redução da mesma.

Quando os tratamentos ocorreram em pH 13, com as alíquotas $H_2O_2$ totalizando 500 mg/L, observou-se que os compostos fenólicos obtiveram uma boa redução em 30 min de tratamento, porém após este tempo a redução foi muito menos intensa. Já com as alíquotas totalizando 1500 mg/ de $H_2O_2$, houve uma redução dos compostos fenólicos muitos mais significativa, se estendendo durante todo o período que a amostra foi tratada. Em relação à redução da DQO, foi observado como na maioria dos tratamentos, uma redução significativa nos 30 min iniciais do tratamento.

De maneira geral os resultados mostraram reduções significativas da DQO em 30 min de tratamento e que, as reduções dos compostos fenólicos ocorreram apenas nos tratamentos realizados com os pHs alcalinos (10 e 13).

Os efeitos do pH , $H_2O_2$ e da interação de ambos, tanto em relação à redução de DQO como de fenóis totais foram analisados ao nível de confiança de 95% e são observados através dos gráficos de Pareto (Figura 14).

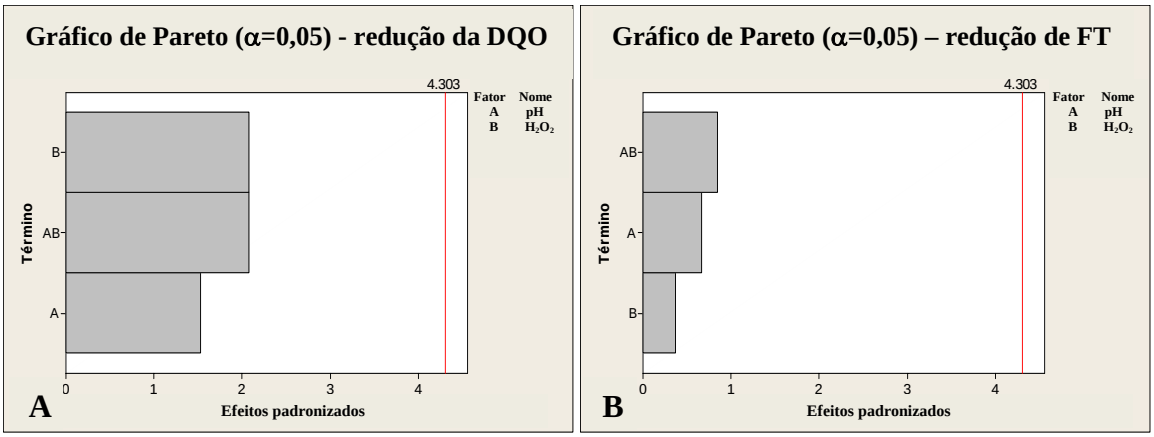


**Figura 14: Gráfico de Pareto dos efeitos individuais (pH e $H_2O_2$) e conbinados, no sistema UV/$H_2O_2$ com alíquota fracionada de $H_2O_2$, analisados pela redução de DQO (A) e fenóis totais (B).**

Foi constatado que, nenhuma das variáveis foi significativa, tanto para a redução de DQO como para a redução dos fenóis totais.

Através dos gráficos de efeitos principais (Figura 15) e dos gráficos de interpretação geométrica (Figura 16) foram observados os arranjos que apresentaram os melhores resultados, no planejamento utilizado, para as reduções de DQO e fenóis totais. Assim, o melhor tratamento na redução de DQO foi o que utilizou o pH 7 e a concentração de $H_2O_2$ de 1500 mg/L (64%). Entretanto, para a redução de fenóis totais, o tratamento mais adequado foi o que ocorreu em pH 13 e concentração de $H_2O_2$ de 1500 mg/L (58%).

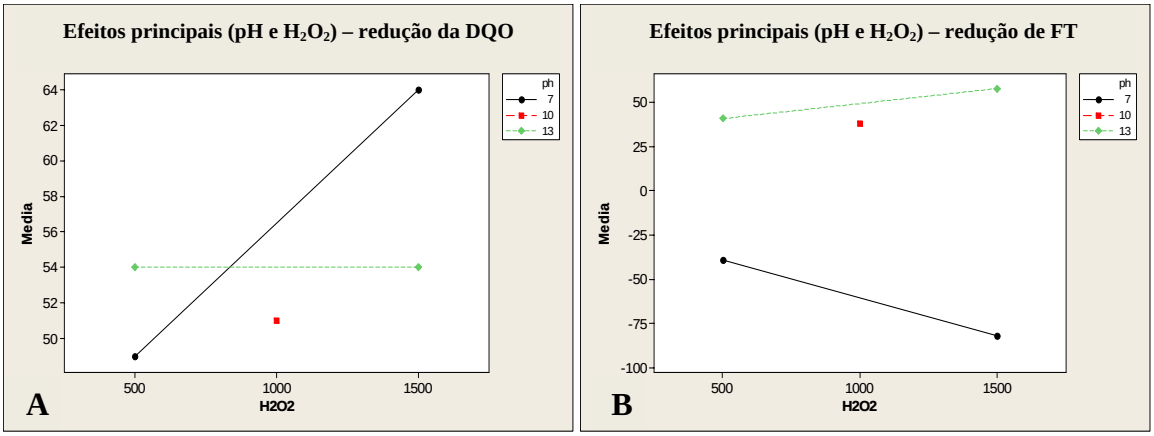


**Figura 15: Gráfico dos efeitos principais das variáveis pH e $H_2O_2$ sobre a redução de DQO (A) e a redução de Fenóis totais (B) no sistema UV/$H_2O_2$ com alíquota fracionada de $H_2O_2$**

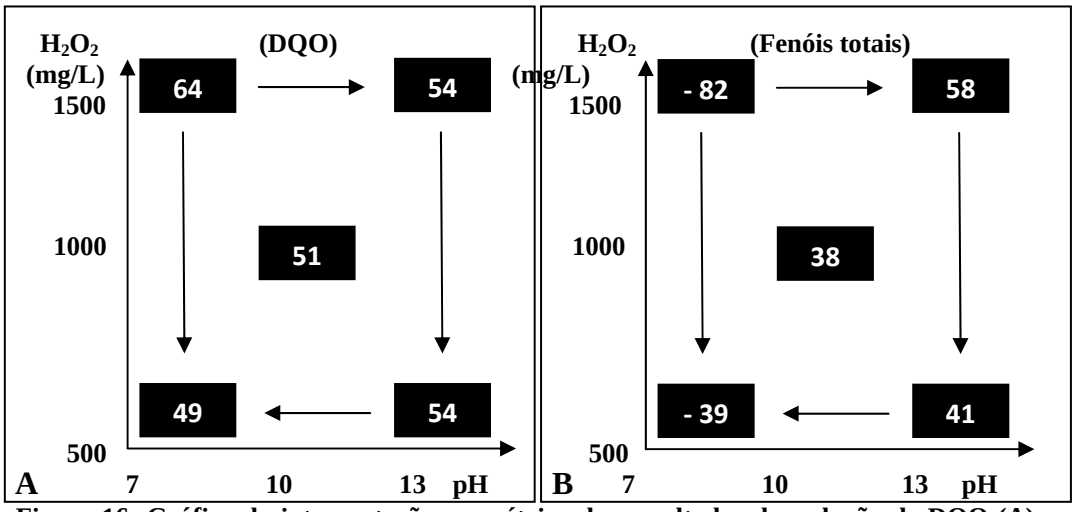


**Figura 16: Gráfico da interpretação geométrica dos resultados da redução de DQO (A) e da redução de Fenóis totais (B) do tratamento com sistema UV/$H_2O_2$ utilizando alíquota fracionada de $H_2O_2$.**

### 5.8.3 Tratamento UV/$H_2O_2$ otimizado

Para otimizar o tratamento fotoquímico foram levados em consideração alguns parâmetros como, o resíduo de $H_2O_2$ após o tratamento, a redução da DQO e o aumento ou redução dos compostos fenólicos presentes na amostra tratada. Com isso, foi realizado o tratamento fotoquímico otimizado utilizando pH 7, concentração de 500 mg/L de $H_2O_2$ em alíquota única e um tempo de reação de 1 h. Esses parâmetros foram escolhidos de acordo com o tratamento que está apresentado na Figura 13. B, o qual foi iniciado com uma alíquota de 500 mg/L de $H_2O_2$ e pH 7. Neste tratamento houve uma redução de, aproximadamente, 50 % da DQO em 30 min de reação. Com este tempo de reação não houve aumento na concentração de compostos fenólicos na amostra.

