

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

CLÁUDIO MÁRCIO DO AMARAL SOUZA

**Biodegradação de cianeto em efluente siderúrgico utilizando lodo da estação de
tratamento biológico e lodo liofilizado, em escala laboratorial e planta piloto**

LORENA

2014

CLÁUDIO MÁRCIO DO AMARAL SOUZA

Biodegradação de cianeto em efluente siderúrgico utilizando lodo da estação de tratamento biológico e lodo liofilizado, em escala laboratorial e planta piloto

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências, do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial, na área de Conversão de Biomassa.

Orientadora: Prof^a. Dr^a.Teresa Cristina
Brazil de Paiva

Versão Original

Lorena
2014

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.

Catálogo na Publicação

Biblioteca “Cel. Luiz Sylvio Teixeira Leite”
Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo

Souza, Cláudio Márcio do Amaral

Biodegradação de cianeto em efluente siderúrgico utilizando lodo da estação de tratamento biológico e lodo liofilizado, em escala laboratorial e planta piloto./ Cláudio Márcio do Amaral Souza. –Versão original. - 2014.

82 p.: il.

Dissertação (Mestre em Ciências – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Conversão de Biomassa) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2014.

Orientador: Teresa Cristina Brazil de Paiva

1. Efluentes 2. Cianeto 3. Lodo ativado 4. Lodo liofilizado. I. Título. II.

Paiva, Teresa Cristina Brazil de, orient.

628.35 - CDU

Dedico este trabalho aos meus pais,
em retribuição à educação que tive.

À minha esposa e aos meus filhos,
como incentivo à busca do conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por permitir que eu realizasse esse trabalho e por estar comigo em todos os momentos, me abençoando, me dando força, sabedoria e perseverança.

À minha esposa Jacqueline, companheira de todas as horas, que assumiu as responsabilidades e cuidou de tudo, quando precisei me ausentar.

Aos meus filhos Júlia e Pedro Henrique, pela paciência, pela compreensão nos momentos em que estive ausente, na execução deste trabalho.

Ao meu irmão Júlio, pelo incentivo e preocupação com o sucesso desse estudo.

À minha querida orientadora Prof^ª. Teresa Cristina, pelo seu profissionalismo, pela sua dedicação, pelo apoio, pela paciência, pela confiança e, por não ter desistido desse trabalho.

Ao Prof^º. Carlos Sanches, pela amizade, pelo incentivo e pelo apoio incondicional no desenvolvimento desse trabalho.

Ao Alexandre, pelo suporte na montagem do experimento em laboratório e pelas análises.

Ao Luciano, pela contribuição na montagem do experimento de laboratório.

À Lucinha, pela grande ajuda na realização das análises.

Ao meu antigo chefe Hideaki Hoçoya, por acreditar neste trabalho e conseguir minha liberação da empresa para executar os estudos.

Ao meu chefe Wallace por conseguir minha liberação da empresa nos momentos decisivos.

Aos meus amigos Leandro, Marco Antonio e Rafael pelo auxílio na estruturação da dissertação.

Aos meus amigos Daniel e Nilton, pela contribuição nos desenhos e levantamento de informações para montagem da planta piloto.

Aos colegas de trabalho Reinaldo, Thielli, Giovany, Alessandro, Gustavo e Alan, pela contribuição na execução das análises e nos estudos.

Ao pessoal da EEL, Andre, Joel, Dôra e Regina Horta pela fundamental colaboração na reta final.

Ao meu pai Antonio, por ter sido um grande empreendedor sem ter tido oportunidade de estudar e por ter deixado a herança de estudo para os filhos.

À minha mãe Regina, grande gestora, por me incentivar nos estudos.

RESUMO

SOUZA, C. M. A. **Biodegradação de cianeto em efluente siderúrgico utilizando lodo da estação de tratamento biológico e lodo liofilizado, em escala laboratorial e planta piloto.** 2014, 79p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2014.