O tempo da reação otimizada de 1 h foi escolhido para que houvesse o maior consumo possível de $H_2O_2$ ao final do tratamento. A cada 15 min foram recolhidas alíquotas para as determinações de $H_2O_2$, DQO e fenóis totais. Os resultados das reduções dos parâmetros avaliados durante e ao final do tratamento são apresentados na Figura 17 e na Tabela 17, respectivamente.

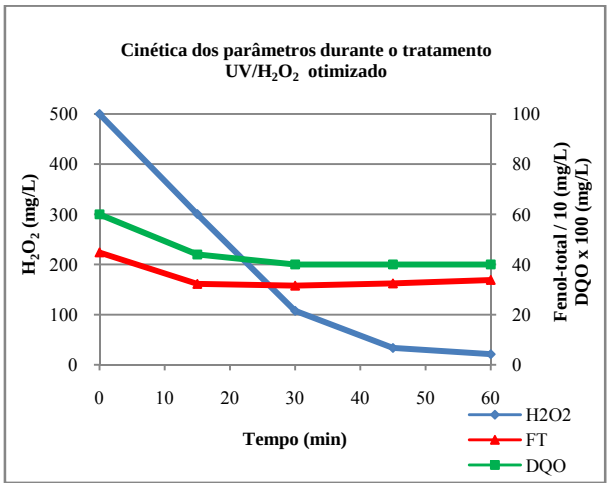


**Figura 17: Cinética da redução de DQO, $H_2O_2$ e Fenóis totais, avaliados durante o tratamento POA - UV/$H_2O_2$ (sistema otimizado).**

Durante o tratamento com o sistema UV/$H_2O_2$ otimizado (Figura 17) ocorreu uma redução significativa da DQO nos primeiros 15 min de reação. Após este tempo, a mesma

permaneceu sem alteração significativa. Já o $H_2O_2$ teve uma redução acentuada até 30 min de tratamento e no tempo restante essa redução foi mais branda. A redução dos compostos fenólicos foi semelhante à redução de DQO. Obteve uma redução nos primeiros 15 min de reação e após este tempo permaneceu sem alteração significativa. Mota (2005) tratou um efluente oleoso com altas concentrações de compostos fenólicos, no sistema UV/$H_2O_2$, e também não obteve redução significativa dos mesmos. Isso também pode ocorrer quando há excesso de $H_2O_2$, o que acarreta a recombinação de radicais hidroxilas, gerando novamente $H_2O_2$ (Equação 2) e reduzindo, consequentemente, a eficiência da reação. Desta forma impedindo que os compostos fenólicos sejam oxidados (ZHAO et al., 2004).

Na Tabela 17 são apresentados os resultados obtidos dos parâmetros avaliados após o tratamento fotoquímico otimizado.

**Tabela 17: Características físico–químicas da amostra do efluente pós – tratamento POA - UV/$H_2O_2$ (sistema otimizado) durante o tempo de 1h.**

| PARÂMETROS | RESULTADOS | Redução (%) | PADRÃO* |
|---|---|---|---|
| pH | 4,6 ± 0,1 | 34 ± 1 | 5 - 9 |
| Cor (mg Pt/L) | 139 ± 3 | 74 ± 1 | 75 |
| DQO (mg / L)** | 3953 ± 131 | 34 ± 2 | |
| $H_2O_2$ (mg / L)** | 11 ± 1 | 98 ± 1 | |
| ST (mg / L)** | 11127 ± 842 | 15 ± 6 | |
| Fenóis Totais (mg / L) | 3,4 ± 0,1 | 26 ± 2 | 0,5 |
| OD (mg / L) | 29,8 ± 0,4 | 705 ± 11*** | ≥ 5 |
| O&G (mg / L) | 330 ± 22 | 45 ± 4 | 20 |
| Cond.E (µS / cm 20ºC)** | 10210 ± 143 | 34 ± 1 | |
| Tox. C. (FT) ** | 476 | 19 | |

- valor não permitido pela legislação.
- valor permitido pela legislação.

* - limites estabelecidos pela resolução nº 357/05 do CONAMA.
** - limites não estabelecidos pela legislação estadual (SP) e federal.
*** - aumento percentual.

Após o tratamento fotoquímico otimizado houve uma redução do pH, chegando a 4,6. Isso indicou que, durante o tratamento ocorreu a formação de ácidos carboxílicos através do processo oxidativo de compostos orgânicos presenttes no efluente (ALNAIZY; AKGERMAN, 2000).

A redução da cor observada no efluente foi de 74 ± 1%, mostrando que este tipo de tratamento é eficaz na destruição de grupos cromóforos presentes na amostra. Por outro lado, a DQO obteve uma redução de 34 ± 2%, redução maior do que a obtida no tratamento biológico mais eficaz, com o fungo *E. nigrum* (27 ± 1%).

O $H_2O_2$ teve uma redução de 98 ± 1%. Ozgencil (2007) tratou um efluente contendo fluido de corte com o sistema UV/$H_2O_2$, e obteve um consumo máximo de 88% do $H_2O_2$ durante o tratamento.

A concentração de ST foi reduzida apenas em 15 ± 6%. Já a concentração de compostos fenólicos, após o tratamento, alcançou uma redução de 26 ± 2%. Alnaizy e Akgerman (2000) trataram uma amostra aquosa com alta concentração de compostos fenólicos, e conseguiram uma redução de 20% dos mesmos, utilizando o processo UV/$H_2O_2$.

Foi obtido um grande acréscimo na concentração de OD da amostra após o tratamento fotoquímico (705 ± 11%). Isso já era esperado, pois o oxigênio injetado mais o peróxido de hidrogênio adicionado são fontes de oxigenação durante o tratamento fotoquímico (SCHEUER et al., 1995; FUNG et al., 1999). Obteve-se uma redução de 45 ± 4% na concentração de O&G da amostra pós-tratamento. Stepnowski et al. (2002) conseguiram uma redução de 31% na concentração de O&G realizando o tratamento de um efluente semelhante com sistema UV/$H_2O_2$. Já a Cond.E, após o tratamento, obteve uma redução de 34 ± 1%.

Ainda foi observada uma redução de 19% da toxicidade crônica. Essa redução alcançada com o tratamento fotoquímico foi bem menos intensa do que a melhor redução total determinada após o tratamento biológico em reator air-lift com o fungo *E. nigrum* (50%).

Após o tratamento fotoquímico otimizado os parâmetros pH, Cor, FT e O&G ainda ficaram acima dos limites permitidos pela legislação (CONAMA 357/05), isso demonstra a dificuldade de se tratar esse tipo de efluente para que os parâmetros do mesmo se enquadrem dentro dos limites legais de descarte.

## 5.9. TRATAMENTO POR PROCESSOS INTEGRADOS: POA ($UV/H_2O_2$) x BIOLÓGICO

O tratamento integrado do efluente metal-mecânico foi realizado com o tratamento oxidativo avançado no sistema $UV/H_2O_2$ de forma otimizada. Em seguida, coletou-se o efluente tratado e adicionou-se o mesmo em reator biológico do tipo air-lift, procedendo-se seu tratamento biológico. Após o tratamento biológico, o efluente foi deixado em repouso por 24 h, sua fase aquosa coletada e determinados os parâmetros de avaliação pós-tratamento integrado (Tabela 18).