A indústria siderúrgica gera seus efluentes com altas concentrações de cianeto. O cianeto é uma substância altamente tóxica que deve ser degradada para ser eliminada do efluente, obedecendo a legislação vigente, Resolução CONAMA nº 430 de 13 de maio de 2011, que fixa os padrões para descarte de efluentes nos corpos receptores. O processo convencional de tratamento físico-químico usado para esta tipologia de efluente é a conversão de cianeto em complexo metálico. Entretanto, este processo é normalmente dispendioso e requer tratamento posterior dos subprodutos gerados, bem como da lama gerada contendo o complexo metálico de cianeto. Uma alternativa ao tratamento físico-químico é o uso da biodegradação por alguns gêneros de bactérias, incluindo *Pseudomonas*. A biodegradação de efluente siderúrgico contendo cianeto pelo processo de lodo ativado, utilizando microrganismos do tratamento biológico existente, torna-se uma alternativa para substituição parcial do tratamento físico-químico convencional. Logo, este trabalho teve por objetivo principal, avaliar a biodegradação de cianeto em um efluente siderúrgico, utilizando lodo ativado da estação de tratamento biológico e lodo liofilizado comercial. Foram realizados ensaios em escala laboratorial e em planta piloto. Em escala laboratorial, a redução da concentração de cianeto utilizando lodo da estação de tratamento biológico foi de 66% e com o lodo liofilizado comercial, a redução foi de 71%. Os resultados de degradação de cianeto na planta piloto, utilizando o lodo da estação de tratamento biológico e o lodo liofilizado, foram redução de 33% e 69%, respectivamente. Os resultados obtidos demonstraram que houve biodegradação de cianeto tanto em escala laboratorial quanto em planta piloto. A biodegradação de cianeto no efluente siderúrgico com concentrações reduzidas de amônia e fenol, sugere que os microrganismos utilizaram o cianeto como fonte de carbono e nitrogênio, aumentando dessa forma, a taxa de degradação.

Palavras-chave: Efluente, Cianeto, Lodo ativado, Lodo liofilizado.

ABSTRACT

SOUZA, C. M. A. **Biodegradation assessment of cyanide in steel plant wastewater using its own sludge from the treatment plant on the laboratory scale and pilot plant.** 2014, 79p. Dissertation (Master of Science). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2014.

The steel industry generates its effluents with high concentrations of cyanide. Cyanide is a highly toxic substance that must be degraded to be eliminated from the effluent complying with current legislation, CONAMA Resolution No. 430 of 13 May 2011 laying down the standards for discharge of effluents into bodies receptores. The conventional physico-chemical treatment process used for this type of effluent is the conversion of cyanide into metal complex. However, this process is costly and usually requires further treatment of the byproducts generated, as well the generated sludge containing the metal complex of Cyanide. An alternative to physico-chemical treatment is the use of biodegradation for a few genres of bacteria including *Pseudomonas*. The biodegradation of steel plant effluent containing cyanide by the activated sludge process, using microorganisms of the existing biological treatment, becomes an alternative to partial replacement of conventional physico-chemical treatment. Therefore, this study was aimed to evaluate the biodegradation of cyanide in a steel plant wastewater using activated sludge from biological treatment station and sludge lyophilized commercial. Tests on laboratory scale and pilot plant were performed. In laboratory scale, the concentration reducing of cyanide using sludge from biological treatment plant was 66% and the commercial lyophilized sludge the reduction was 71%. The results of degradation of cyanide in the pilot plant using biological treatment of mud and sludge lyophilized station were reduced by 33% and 69%, respectively. The results showed that there was biodegradation of cyanide in laboratory scale and pilot plant. The biodegradation of the steel plant cyanide effluent with reduced concentrations of ammonia and phenol, suggests that the microorganisms used the cyanide as source of carbon and nitrogen, thus increasing the rate of degradation.

Keywords: Effluent, cyanide, activated sludge, sludge lyophilized.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura do íon ferrocianeto	23
Figura 2	Estrutura do íon ferricianeto	23
Figura 3	Diagrama da cadeia respiratória	24
Figura 4	Estação de tratamento biológico de lodo ativado	27
Figura 5	Diagrama de tratamento convencional físico-químico de cianeto pela adição de sulfato ferroso	27
Figura 6	Diagrama das várias vias metabólicas para degradação de cianeto	34
Figura 7	Esquema de degradação de cianeto em diferentes compostos	35
Figura 8	Estação de tratamento biológico de lodo ativado – tanque de recebimento de efluente	40
Figura 9	Estação de tratamento biológico de lodo ativado – tanque de aeração	41
Figura 10	Tratamento biológico em escala laboratorial para avaliação da degradação de cianeto	47
Figura 11	Esquema da planta piloto para degradação de cianeto	50
Figura 12	Avaliação da concentração de cianeto no tratamento biológico de lodo ativado	53
Figura 13	Avaliação da concentração de amônia no tratamento biológico de lodo ativado	54
Figura 14	Redução da concentração de amônia e cianeto no tratamento biológico de lodo ativado	54
Figura 15	Redução da concentração de fenol no tratamento biológico	56
Figura 16	Crescimento de microrganismos em meios não seletivos	57
Figura 17	Crescimento de microrganismos em meios seletivos	57
Figura 18	Avaliação da concentração de cianeto em escala laboratorial com lodo ativado	60
Figura 19	Figura 19: Redução concentração de cianeto em escala laboratorial	61
Figura 20	Comparativo da % de redução de cianeto em escala laboratorial e no tratamento biológico	61
Figura 21	Avaliação da concentração de cianeto em escala laboratorial com lodo liofilizado	62