**Tabela 18: Parâmetros do efluente pós-tratamento integrado ($UV/H_2O_2$ biológico).**

| PARÂMETROS PÓS TRATAMENTO | POA ($UV/H_2O_2$) → Air-lift (microrganismo) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | POA → *A. niger* | | POA → *E. nigrum* | | POA → *Cladosporium sp.* | |
| | Valor | Redução (%) | Valor | Redução (%) | Valor | Redução (%) |
| **pH** | 6,4 ± 0,1 | 2 ± 1 | 6,1 ± 0,1 | 6 ± 1 | 6,4 ± 0,1 | 2 ± 1 |
| **Cor (mg Pt/L)** | 102 ± 4 | 81 ± 1 | 86 ± 2 | 84 ± 1 | 54 ± 3 | 90 ± 1 |
| **DQO (mg/L)**** | 2829 ± 235 | 53 ± 4 | 2528 ± 201 | 58 ± 3 | 2709 ± 150 | 55 ± 2 |
| **$H_2O_2$(mg/ L)**** | 6,2 ± 0,1 | 99 ± 1 | 4,8 ± 0,1 | 99 ± 1 | 5,9 ± 1 | 99 ± 1 |
| **ST (mg/L)**** | 10735 ± 322 | 18 ± 2 | 8116 ± 280 | 38 ± 2 | 9818 ± 238 | 25 ± 2 |
| **Fenóis Totais (mg/L)** | 23 ± 2 | 49 ± 5 | 10 ± 1 | 78 ± 2 | 19 ± 2 | 58 ± 5 |
| **OD (mg/L)** | 7,2 ± 0,1 | 94 ± 3* | 7,8 ± 0,1 | 111 ± 3* | 6,8 ± 0,1 | 84 ± 2* |
| **O&G (mg/L)** | 198 ± 8 | 67 ± 1 | 42 ± 3 | 93 ± 1 | 78 ± 5 | 87 ± 1 |
| **Cond.E (µS/cm)**** | 9174 ± 311 | 41 ± 2 | 7620 ± 256 | 51 ± 2 | 9486 ± 278 | 39 ± 2 |
| **Tox.C.(FTox)**** | 73 | 88 | 84 | 86 | 84 | 86 |

- valor não permitido pela legislação (CONAMA 357/05).
- valor permitido pela legislação.

* - aumento percentual

** - limites não estabelecidos pela legislação estadual (SP) e federal.

Foi observado que após o tratamento integrado não houve, em nenhum dos tratamentos, uma mudança significativa do pH.

Em relação à coloração da amostra do efluente, após o tratamento foi obtido a maior redução (90 ± 1%) com o processo que utilizou *Cladosporium* sp. no sistema em reator air-lift. Entretanto utilizando os fungos *A. niger* e *E. nigrum* foram obtidas reduções de 81 ± 1% e 84 ± 1%, respectivamente.

A DQO da amostra foi reduzida de forma mais significativa utilizando o microrganismo *E. nigrum* (58 ± 3%). Porém, quando o microrganismo de referência, *A. niger,*

foi usado, a DQO foi reduzida em 53 ± 4%. Schuch et al. (2000) trataram um efluente contendo fluido de corte com processos integrados utilizando UV/$H_2O_2$ (tempo de irradiação de 5 h) e biológico (lodo proveniente de um sistema de tratamento de efluente metal-mecânico), e conseguiram uma redução de 95% na DQO. Já Miller e Anderson (1993), tratando um efluente metal-mecânico, com este mesmo sistema integrado, alcançaram uma redução de 85% da DQO. Em outro trabalho, Kim et al. (1992), trataram um efluente da indústria metal-mecânica, com processos integrados utilizando UV/$H_2O_2$ e, em seguida, tratamento biológico tanto aeróbico como anaeróbico. Usando o tratamento combinado com sistema biológico aeróbio, a DQO do efluente foi reduzida em 88%.

Em todos os tratamentos foi obtida uma redução de 99 ± 1% do $H_2O_2$ em relação ao $H_2O_2$ inicial no tratamento fotoquímico (concentração de 500 mg/L). Com o fungo *E. nigrum* foi alcançado a menor concentração de $H_2O_2$ após o tratamento integrado, chegando a 4,8 ± 0,1 mg/L.

Os ST foram reduzidos em 38 ± 2% quando se utilizou *E. nigrum* no tratamento biológico. Já *Cladosporium sp* e *A. niger* reduziram este parâmetro em apenas 25 ± 2% e 18 ± 2%, respectivamente.

Os compostos fenólicos tiveram boas reduções com o tratamento integrado. A maior redução foi determinada quando a amostra foi tratada, no sistema biológico, com o microrganismo *E. nigrum* (78 ± 2%). Porém, com o microrganismo de referência, *A. niger*, a redução foi de apenas 49 ± 5%.

Já o OD da amostra do efluente aumentou em todos os experimentos após os tratamentos. O aumento foi em média de 96 ± 5%, o que já era esperado pela oxigenação fornecida, tanto no tratamento fotoquímico como no biológico. Porém, quando comparados os valores de oxigênio dissolvido pós-tratamento integrado (média de 7,3 ± 0,1 mg/L) com os valores de OD pós-tratamento no sistema UV/$H_2O_2$ (29,8 ± 0,4% mg/L), ocorre um consumo

muito maior de oxigênio no sistema integrado, isso provavelmente ocorreu porque no tratamento biológico há o consumo de oxigênio pelos microrganismos utilizados nos tratamentos (Tabela 13). Contudo, todas as concentrações de OD das amostras, pós-tratamento integrado, ficaram acima do mínimo exigido pela legislação (OD ≥ 5 / CONAMA 357/05).

Foi obtida uma redução mais intensa na concentração de O&G quando se utilizou o fungo *E. nigrum* no tratamento em reator air-lift (93 ± 1%). Já, utilizando o microrganismo de referência, *A. niger*, a redução foi de 67 ± 1%.

A maior redução da cond.E (51 ± 2%) também ocorreu quando foi utilizado *E. nigrum* no tratamento biológico. Já quando se usou o fungo *A. niger* esta redução foi menos expressiva, chegando a 41 ± 2%. Mesmo os valores da condutividade elétrica, após todos os tratamentos, no sistema integrado, continuando muito altos, os microrganismos utilizados no tratamento alcançaram boas reduções deste parâmetro.

O que se observou com os resultados dos tratamentos integrados do efluente em estudo, foi que o fungo *E. nigrum* se apresentou mais eficaz na redução de todos os parâmetros observados, exceto na redução da cor da amostra, onde *Cladosporium* sp. obteve uma maior redução (90 ± 1%) e na redução da toxicidade crônica, onde o tratamento integrado com *A. niger* alcançou uma maior redução (88%). Porém, essas reduções de cor e toxicidade crônica tiveram diferenças de apenas 6 ± 1% e 2%, respectivamente, entre as alcançadas pelo tratamento integrado com *E. nigrum*. O fungo *E. nigrum* ainda conseguiu realizar o tratamento com o menor consumo de oxigênio, já que após o tratamento com este microrganismo foi determinada a maior concentração de OD dentre os tratamentos.

## 5.10. COMPARAÇÃO DAS REDUÇÕES DOS PARÂMETROS AVALIADOS APÓS CADA SISTEMA DE TRATAMENTO UTILIZADO

Foi realizada uma comparação das reduções dos parâmetros avaliados após cada tratamento (Tabela 19).

**Tabela 19: Reduções dos parâmetros avaliados após cada tipo de tratamento realizado durante o trabalho.**

| PARÂMETROS PÓS TRATAMENTO | TRATAMENTO (redução total %) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Biológico (air-lift) | | | POA ($UV/H_2O_2$) | Sistema Integrado | | |
| | *A.niger* | *E. nigrum* | *Cladosporium* sp. | | *A. niger* | *E. nigrum* | *Cladosporium* sp. |
| Cor | 78 ± 3 | 78 ± 3 | 87 ± 4 | 74 ± 1 | 81 ± 1 | 84 ± 1 | 90 ± 1 |
| DQO | 22 ± 1 | 27 ± 1 | 10 ± 1 | 34 ± 2 | 53 ± 4 | 58 ± 3 | 55 ± 2 |
| $H_2O_2$ | 84 ± 2 | 94 ± 2 | 90 ± 2 | 98 ± 1 | 99 ± 1 | 99 ± 1 | 99 ± 1 |
| ST | 9 ± 1 | 26 ± 1 | 11 ± 1 | 15 ± 6 | 18 ± 2 | 38 ± 2 | 25 ± 2 |
| Fenóis Totais (FT) | 43 ± 2 | 63 ± 2 | 48 ± 2 | 26 ± 2 | 49 ± 5 | 78 ± 2 | 58 ± 5 |
| OD | 116 ± 5* | 111 ± 8* | 105 ± 3* | 705 ± 11* | 94 ± 3* | 111 ± 3* | 84 ± 2* |
| O&G | 12 ± 3 | 43 ± 1 | 33 ± 3 | 45 ± 4 | 67 ± 1 | 93 ± 1 | 87 ± 1 |
| Cond.E | 33 ± 1 | 44 ± 1 | 22 ± 1 | 34 ± 1 | 41 ± 2 | 51 ± 2 | 39 ± 2 |
| Tox. C. | 11 | 50 | 47 | 19 | 88 | 86 | 86 |

- melhor resultado utilizando o tratamento biológico e integrado.
* - aumento percentual.