Figura 22	Comparativo da % de redução de cianeto em escala laboratorial com lodo liofilizado e no tratamento biológico	63
Figura 23	Avaliação da concentração de cianeto em planta piloto com lodo ativado ..	64
Figura 24	Redução da concentração de cianeto em planta piloto com lodo ativado	64
Figura 25	Avaliação da concentração de cianeto em planta piloto com lodo liofilizado	65
Figura 26	Redução da concentração de cianeto em planta piloto com lodo liofilizado	66
Figura 27	Comparativo da redução da concentração de cianeto no tratamento de lodo ativado, em escala laboratorial e planta piloto com lodo liofilizado ..	67
Figura 28	Comparativo da redução da concentração de cianeto no tratamento de lodo ativado, em escala laboratorial e planta piloto com lodo ativado	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Produção de aço bruto no Brasil e no mundo em toneladas/ano	17
Tabela 2	Concentração média dos contaminantes de efluentes de coqueria	18
Tabela 3	Resultados de análises físicas e químicas do efluente tratado na estação de tratamento biológico de lodo ativado	52
Tabela 4	Resultados de análises físicas e químicas do efluente bruto na entrada do tratamento biológico de lodo ativado	52
Tabela 5	Resultados da avaliação da concentração de fenol no efluente do tratamento biológico de lodo ativado	55
Tabela 6	Resultados de CE50 48 h e intervalo de confiança (IC), obtidos na avaliação de sensibilidade de <i>D. similis</i> , utilizando NaCl g/L como substância de referência	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Aq	Aquoso
ATSDR	Department of Health and Human Services. Toxicological Profile for Trichloroethylene
BTX	Benzeno, Tolueno, Xileno
CH ₄	Gás metano
CH ₂ =NH	Metanoimina
CH ₃ -NH ₂	Metilamina
CH ₂ =O	Metanal
CNO ⁻	Íon cianato
CN ⁻	Íon cianeto
CO	Monóxido de carbono
CO ₂	Dióxido de carbono
CuSO ₄	Sulfato de cobre
Cu ²⁺	Íon cobre 2
[Cu(CN) ₄] ²⁻	Íon cobre cianeto
e ⁻	Elétron
ETE	Estação de tratamento de efluente
Fe ²⁺	Íon ferro +2
Fe ³⁺	Íonferro +3
Fe ₂ [Fe(CN) ₆]	Ferrocianeto ferroso, Azul da Prússia
Fe ₄ [Fe(CN) ₆] ₃	Ferrocianeto férrico
Fe ₃ [Fe(CN) ₆] ₂	Ferrocianeto ferroso
[Fe(CN) ₆] ³⁻	Íon hexaferricianeto
[Fe(CN) ₆] ⁴⁻	Íon hexaferrocianeto
FeSO ₄	Sulfatoferroso
H ₂ S	Sulfeto de hidrogênio, gás sulfídrico
HCN	cianeto de hidrogênio
H ₃ O ⁺	Hidrônio, cátionoxônio
H ⁺	Íon hidrogênio
Hg(CN) ₂	Cianeto de mercúrio
H ₂ O ₂	Peróxidode hidrogênio