Foi observado que o microrganismo mais eficaz na maioria dos parâmetros avaliados pós-tratamento biológico foi o fungo *E. nigrum*. Apenas na redução de cor o microrganismo *Cladosporium* sp. obteve melhor resultado.

Por outro lado, quando se comparou o tratamento biológico (melhor resultado) e fotoquímico de forma unitária, se observou que o sistema biológico foi mais eficaz nas reduções de cor (utilizando *Cladosporium* sp.) e de ST, fenóis totais e Cond.E (utilizando *E. nigrum*). Já os resultados de $H_2O_2$ e O&G tiveram reduções semelhantes utilizando tanto o tratamento biológico como o fotoquímico. O tratamento fotoquímico teve melhor eficácia somente na redução de DQO e no aumento de OD. De um modo geral, esses resultados indicaram que o processo biológico, em comparação ao fotoquímico foi mais eficaz no tratamento do efluente estudado.

Porém, com o tratamento biológico integrado com o sistema $UV/H_2O_2$, todas as reduções dos parâmetros avaliados foram intensificadas. Esse resultado já era esperado,

partindo do pressuposto de que o tratamento fotoquímico aumentou a biodegradabilidade da amostra, facilitando a ação metabólica dos microrganismos no tratamento biológico posterior.

As principais reduções observadas foram a da DQO (58 ± 3%) e O&G (93 ± 1%). Essas reduções observadas no tratamento integrado foram quase o dobro das alcançadas no tratamento biológico de forma unitária. Mostrando desta forma que, o melhor tratamento, entre os três sistemas, para o efluente estudado, foi o processo integrado utilizando o sistema fotoquímico UV/$H_2O_2$ seguido do tratamento biológico com o fungo *E. nigrum*.

Essa superioridade do tratamento integrado vai de encontro a outros estudos com os mais diversos efluentes oleosos. Ozgencil (2007) tratou um efluente metal-mecânico e obteve uma eficácia superior na redução de matéria orgânica utilizando o processo integrado UV/$H_2O_2$ - biológico, do que utilizando os processos de forma isolada. Assim como Barros Jr. et al. (2003) que alcançaram reduções mais intensas de compostos fenólicos em um efluente de refinaria de petróleo também utilizando sistema integrado UV/$H_2O_2$ – biológico do que utilizando os sistemas isoladamente.

# 6. CONCLUSÕES

**1.** A caracterização do efluente oleoso bruto mostrou que, em decorrência dos parâmetros determinados, o mesmo possui um alto potencial poluidor.

**2.** Foram isolados, da amostra do efluente, seis possíveis tipos de fungos filamentosos, com uma população baixa por placa (aproximadamente 4,34 UFC), porém com uma alta diversidade. Não foi isolada nenhuma tipologia de bactéria.

**3.** Dentre os microrganismos isolados, os que se mostraram mais aptos para a realização do tratamento do efluente em reator do tipo air-lift foram FI e FV.

**4.** Os microrganismos selecionados, FI e FV, foram identificados como *Epicoccum nigrum* e *Cladosporium* sp., respectivamente.

**5.** O biotratamento em reator do tipo air-lift reduziu todos os parâmetros determinados, exceto o pH, que aumentou em média 10 %. O microrganismo FI se mostrou mais eficaz na maioria dos parâmetros determinados (DQO, $H_2O_2$, FT, Cond.E, O&G e Tox.C). Já FV foi mais eficiente na redução de cor. Trata-se, desta maneira, de microrganismos com alto potencial de redução dos respectivos parâmetros neste tipo de efluente.

**6.** O tratamento oxidativo avançado com sistema UV/$H_2O_2$, proporcionou reduções mais acentuadas, do que o tratamento biológico, em relação às concentrações de DQO, $H_2O_2$ e no aumento de OD do efluente. Por outro lado, foi menos eficaz nas reduções de cor, ST, FT, Cond.E. e Tox.C. E ainda atingiu um desempenho semelhante, em relação ao tratamento biológico, na redução de O&G.

**7.** O tratamento integrado do efluente por sistema UV/$H_2O_2$ seguido de tratamento biológico, propiciou uma intensificação nas reduções de todos os parâmetros avaliados pós-tratamento. Indicando assim que, o tratamento fotoquímico, antecipado ao tratamento biológico,

aumentou a biodegradabilidade da amostra do efluente, facilitando desta forma a biorremediação do mesmo em reator air-lift.

**8.** O melhor tratamento para o efluente estudado, entre os três sistemas utilizados (biológico, UV/$H_2O_2$ e UV/$H_2O_2$ – biológico), foi o processo integrado utilizando o sistema fotoquímico UV/$H_2O_2$ seguido do tratamento biológico com o fungo *E. nigrum*.

**9.** Mesmo o tratamento integrado não proporcionando reduções para que os parâmetros avaliados após o mesmo se enquadrassem dentro dos limites exigidos pela legislação acreditasse que, realizando-se os tratamentos com a inoculação dos microrganismos através de peso seco e úmido ocorram reduções mais intensas do que as alcançadas por esse trabalho. O que cria grandes expectativas para trabalhos futuros utilizando esses microrganismos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 12648: Ecotoxicologia aquática – Método de ensaio com algas (*Chlorophyceae*). Rio de Janeiro, 2005.

ADAMS, C.D.; KUZHIKANNIL, J.J. Effects of UV/$H_2O_2$ preoxidation on the aerobic biodegradability of quaternary amine surfactants. *Water Research*, 2000, vol. 34, p. 668-672.

ALNAIZY, R.; AKGERMAN, A. Advanced oxidation of phenolic compounds. *Advances in Environmental Research*, v. 4, p. 233-244, 2000.

ANDERSON, J.E.; KIM, B.R.; MUELLER, S.A.; LOFTON, T.V. Composition and analysis of mineral oils and other organic compounds in metalworking and hydraulic fluids. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 33, p. 73–109, 2003.

ANDREOZZI, R.; CAPRIO, V.; MAROTTA, R.; RADOVNIKOVIC, A. Ozonation and $H_2O_2$/UV treatment of clofibric acid in water: A kinetic investigation. *Journal of Hazardous Materials*, v. B103, p. 233-246, 2003.

APHA - STANDARD METHODS FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. American Public Health Association, 20th. ed. Washington DC, 1998.

AQUINO, S.F. Caracterização da DQO efluente de sistemas de tratamento biológico. Nota Técnica. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, vol. 8, p. 135-144, 2003.

BANDALA, E.R.; ARANCIBIA-BULNES, C.A.; OROZCO, S.L.; ESTRADA, C.A. Solar photoreactors comparison based on oxalic acid photocatalytic degradation. *Solar Energy*, v. 77, p. 503–512, 2004.

BARRON, G.L. *The Genera of Hyphomycetes from Soil*. 2th ed. New York: Robert E. Krieger Publishing Company, 1972. p. 364.

BARROS JR., L.M.; MACEDO, G.R.; NETTO, W.S.; BEZERRA, M.S. Remoção de fenol de efluentes de refinarias de petróleo. In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE P&D EM PETRÓLEO E GÁS*, junho 15-18, 2003. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2003.

BEHNAJADY, M.A.; MODIRSHAHLA, N.; SHOKRI, M. Photodestruction of acid orange 7 (AO7) in aqueous solutions by UV/H2O2: Influence of operational parameters. *Chemosphere*, v. 55, p. 129–134, 2004.

BENTO, F.M.; GAYLARDE, C.C. Biodeterioration of stored diesel oil: Studies in Brazil. *International Biodeterior Biodegradation*, v. 47, p. 107–112, 2001.