HCNO	Metanamida, formamida
KCN	Cianeto de potássio
Ka	Constante de equilíbrio
HCOOH	Ácido metanóico ou fórmico
IBS	Instituto Aço Brasil, antigo Instituto Brasileiro de Siderurgia
ICMI	International Cyanide Management Code For The Manufacture, Transport and Use of Cyanide In The Production of Gold
NaCl	Cloreto de sódio
NaCN	Cianeto de sódio
NH ₃	Amônia
NAD(P)H	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NAD(P) ⁺	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidada
O	Oxigênio atômico
OH ⁻	Íon hidroxila
O ₂	Molécula de oxigênio
pH	Potencial hidrogeniônico
R-CN	Nitrila
R-CONH ₂	Amida
R-COOH	Ácido carboxílico
SO ₄ ²⁻	Íon sulfato
SCN ⁻	Tiocianetos
S ₂ O ₃	Trióxido de enxofre
SO ₃ ²⁻	Íon sulfito

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	17
2.	OBJETIVOS	20
2.1	Objetivo geral	20
2.2	Objetivos específicos	20
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
3.1	Diferentes estruturas de cianeto	21
3.2	Toxicologia do cianeto	23
3.3	Fontes de cianetos	25
3.4	Tratamento de efluentes com cianeto	26
3.5	Biodegradação de efluentes com cianeto	29
3.6	Microrganismos que degradam cianeto	35
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1	Caracterização física, química e ecotoxicológica do efluente	40
4.1.1	Efluente	40
4.1.2	Coleta de amostras	41
4.1.3	Caracterização física e química do efluente	41
4.1.3.1	Determinação da concentração de cianeto	42
4.1.3.2	Determinação do teor de Amônia	42
4.1.3.3	Determinação da concentração de fenol	43
4.1.3.4	Determinação de pH	44
4.1.3.5	Determinação da temperatura	44
4.1.4	Caracterização biológica do efluente	44
4.1.4.1	Preparo das amostras	45
4.1.4.2	Isolamento dos microrganismos nativos do efluente	45
4.1.4.3	Seleção, caracterização e identificação dos microrganismos isolados	46
4.1.4.4	Ensaio de toxicidade	46
4.2	Tratamento biológico do efluente	47
4.2.1	Tratamento biológico em escala laboratorial	47
4.2.2	Tratamento biológico em planta piloto	48
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1	Caracterização física, química e ecotoxicológica do efluente siderúrgico	51

5.2	Caracterização biológica do efluente siderúrgico	56
5.3	Ensaio de toxicidade	58
5.4	Tratamento biológico do efluente em escala laboratorial	59
5.5	Tratamento biológico do efluente em planta piloto	66
6.	CONCLUSÃO	69
7.	PERSPECTIVAS FUTURAS	70
	REFERÊNCIAS	71

1. INTRODUÇÃO

A produção mundial de aço tem ultrapassado a marca de 1,5 bilhão de tonelada/ano, nos últimos três anos. O crescente aumento de produção vem sendo puxado pela ásia, confirmando a China como maior produtor. O Brasil encontra-se na 9ª posição em produção de aço, apesar do recuo na produção em 2012 e 2013. A produção mundial de aço bruto bateu recorde em 2013, fechando o ano com 1,6 bilhão de tonelada e, o primeiro quadrimestre de 2014 apresenta dados preliminares com acréscimo de 0,1% em relação ao mesmo período de ano anterior (IBS, 2014).

Tabela 1 – Produção de aço bruto no Brasil e no mundo em toneladas/ano

	2010	2011	2012	2013
BRASIL	32,8 milhões	35,2 milhões	34,5 milhões	34,2 milhões
MUNDIAL	1,4 bilhão	1,52 bilhão	1,5 bilhão	1,6 bilhão

Fonte: Adaptado de IBS, acesso em Maio de 2014.

O processo de produção de aço consiste na obtenção do ferro gusa através do processamento do minério de ferro nos alto fornos, onde ocorre a separação do ferro de seu óxido, através da adição de coque, que atua como um redutor do ferro, proporcionando sua separação do minério.

O coque é obtido pelo processo de coqueificação, que consiste, no aquecimento do carvão mineral a altas temperaturas, em câmaras fechadas. No aquecimento às temperaturas de coqueificação e na ausência de ar, as moléculas orgânicas complexas que constituem o carvão mineral se decompõe, produzindo gases e compostos orgânicos sólidos e líquidos de baixamassa molar e um resíduo carbonáceo relativamente não volátil. Este resíduo resultante é o coque, que se apresenta como uma substância porosa, heterogênea.

A produção de coque em usinas siderúrgicas gera diversos tipos de resíduos na forma de gases e efluentes líquidos. Alguns desses gases podem ser reaproveitados no processo, enquanto outros são lavados, constituindo-se no efluente de coqueria, que é tratado em diversas etapas, envolvendo basicamente a remoção de cianetos e carga orgânica, com a geração de lodos orgânicos e químicos (KUMAR et al., 2003).

Os principais componentes dos efluentes de coqueria são hidrocarbonetos, hidrogênio, amônia, cianetos, óleos e outros gases tóxicos como BTX (KIM et al., 2007).

O efluente siderúrgico gerado em uma unidade de coqueificação é proveniente dos processos de lavagem do gás de coqueria e da água de lavagem dos carros apagadores de coque. A lavagem do gás proveniente das baterias de coque gera um efluente na forma de licor amoniacal, que além da quantidade elevada de amônia, também possui fenol, cianetos, compostos aromáticos e outras substâncias tóxicas como benzeno, tolueno e xileno (KIM et al., 2008).

A tabela 2 mostra as faixas de concentração aproximada dos contaminantes do efluente de coqueria, cujo pH varia na faixa de 8,5 a 9,5 (PRASAD; SHUKLA; SINGH, 1991).

Tabela 2 – Concentração média dos contaminantes de efluentes de coqueria

CONTAMINANTE	CONCENTRAÇÃO mg/L
Tiocianato	50-100
Tiosulfato	110-200
Amônia total	800-1400
Sulfeto	10-20
Cianeto	10-50
Fenol	500-1000
Cloreto	4000-4200

Fonte: adaptado de (PRASAD; SHUKLA; SINGH, 1991).

Atualmente, o tratamento de efluentes contendo compostos a base de cianetos é feito pelo processo físico-químico. A retirada de cianeto de um efluente pode ser feita por processos oxidativos, usando diversos agentes oxidantes (cloro, hipoclorito, ozônio, peróxido de hidrogênio) para converter o cianeto em tiocianato e ferrocianeto (YOUNG, 2001).

O processo físico-químico é eficiente, no entanto, dispendioso, tanto pelo custo dos reagentes utilizados na conversão do cianeto, como pelo custo total da operação da estação de tratamento, que após degradação do cianeto ainda deverá tratar os subprodutos gerados (DUTRA et al., 2002).

Uma alternativa a este processo e, que vem sendo avaliada, é a biodegradação do cianeto por bactérias *Pseudomonas* (IGEÑO et al., 2007).

O método de remoção de cianetos por biodegradação é mais vantajoso que os métodos físicos e químicos, pois a biodegradação é um processo mais econômico e rápido. além de ser um método eficiente, tem custos operacionais menores (AKCIL et al., 2003; AKCIL; MUDDER, 2003).

A proposta desse estudo foi avaliar as condições de processo de uma estação de tratamento biológico de efluente siderúrgico existente, que consiste em reatores biológicos para degradação de amônia, seguido de tratamento físico-químico com adição de sulfato ferroso (FeSO_4) e sulfato de cobre (CuSO_4) para complexação de cianeto.

A estação de tratamento biológico em estudo foi projetada somente para degradação de amônia através de lodo ativado. Este processo não opera para degradação de cianeto. O uso de reagentes sulfato ferroso e sulfato de cobre para complexar o cianeto gera resíduos de complexos de cianeto e sulfatos, que necessitam ser removidos do efluente tratado para, posterior descarte em corpos receptores.

A utilização dos reatores biológicos existentes para degradação também de cianeto implicará na diminuição do consumo de reagentes pela substituição parcial do tratamento físico químico.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo principal do trabalho foi avaliar a biodegradação de um efluente siderúrgico contendo cianeto pelo processo de lodo ativado, utilizando microrganismos da estação de tratamento biológico de amônia, como substituição parcial do tratamento físico-químico por tratamento biológico de lodo ativado.

2.2 Objetivos Específicos

Este estudo teve como objetivos específicos:

- a) Caracterização física, química e ecotoxicológica do efluente siderúrgico;
- b) Avaliação microbiológica do lodo ativado existente na estação de tratamento biológico de efluente siderúrgico para degradação de amônia;
- c) Avaliação em escala laboratorial da biodegradação de cianeto, amônia e fenol
- d) Montagem de estação piloto para biodegradação de cianeto, amônia e fenol;
- e) Avaliação do desempenho do lodo ativado da estação de tratamento biológico de amônia, na degradação de cianeto em estação piloto;
- f) Avaliação do desempenho de lodo liofilizado na degradação de cianeto em estação piloto;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 DIFERENTES ESTRUTURAS DE CIANETO

Os cianetos podem apresentar-se em formas diferentes, como estrutura simples ou na forma de complexo metálico, formando compostos inorgânicos como cianeto de sódio (NaCN) e cianeto de potássio (KCN), ou estruturas orgânicas chamadas de nitrilos, que derivam do ácido cianídrico através da substituição do hidrogênio por um radical de hidrocarbonetos (DASHA; GAUR; BALOMAJUMDER, 2009).