BHUIYAN, S.A.; RYLEY, T.; GALEA, V.J.; TAY, D. Evaluation of potential biocontrol agents against *Claviceps africana in vitro* and *in vivo*. *Plant Pathology*, v. 52, p. 60-67, 2003.

BONCH-OSMOLOVSKAYA, E.A.; MIROSHNICHENKO, M.L.; LEBEDINSKY, A.V.; CHERNYH, N.A.; NAZINA, T.N.; IVOILOV, V.S.; BELYAEV, S.S.; BOULYGINA, E.S.; LYSOV, Y.P.; PEROV, A.N.; MIRZABEKOV, A.D.; HIPPE, H.; STACKEBRANDT, E.; L'HARIDON, S.; JEANTHON, C. Radioisotopic, culture-based, and oligonucleotide microchip analyses of thermophilic microbial communities in a continental high-temperature petroleum reservoir. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 69, p. 6143–6151, 2003.

BRESAOLA JR., R.; CARRARA, S.M.C.M. *Reuso de Águas Residuárias Geradas em Processos de Galvanoplastia*. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária – ABES, 2000. p. 1-6.

BRIDGE, P., SPOONER, B.; ROBERTS, P. 2007. *List of Non-lichenized Fungi from the Antartic Region*. Disponível em:http://www.antarctica.ac.uk/Resources/BSD/Fungi/index.htm - Acesso em: 25/06/2009.

BRITTO, J.M.; RANGEL, M.C. Processos avançados de oxidação de compostos fenólicos em efluentes industriais. *Química Nova*, v. 31, p. 114-122, 2008.

BUSCA, G.; BERARDINELLI, S.; RESINI, C.; ARRIGHIB, L. Technologies for the removal of phenol from fluid streams: A short review of recent developments. *Journal of Hazardous Materials*, v. 160, p. 265-288, 2008.

CANTER, N. Waste treatment of chlorinated phenolic biocides. *Tribology and Lubrication Technology*, v. 1, p. 18-19, 2008.

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Disponível em: http://www.cetesb.sp.gov.br - Acesso em: 27/02/2009.

CHENG, C.; PHIPPS, D.; ALKHADDAR, R.M. Treatment of spent metalworking fluids. *Water Research*, v. 39, p. 4051–4063, 2005.

CHENG, C.; PHIPPS, D.; ALKHADDAR, R.M. Thermophilic aerobic wastewater treatment of waste metalworking fluids. *Water and Environment Journal*, v. 20, p. 227–232, 2006.

CHERYAN, M.; RAJAGOPALAN, N. Membrane processing of oily streams. wasteswater treatment and waste reduction. *Journal of Membrane Science*, v. 20, p. 13-28, 1998.

CIMM – Centro de Informação Metal Mecânica. Disponível em: http://www.cimm.con.br - Acesso em: 19/07/2009.

CISNEROS, R.L.; ESPINOZA, A.G.; LITTER, M.I. Photodegradation of an azo dye of textile industry. *Chemosphere*, v. 48, p. 393-399, 2002.

COLARIETI, M.L.; TOSCANO, G.; GRECO JR., G. Soil-catalyzed polymerization of phenolics in polluted waters. *Water Research*, v. 36, p. 3015–3022, 2002.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357, 17 março 2005. Disponível em: http://www.mma.gov.br - Acesso em: 21/07/2009.

CONCEIÇÃO, D.M.; DE ANGELIS, D.A.; BIDOIA, E.D.; DE ANGELIS, D.F. Fungos filamentosos isolados do Rio Atibaia, SP e refinaria de petróleo biodegradadores de compostos fenólicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 72, p. 99-106, 2005.

CONNOLLY, H.E.; VAN DER GAST, C.J.; WYLIE, D.; STEPHENSON, T.; THOMPSON, I.P. Enhanced biological treatment of spent metalworking fluids by prior removal of a polymer. *Journal Chemical Technology & Biotechnology. Bioremediation Special*, v. 81, p. 1540-1546, 2006.

COSTA, C.A.; SCHNEIDER, I.A.H.; RUBIO, J. Plantas aquáticas secas: Uma alternativa moderna para remoção de metais pesados em efluentes industriais. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v. 5, p. 19 - 24, 2000.

CPPA - CANADIAN PULP AND PAPER ASSOCIATION. Technical Section Standart Test Methods, H5P. Montreal, 1975.

DAMATO, M.; SOBRINHO, P.A.; MORITA, D.M. Determinação da toxicidade aguda de efluentes de refinaria de petróleo em diversas etapas de tratamento para *Dapnia similis.* In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL*, setembro 14-19, 1997. Foz do Iguaçu: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1997. p. 119. Trabalho completo.

DAYTON, E.A.; BASTA, N.T. Characterization of drinking water treatment residuals for use as a soil substitute. *Water Environment Research*, v. 73, p. 52-57, 2001.

DEEPAK, D.; ANAND, K.V.; BHARGAVA, R. Biodegradation kinetics of metal cutting oil: Evaluation of kinetic parameters. *The Chemical Engineering Journal*, v. 56, p. 91-96, 1994.

DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T.H. *Compendium of Soil Fungi*. 2th ed. London: Academic Press, 1980. p. 859.

DUTTA, K.; MUKHOPADHYAY, S.; BHATTCHARJEE, S.; CHAUDHURI, B. Chemical oxidation of metilene blue using a fenton-like reaction. *Journal of Hazardous Materials*, v. 84, p. 57-71, 2001.

EKANEM, E.J.; LORI, J.A.; THOMAS, S.A. The determination of wear metals in used lubricating oils by flame atomic absorption spectrometry using sulphanilic acid as ashing agent. *Talanta*, v. 44, p. 2103-2108, 1997.

EKUNDAYO, E.O.; FODEKE, V.O. Microbial densities and physico-chemical quality of some crude oil flowstations' saver pit effluents in the niger delta basin of Southern Nigeria. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 65, p. 523–530, 2000.

EL-BARADIE, M.A. Cutting fluids, Part. I. Characterisation. *Journal of Materials Processing Technology*, v. 56, p. 786-797, 1996.

EL-BESTAWY, E.; EL-MASRY, M.H.; EL-ADL, N.E. The potentiality of free gram-negative bacteria for removing oil and grease from contaminated industrial effluents. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v. 21, p. 815-822, 2005.

ELLIS, M.B. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Great Britain: Commonwealth Mycological Institute, 1977. p. 608. v. 69.

EPA – ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Advanced photochemical oxidation processes handbook*. Cincinnati: Center for Environmental Research Information, 1998.

FEITKENHAUER, H.; MULLER, R.; MARKL, H. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and long chain alkanes at 60º,70ºC by *Thermus* and *Bacillus* spp. *Biodegradation*, v.14, p. 367-372, 2003.

FERNANDEZ, A.; HUANG, S.; SESTON, S.; XING, J.; HICKEY, R.; CRIDDLE, C.; TIEDJE, J. How stable is stable? Function versus community composition. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 65, p. 3697–3704, 1999.

FERREIRA, E.F.T.; ALMEIDA, J.H.C.; SANTIAGO, V.M.J.; WACHBURGER, R.L. Ampliação da estação de tratamento de despejos industriais (EDTI) da refinaria Alberto Pasqualini (REFAP) da Petrobras. In: *CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL*, 27º, dezembro 3-8, 2000. Porto Alegre: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000. p. 1. Trabalho completo.

FREITAS, K.R. *Caracterização e reuso de efluentes do processo de beneficiamento da indústria têxtil*, 2002. 151 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Centro Tecnológico; Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2002.

FUJISHIMA, K.; FUKUOKA, A.; YAMAGISHI, A.; INAGAKI, S.; FUKUSHIMA, Y.; ICHIKAWA, M. Photooxidation of benzene to phenol by ruthenium bipyridine complexes grafted on mesoporous silica FSM-16. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, v. 166, p. 211–218, 2001.

FUNG, P.C.; HUANG, Q.; TSUI, S.M.; POON, C.S. Treatability study of organic and colour removal in desizing/dyeing wastewater by UV/US system combined with hydrogen peroxide. *Water Science and Technology*, v. 40, p. 153–160, 1999.