Os cianetos livres devem estar na forma não dissociada (HCN) ou na forma do íon de cianeto (CN⁻), dependendo do pH e temperatura do meio reacional (GESSNER; KADLEC; REAVES, 2005).

O ácido cianídrico (HCN) ou cianeto de hidrogênio é formado em soluções de cianetos simples e complexos através da dissociação de sais simples, ou da dissociação ou decomposição de íons complexos, e através da reação hidrolítica de íons de cianeto formados com água.

A distribuição de cianetos livres entre suas duas formas depende da concentração de íons de hidrogênio (atividade de um íon hidrônio, H₃O⁺ ou íon hidrógeno H⁺). Numa solução relativamente livre de outros complexos químicos, a atividade do cianeto de hidrogênio (HCN) pode ser descrita pelas seguintes equações de equilíbrio:



$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{CN}^-]}{[\text{HCN}]} \quad (2)$$

A ionização ou dissociação constante de HCN cresce gradativamente com o aumento da temperatura (MUDDER; BOTZ; SMITH, 2001)

Se o cianeto estiver na forma HCN, ele ficará tanto na solução em sua forma aquosa, HCN (aq), quanto escapará da solução como gás cianídrico (HCN). O HCN é relativamente volátil e tem tendência a volatilizar da solução. A taxa da volatilização do gás HCN é influenciada pelo pH e grau de agitação da solução (LIMA-NETO et al., 2006).

Os cianetos simples consistem no íon de cianeto (CN⁻) que pode combinar-se com outros compostos químicos em solução para formar cianetos simples e complexos. Os cianetos simples ou ionizáveis são geralmente definidos como compostos de cianeto que são

diretamente dissociados em espécies de cianeto livre (HCN ou CN^-). Dois exemplos de cianeto simples são o cianeto de potássio (KCN) e o cianeto de sódio (NaCN) (DASHA; BALOMAJUMDER; KUMAR, 2008).

Nas soluções de cianeto metal simples, o grupo CN pode ocorrer também na forma de metais pesados, como o cianeto de mercúrio, $\text{Hg}(\text{CN})_2$ e, também, na forma de metais alcalinos e alcalinos terrosos que são altamente solúveis na água. No entanto, cianetos simples da maioria dos metais pesados podem ser tidos como componentes importantes no comportamento do cianeto no efluente, pois são muito pouco solúveis ou praticamente insolúveis (ROCZANSKI, 2006).

Os cianetos complexos geralmente se referem aos íons de cianeto metal complexo que dissociam-se em cianeto livre e o íon metal associado. Todos os cianetos metais complexos estão em equilíbrio com espécies de cianeto livre, com a concentração de cianeto livre sendo determinada pelo pH da solução e pela constante estabilidade particular do complexo.

O aumento na estabilidade do cianeto metal depende do elemento a que está associado. Conforme as constantes de estabilidade e assumindo uma solução de pH quase neutro, os íons de cianeto metal complexo contendo cádmio, zinco e manganês irão dissociar-se completamente na solução; os complexos contendo cobre e níquel irão dissociar-se parcialmente, e os que contêm cobalto, ferro e mercúrio irão dissociar-se bem pouco (AKCIL; 2003; EZZI; LYNCH, 2005; GURBUZ; CIFTCI; AKCIL, 2009).

Os complexos de cianeto férrico podem existir tanto como ferricianeto $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, onde o ferro está na forma Fe^{3+} , quanto como ferrocianeto $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, onde o ferro está na forma Fe^{2+} . A presença de complexos de cianeto férrico num efluente industrial depende de uma variedade de condições do processo gerador, bem como, do estado de corrosão e/ou oxidação das tubulações pelas quais for conduzido. Em alguns dos casos, estes compostos podem ser formados através de processos industriais. Os complexos de cianeto férrico estão geralmente associados com os efluentes gerados através dos processos de coqueria e da destilação da alcatrão de hulha (MACHADO et al., 2000).