FUNGARO, D.A.; IZIDORO, J.C.; ALMEIDA, R.S. Remoção de Compostos tóxicos de solução aquosa por adsorção com zeólita sintetizada a partir de cinzas de carvão. E*clética Química*, v. 30, p. 31-35, 2005.

GAST, C.J. VAN DER; WHITELEY, A.S.; LILLEY, A.K.; KNOWLES, C. J.; THOMPSON, I.P. Bacterial community structure and function in a metalworking fluid. *Environmental Microbiology*, v. 5, p. 453-461, 2003.

GESAMP - Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution. *Impact of oil and related chemicals and wastes on the marine environment*. Reports and Studies, 1993, p. 180.

GOPINATH, S.C.B.; ANBU, P.; HILD, A. Extracellular enzymatic activity profiles in fungi isolated from oil-rich environments. *Mycoscience*, v. 46, p. 119–126, 2005.

GOUVEIA, E.R.; HOKKA, C.O.; BADINO, A.C. Estudos hidrodinâmicos e de transferência de oxigênio em bioreator air-lift. In: *SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES 13º*, agosto 7-10, 2000. Teresópolis: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2000. CD ROM.

GUERRA, R. Ecotoxicological and Chemical Evaluation of Phenolic Compounds in Industrial Effluents. *Chemosphere*, v. 44, p. 1737-1747, 2001.

GOGATE, P.R.; PANDIT, A.B. A review of imperative technologies for wastewater treatment II: hybrid methods. *Advances in Environmental Research*, v.8, p. 553–597, 2004.

GUSMÃO, L.F.P.; BASEIA, I.G. A list of type specimens of microfungi described by P. hennings held at the herbarium of Instituto de Botânica (SP). *Mycotaxon*, v. 78, p. 491-497, 2001.

GUSMÃO, L.F.P.; GRANDI, R.A.P. Hyphomycetes com conidiomas dos tipos esporodóquio e sinema associados a folhas de *Cedrela fissilis* (Meliaceae), em Maringá, PR, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 11, p. 123- 134, 1997.

HARTMANN, C.C. *Avaliação de um efluente industrial através de ensaios ecotoxicológicos e análises físicas e químicas*, 2004. 85 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia). Departamento de Ecologia; Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2004.

HAUS, F.; GERMAN, J.; JUNTER, G.A. Viscosity properties of mineral paraffinic base oils as a key factor in their primary biodegradability. *Biodegradation*, v. 11, p. 365-369, 2000.

HOPPEN, C.; PORTELLA, K.F.; JOUKOSKI, A.; BARON, O.; FRANCK, R.; SALES, A.; ANDREOLI, C.V.; PAULON, V.A. Co-disposição de Lodo centrifugado de estação de tratamento de água (ETA) em matriz de concreto: Método alternativo de preservação ambiental. *Cerâmica*, v. 51, p. 85-95, 2005.

HURURAY, A.F.P.; PEREIRA JUNIOR, N.; MARINS, M.D.M. *Desempenho de um bioreator do tipo CSTR no processo de degradação de borra oleosa*. Rio de Janeiro: Petrobrás, 1998. p. 125-132. Boletim Técnico.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: http://www.ibge.gov.br - Acesso em: 16/08/2005.

IGNÁCIO, E. A. *Caracterização da legislação ambiental brasileira voltada para a utilização de fluidos de corte na indústria metal-mecânica*, 1998. 134 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção). Departamento de Engenharia de Produção e Sistemas; Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 1998.

INCE, N. H. ´´Critical´´ effect of hydrogen peroxide in photochemical dye degradation. *Water Research*, v. 33, p. 1080-1084, 1999.

IWASHITA, S.; CALLAHAN, T.P.; HAYDU, J.; WOOD, T.K. Mesophilic aerobic degradation of metal lubricant by a biological consortium. *Applied Microbiology Biotechnol*ogy, v. 65, p. 620-626, 2004.

JANUÁRIO, G.F.; FERREIRA FILHO, S.S. Planejamento e aspectos ambientais envolvidos na disposição final de lodos das estações de tratamento de água da região metropolitana de São Paulo. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v. 12, p. 117-126, 2007.

KAMBOUROVA, M.; KIRILOVA, N.; MANDEVA, R.; DEREKOVA. A. Purification and properties of thermostable lipase from a thermophilic *Bacillus stearothermophilus* MC7. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 22, p. 307-313, 2003.

KAMMERMEIER, B. Furação sem refrigeração: Somente razões ecológicas. *Revista Metal Mecânica*, abril/maio, p. 62-69, 2000.

KANG, S.F.; LIAO, C.H.; HUNG, H. Peroxidation treatment of dye manufacturing wastewater in the presence of ultraviolet light and ferrous ions. *Journal Hazardous Materials*, v. 65, p. 317-333, 1999.

KIM, S.; VOGELPOHL, A. Degradation of organic pollutants by the photo-fenton-process. *Chemical Engineering & Technology*, v. 21, p. 187-191, 1998.

KIM, B.R.; ZEMLA, J.F.,; ANDERSON, S.G.; STROUP, D.P.; RAI, D.N. Anaerobic removal of COD in metal-cutting-fluid wastewater. *Water Environment Research*, v. 64, p. 216-222, 1992.

KIRK, P.M.; CANNON, P.F.; DAVID, J.C.; STALPERS, J.A. *Dictionary of the Fungi*. 9º ed. New York: CAB. International, Wallingford, 2001. p. 771.

KURNIAWAN, T.A.; CHAN G.Y.S.; WAI-HUNG, L.; BABEL, S. Physico–chemical treatment techniques for wastewater laden with heavy metals. *Chemical Engineering Journal*, v. 118, p. 83–98, 2006.

LARENA, I.; DE CAL, A.; MELGAREJO, P. Solid substrate production of *Epicoccum nigrum* conidia for biological control of brown rot on stone fruits. *International Journal of Food Microbiology*, v. 94, p. 161-167. , 2004

LEAHY, J.G.; SHREVE, G.S. The effect of organic carbon on the sequential reductive dehalogenation of tetrachoethylene in landfill leachates. *Water Research*, v. 34, p. 2390-2396, 2000.

LEE, J.D.; LEE, S.H.; JO, M.H.; PARK, P.K.; LEE, C.H.; KWAK, J.W. Effect of coagulation on membrane filtration: Characteristics in coagulation-microfiltration process for water treatment. *Environmental Science & Technology*, v. 34, p. 3780-3788, 2000.

LEGRINI, O.; OLIVEROS, E.; BRAUN, A.M. Photochemical processes for water treatment. *Chemical Reviews*, v. 93, p. 671-698, 1993.

LIANG, S.; LIU, C.; SONG, L. Soluble microbial products in membrane bioreactor operation: Behaviors, characteristics and fouling potential. *Water Research*, v. 41, p. 95-101, 2007.

MALATO, S.; BLANCO, J.; FERNÁNDEZ-ALBA, A.R.; AGÜERA, A. Solar photocatalytic mineralization of commercial pesticides: Acrinathrin. *Chemosphere*, v. 40, p. 403-409, 2000.

MARIANO, J.B. *Impactos ambientais do refino de petróleo*, 2001. 279 p. Tese (Doutorado em Ciências e Planejamento Energético). Departamento de Engenharia; Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2001.

MATTOS, I.L.; SHIRAISHI, K.A.; BRAZ, A.D.; FERNANDES, J.R. Peróxido de hidrogênio: Importância e determinação. *Química Nova*, v. 26, p. 373-380, 2003.

MELLO, J.M.M. *Biodegradação dos compostos BTEX em um reator com biofilme*, 2007. 151 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Centro Tecnológico; Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2007.

MENDES, A.A.; CASTRO, H.F.; PEREIRA, E.B.; FURIGO JR., A. Aplicação de lipases no tratamento de águas residuárias com elevados teores de lipídeos. *Quimica. Nova*, v. 28, p. 296-305, 2005.

MENDEZ, S.V.; MONDINO, P. Control Biológico Postcosecha em Uruguay. *Horticultura Internacional*, 1999, vol. 7, p. 29-36.

MESQUITA, P.L. *Caracterização de produtos microbianos solúveis (SMPs) em reatores aeróbio e anaeróbio de bancada em diferentes condições operacionais*, 2009. 137 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Departamento de Engenharia; Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro preto, 2009.

MILLER, R.; ANDERSON, J. *Methods of reducing chemical oxygen demand of metalworking fluids after pre-treatment by membrane separation*. SME Technical Paper (Series) MR, 1993. p. 1-16.

MINITAB Compatível com Windows Vista. Versão 15.1 [CD-ROM]. Minitab Inc., 2007.

MISHRA, V.S.; MAHAJANI, V.V.; JOSHI, J.B. Wet air oxidation. *Industrial Engineering Chemistry Research*, v. 34, p. 2-48, 1995.

MOHSEN, M.S.; JABER, J.O. Potential of industrial wastewater reuse. *Desalination*, v. 52, p. 281-289, 2002.

MONTEIRO, M.I. *Tratamento de efluentes oleosos provenientes da indústria metal-mecânica e seu reuso*, 2006. 148 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial). Departamento de Biotecnologia Industrial, Universidade de São Paulo. Lorena, 2006.

MORAIS, J.L. *Estudo da potencialidade de processos oxidativos avançados, isolados e integrados com processos biológicos tradicionais, para tratamento de chorume de aterro sanitário*, 2005. 207 p. Tese (Doutorado em Química). Setor de Ciências Exatas; Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

MORILLO, J.A.; AGUILERA, M.; ANTÍZAR-LADISLAO, B.; FUENTES, S.; RAMOS-CORMENZANA, A.; RUSSELL, N.J.; MONTEOLIVA-SÁNCHEZ, M. Molecular microbial and chemical investigation of the bioremediation of two-phase olive mill waste using laboratory-scale bioreactors. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 79, p. 309–317, 2008.

MORITA, D.M.; SAMPAIO, A.O.; MIKI, M.K.; DAVID, A.C. Incorporação de lodos de estações de tratamento de água em blocos cerâmicos. *Revista Saneas*, v. 1, p. 7-12, 2002.

MOTA, A.L.N. *Desenvolvimento de um reator fotoquímico aplicável no tratamento de efluentes fenólicos presentes na indústria do petróleo*, 2005. 113 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia; Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2005.

MOTA, S. *Introdução à Engenharia Ambiental*. 3th Ed. Rio de Janeiro: ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2003. p. 419.

MOTTA, F.; MACHADO, A.R. Fluidos de corte: tipos, funções, seleção, métodos de aplicação e manutenção. *Revista Máquinas e Metais*, n. 356, p. 44-56, 1995.

MUSZYNSKI, A.; LEBKOWSKA, M. Biodegradation of used metalworking fluids in wastewater treatment. *Polish Journal of Environmental Studies*, v.14, p. 73-79, 2005.

MUSZYNSKI, A.; ZALESKA-RADZIWILL, M.; LEBKOWSKA, M.; NOWAK, D. Biological and electrochemical treatment of used metalworking fluids: A Toxicity-reduction evaluation. *Archives Environmental Contamination Toxicology*, v. 52, p. 483-488, 2007.

MYCOLOGY ONLINE. The University of Adelaide. Disponível em: http://www.mycology.adelaide.edu.au - Acesso em: 24/06/2009.

NASCIMENTO, S.C.; HYPOLITO, R.; RIBEIRO, A.A. Disponibilidade de metais pesados em aterro de indústria siderúrgica. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v. 11, p. 196-202, 2006.

NEDWELL, D.B. Effect of low temperature on microbial growth: Lowered affinity for substrates limits growth at low temperature. *Microbiology Ecology*, v. 30, p. 101-111, 1999.

NEYENS, E.; BAEYENS, J. A review of classic fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. *Journal of Hazardous Materials*, v. 98, p. 33-50, 2003.

NUNES, J.A. *Tratamento físico-químico de águas residuárias industriais*. 3th ed, Aracaju: Ed. Triunfo, 2001. p. 298.

OENNING Jr., A. *Avaliação de tecnologias avançadas para o reuso de água em indústria metal-mecânica*, 2006. 224 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental). Departamento de Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental; Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.

OENNING JR, A.; PAWLOWSKY, U. Avaliação de Tecnologias avançadas para o reuso de água em indústria metal-mecânica. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v. 12, p. 305-316, 2007.

OKPOKWASILI, G.C.; OKORIE, B.B. Biodeterioration potentials of microorganisms isolated from car engine lubricating oil. *Tribology International*, v. 21, p. 215-220, 1988.

OLIVEIRA, A. *Otimização das condições de usinagem visando o torneamento a seco do aço ABNT 1045 em operação de desbaste*, 2005. 115 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica). Instituto Fábrica do Milênio; Universidade de Campinas. Campinas, 2005.

OLIVEIRA, M.C.; NOGUEIRA, R.F.P.; GOMES NETO, J.A.; JARDIM, W.F.; ROHWEDDER, J.J.R. Sistema de injeção em fluxo espectrofotométrico para monitorar peróxido de hidrogênio em processo de fotodegradação por reação foto-fenton. *Química Nova*, v. 24, p. 188-190, 2001.

OLLIVIER, B.; MAGOT, M. *Petroleum Microbiology*. Washington DC: Ed. ASM Press, 2005. p. 365.

OSHA - *Administration of Security and Health in the Work*. Disponível em: www.osha.go – Acesso em: 12/03/2006.

OTOKUNEFOR, T.V.; OBIUKWU, C. Impact of refinery effluent on the physicochemical properties of a water body in the Niger delta. *Applied Ecology and Environmental Research*, v. 3, p. 61-72, 2005.

OZGENCIL, H. *Treatment of spent metalworking fluids using biodegradation and advanced oxidation processes*,2007. 105 p. Thesis (Master in Science). School of Applied Sciences; Cranfield University. Cranfield, 2007.

PASCUAL, S.; MELGAREJO, P.; MAGAN, N. Water availability affects the growth, accumulation of compatible solutes and the viability of the biocontrol agent *Epicoccum nigrum*. *Mycopathologia*, v. 156, p. 93-100, 2002.

PELCZAR, M.J.JR.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. *Microbiologia: Conceitos e aplicações*, 2th ed. São Paulo: Ed. Makron Books, 1997. v. 1. p. 556.

PERALTA-ZAMORA, P.; ESPOSITO, E.; REYES, J.; DURAN, N. Remediação de efluentes derivados da indústria de papel e celulose: Tratamento biológico e fotocatalítico. *Química Nova*, v. 20, p. 186-190, 1999.

PEREIRA NETO, A.; BRETZ, J.S.; MAGALHÃES, F.S.; MANSUR, M.B.; ROCHA, S.D.F. Alternativas para o tratamento de efluentes da indústria galvânica. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v. 13, p. 263-270, 2008.

PEREIRA, L.T.C.; LEMOS, J.L.S. *Degradação de Hidrocarbonetos de Petróleo por Aspergillus niger e Penicillium corylophilum*. Rio de Janeiro: Centro de Tecnologia Mineral – CETEM, 2004. p. 1-11. Artigo Técnico.

PERES, F.A.S.; TEIXEIRA, L.A.C.; YOKOYAMA, L.; CAMPOS, J.C.; MIGUEL, M.A.L. Tratamento de águas de refrigeração com peróxido de hidrogênio. *Química Nova*, v. 31, p. 1851-1855, 2008.

PÉREZ, M.; TORRADES, F.; GARCIA-HORTAL, J.A.; DOMENECH, X.; PERAL, J. Removal of organic contaminants in paper pulb treatment effluents snder fenton and photo-fenton conditions. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 36, p. 63-74, 2001.

PIUBELI, F.A.; BIANCHI, E.C. ; AGUIAR, P.R. ; ARRUDA, M.S.P. ; ARRUDA, O.S. Análise microbiológica de fluido de corte em operação de usinagem. *Editorial do Centro de Informação Metal-mecânica*, p. 25-26. junho 2004. Editorial.

POLEZI, M. *Aplicação de processo oxidativo avançado ($H_2O_2$ / UV) no efluente de uma ETE para fins de reuso*, 2003. 113 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Departamento de Engenharia Civil; Universidade de Campinas. Campinas, 2003.

POTIN, O.; VEIGNIE, E.; RAFIN, C. Biodegradation of polycyclicaromatic hydrocarbons (PAHs) by *Cladosporium sphaerospermum* isolated from an aged PAH contaminated soil. *Microbiology Ecology*, v. 51, p. 71-78, 2004.