Além dos dois íons de cianeto férrico comum, também cita-se na literatura, a formação dos seguintes compostos de complexos de cianeto férrico: ferrocianeto ferroso, $\text{Fe}_2[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (Azul da Prússia), figura 1; ferrocianeto férrico $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$; e ferricianeto ferroso, $\text{Fe}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ (AITIMBETOV; WHITE; SETH, 2005).

Figura 1 – Estrutura do íon ferrocianeto

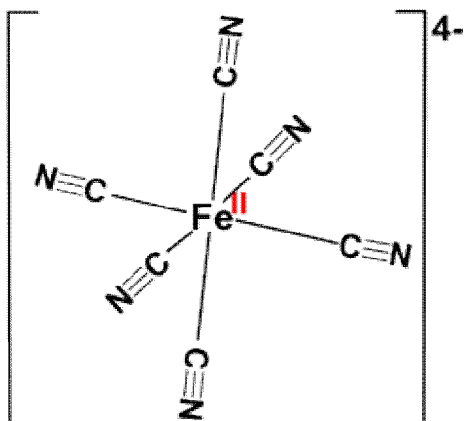
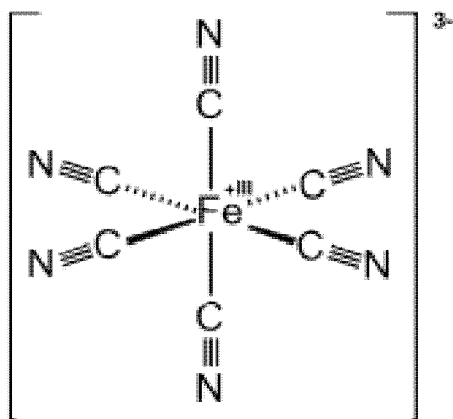


Figura 2 – Estrutura do íon ferricianeto



Outras espécies inorgânicas podem possuir o grupo de cianeto CN^- , são: tiocianetos (SCN^-), que são formados de cianeto e compostos de enxofre, e cianatos (CNO^-), formados pela oxidação de sais de cianeto. Os tiocianetos (SCN^-) dissociam-se diretamente em meio ácido para formar HCN , enquanto os cianatos hidrolizam-se em meio aquoso para formar amônia e bicarbonato (LEMOS; SOBRAL; DUTRA, 2006).

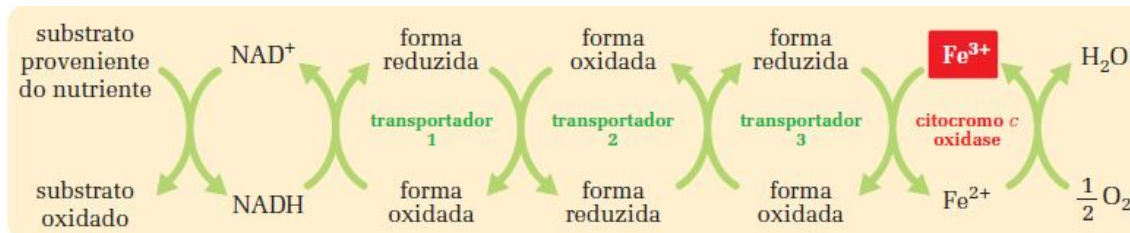
3.2 TOXICIDADE DO CIANETO

O cianeto é tóxico em várias formas para os organismos aquáticos, terrestres e aéreos, pois atua no organismo bloqueando o transporte de oxigênio para as células, uma vez que se

liga irreversivelmente a heme-proteína, isto é, os citocromos envolvidos no processo respiratório (IGEÑO et al., 2007).

O cianeto não tem afinidade pelo íon Fe^{+2} , mas tem uma grande afinidade pelo íon Fe^{+3} (figura 3). Dessa forma, liga-se rapidamente ao íon férrico presente no *citocromo c oxidase* e impede que este íon retorne a forma reduzida, bloqueando toda cadeia respiratória (BHATTACHARYA; FLORA, 2009).

Figura 3 - Diagrama da cadeia respiratória



Fonte: (PERUZZO; CANTO, 2010)

O cianeto pode inibir atividade enzimática de plantas. Concentrações de KCN acima de 5 mg/L são altamente tóxicas para salgueiro. Entretanto, muitas plantas desenvolvem a capacidade de destoxificação de cianeto (KANG et al., 2008)

A introdução de cianeto no organismo pode ocorrer por ingestão, inalação e/ou absorção dermal. Uma vez dentro do organismo é distribuído rapidamente e afeta processos vitais.