PYRCHENKOVA, I.A.; GAFAROV, A.B.; PUNTUS, I.F.; FILONOV, A.E.; BORONIN, A.M. Selection and characterization of active psychrotrophic microbial oil-degrading microorganisms. *Applied Biochemistry and Microbiology*, v. 42, p. 263–269, 2006.

QUEISSADA, D.D.; PEROVANO FILHO, N.; PEREIRA, S.T.; LOPEZ, A.M.Q. Biotransformação de agroquímicos presentes em água de lavagem de cana por microrganismos nativos. In: *ENCONTRO NACIONAL DE BIÓLOGOS 5º*, agosto 3-6, 2003. Natal: Conselho Federal de Biologia, 2003. p. 131. Resumo expandido.

RAVINA, L. *Everything You Want to Know About Coagulation & Flocculation*. 4th ed. New York: Ed. Zeta-Meter, 1993. p. 37.

RUNGE, P.R.F.; DUARTE, G.N. *Lubrificantes nas indústrias – produção, manutenção e controle*. Cotia: Ed. Triboconcept, 1990, p. 71-171. Edições Técnicas.

SAMPAIO, S.C.; SILVESTRO, M.G.; FRIGO, E.P.; BORGES, C.M. Relação entre séries de sólidos e condutividade elétrica em diferentes águas residuárias. *Irrigação Botucatu*, v. 12, p. 557-562, 2007.

SANTOS, A.; YUSTOS, P.; RODRIGUEZ, S.; SIMON, E.; GARCIA-OCHOA, F. Abatement of phenolic mixtures by catalytic wet oxidation enhanced by fenton's pretreatment: Effect of $H_2O_2$ dosage and temperature. *Journal of Hazardous Materials*, v. 146, p. 595-601, 2007.

SARRIA, V.M.; PÉRINGER, D.P.; PULGARIN, C. Degradation of a biorecalcitrant dye precursor present in industrial wastewaters by a new integrated iron (III). Photoassisted – biological treatment. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 40, p. 231–246, 2003.

SCHEUER, C.; WIMMER, B.; BISCHOF, H.; NGUYEN, L.; MAGUHN, J.; SPITZAUER, P.; KETTRUP, A.; WABNER, D. Oxidative decomposition of organic water pollutants with UV-activated hydrogen peroxide determination of anionic products by ion chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 706, p. 253-258, 1995.

SCHOEMAN, J. J.; NOVHE O. Evaluation of microfiltration for the treatment of spent cutting-oil. *Water SA*, v. 33, p. 245-248, 2007.

SCHUCH, R.; GENSICKE, R.; MERKEL, K.; WINTER, J. Nitrogen and DOC removal from wastewater streams of the metal-working industry. *Water Research*, v. 34, p. 295-303, 2000.

SHENG, G.; YU, H. Characterization of extracellular polymeric substances of aerobic and anaerobic sludge using three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectroscopy. *Water Research*, v. 40, p. 1233-1239, 2006.

SILLIMAN, J.D. *Cutting and grinding fluids:* selection and application. 2th ed. Michigan: Society of Manufacturing Engineers, 1992. Cap. 1, p. 1-29.

SOKOVIC, M.; MIJANOVIC, K. Ecological aspects of the cutting fluids and its influence on quantifiable parameters of the cutting processes. *Journal of Materials Processing Technology*, v. 109, p. 181-189, 2001.

SPSS Compátivel com Windows Vista. Versão 7.0 [CD-ROM]. SSPS Inc., 1996.

STEPNOWSKI, P.; SIEDLECKA, E.M.; BEHREND, P.; JASTORFF, B. Enhanced photo-degradation of contaminants in petroleum refinery wastewater. *Water Research*, v. 36, p. 2167–2172, 2002.

SUZNJEVIC, D.; BLAGOJEVIC, S.; VUCELIC, D.; ZUMAN, P. Polarographic determination of hydrogen peroxide in perborate containing commercial detergents under the bleaching process condition. *Electroanalysis*, v. 9, p. 861-864, 1997.

TANO-DEBRAH, K.; FUKUYAMA, S.; OTONARI, N.; TANIGUCHI, F.; OGURA, M. An inoculum for the aerobic treatment of wastewaters with high concentrations of fats and oils. *Bioresource Technology*, v. 69, p. 133-139, 1999.

TESSARO, E. P. *Avaliação de processos oxidativos para o tratamento ambiental adequado de fluidos de corte*, 2008. 96 p. Dissertação (Mestrado em Química). Departamento de Química; Universidade de São Paulo. São Carlos, 2008.

THANH, N.C.; SIMARD, R.E. Biological treatment of domestic sewage by fungi. *Mycopathologia et Mycologia Applicata*, v. 51, p. 223-232, 1973.

TRIOLA, M. F. *Introdução à Estatística*. 7th ed. Rio de Janeiro: Ed. LTC, 1998. p. 410.

URURAHY, A.F.P. *Biodegradação de resíduo oleoso proveniente de refinaria de petróleo*, 1998. p. 344. Tese (Doutorado em Química). Escola de Química; Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 1998.

VAN DER GAST, C.J.; KNOWLES, C.J.; STARKEY, M.; THOMPSON, I.P. Selection of microbial consortia for treating metal-working fluids. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, v. 29, p. 20 –27, 2002.

VAN DER GAST, C.J.; THOMPSON, I.P. Effects of pH amendment on metal working fluid wastewater biological treatment using a defined bacterial consortium. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 89, p. 357-366, 2004.

VAN DER GAST, C.J.; WHITELEY, A.S.; STARKEY, M.; KNOWLES, C.J; THOMPSON, I.P. Bioaugmentation strategies for remediating mixed chemical effluent. *Biotechnology Progress*, v. 4, p. 1156-1161, 2003.

VAN DER MERWE, R.; BADENHORST, J.; BRITZ, T.J. Fungal treatment of an edible oil containing industrial effluent. *Word Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 21, p. 947-953, 2005.

VAN LIMBERGEN, H.; TOP, E.M.; VERSTRAETE, W. Bioaugmentation in activated sludge: current features and future perspectives. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 50, p.16-23, 1998.

VAN SCHIE, P.M.; YOUNG, L.Y. Isolation and characterization of phenol degrading denitrifying bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 64, p. 2432–2438, 1998.

VANDEVIVERE, P.C.; BIANCHI, R.; VERSTRAETE, W. Treatment and reuse of wastewater from the testile wet-processing industry. Review of emerging technologies. *Journal of Chemistry Biotechnology*, v. 72, p. 289-302, 1998.

VIEIRA, J.G.; GOMES, C.B.; SANTOS, S.P.; CANDAS, S.S.; PIEDRAS, S.R.N.; ISOLDI, L.A. *Determinação de parâmetros físico-químicos para o efluente de uma indústria de óleo vegetal*. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2006. 4 p.

VIEIRA, D.S.; CAMMAROTA, M.C.; CAMPORESE, E.F.S. Redução de contaminantes presentes na água de produção de petróleo. In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE P & D EM PETRÓLEO E GÁS 2º*, junho 15-19, 2003. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2003. Trabalho completo.

VEILLETTE, M.; THORNE, P.S.; GORDON, T.; DUCHAINE, C. Six month tracking of microbial growth in a metalworking fluid after system cleaning and recharging. *British Occupation Hygiene Society*, v. 48, p. 541-546, 2001.

VOGUEL, A.L. *Análise Inorgânica Quantitativa*. 4th ed. Rio de Janeiro: Ed Guanabara Dois, 1981. p. 692.

WITTIG, H.P.P.; JOHNSON, K.B.; PSCHEIDT, J.W. Effect of epiphytic fungi on brown rot blossom blight and latent infections in sweet cherry. *Plant Disease*, v. 81, p. 383-387, 1997.

ZHAO, X.K.; YANG, G.P.; WANG, Y.J.; GAO, X.C. Photochemical degradation of dimethyl phthalate by fenton reagent. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v. 161, p. 215–220, 2004.

ZHOU, G.; FANG, H.H.P. Co-degradation of phenol and m-cresol in a UASB reactor. *Bioresource Technology*, v. 61, p. 47-52, 1997.