Algumas plantas de raízes tuberosas como a batata e mandioca contém compostos cianídricos. Através da ruptura da estrutura celular da raiz, as enzimas presentes na planta degradam estes compostos, liberando o ácido cianídrico (HCN), que é o princípio tóxico da mandioca e cuja ingestão ou mesmo inalação, representa sério perigo à saúde, podendo ocorrer casos extremos de envenenamento (CHISTÉ; COHEN; OLIVEIRA, 2005; FURTADO et al., 2007).

Normalmente o cianeto não sofre os processos de acumulação e biomagnificação, portanto, uma exposição aguda dos organismos a concentrações subletais não resultará em toxicidade. Também não existem evidências de que uma exposição crônica a cianeto possa causar efeitos teratogênicos, mutagênicos ou carcinogênicos (ATSDR, 2012).

A maior parte de cianeto liberado em águas superficiais forma cianeto de hidrogênio (HCN) que rapidamente evapora. Os compostos de cianetos podem sofrer degradação a espécies químicas menos tóxicas, através da ação de microrganismos, mas podem,

também, formar complexos metálicos com o ferro. Os complexos têm importância devido à quantidade de ferro encontrada em solo e sedimentos e devido à elevada estabilidade sob condições ambientais típicas (ATSDR, 2012).

Segundo Donato et al. (2007) em usinas de processamento de minérios de cobre e ouro ocorrem mortalidade de pássaros e morcegos com maior intensidade devido a maior toxicidade dos compostos ciano-complexos de cobre.

O cianeto quando liberado em corpos receptores pode causar mortalidade de peixes, anfíbios e insetos aquáticos, além de danos à vegetação aquática e isto dependerá de alguns fatores como pH, temperatura, teor de oxigênio e suscetibilidade dos organismos (ICMI, 2012).

3.3 FONTES DE CIANETOS

Os cianetos são substâncias que podem ocorrer naturalmente em diversas plantas e alimentos e, também, podem ser produzidos por microrganismos. Entretanto, o cianeto liberado por atividades antrópicas, tais como, processos de galvanoplastia, metalurgia, limpeza de metais, produção de pesticidas, fotografia e mineração, entre outros, pode ser liberado na atmosfera, em solos e corpos receptores (ÖZEL et al., 2010).

O cianeto mesmo sendo uma substância de alta toxicidade pode ser encontrado em uma grande variedade de organismos, incluindo bactérias fotossintéticas, algas, fungos, plantas e alguns alimentos como feijão, amêndoas e castanha de caju, e até mesmo em alguns animais, tais como centopéias, besouros e em algumas poucas espécies de borboletas (DASHA; GAUR; BALOMAJUMDER, 2009).

O cianeto também ocorre naturalmente em raízes de mandioca e batata cultivadas em países tropicais (BORGES; FUKUDA; ROSSETTI, 2002).

Sais de cianeto são amplamente utilizados na indústria química (cerca de 1,5 milhões de toneladas/ano) em processos de sínteses de nitrilas, nylon, polímeros acrílicos, em plantas de eletrodeposição de metais e em mineração do ouro (XU et al., 2012).

Dos compostos de cianeto utilizados na indústria química, 80% são empregados em processos de sínteses de plásticos, no setor de revestimento de superfícies, acabamento de aços, em produção de borrachas sintéticas. Os demais 20%, normalmente na forma de cianeto de sódio, na indústria de mineração (RIANI; PINA; LEÃO, 2007).

Na mineração do ouro e outros metais preciosos pela via hidrometalúrgica a cianetação é o processo de solubilização do metal em meio aquoso e em presença de agentes oxidantes e complexantes, no caso o cianeto (RIANI; CARLOS; SILVA, 2004).

Na metalurgia, os cianetos estão presentes em uma grande variedade de efluentes de processos, tais como os associados com aço, coque e destilação de alcatrão de hulha. Em uma solução, as várias formas de cianeto podem ser convertidas de uma à outra sob diferentes condições de temperatura, pH, e a presença de outros componentes químicos na solução (SHARMA; PHILIP; BHALLAMUDI, 2012).

Especificamente na siderurgia, nas baterias de coque, o cianeto é produzido pela reação de nitrogênio e de CO presente no gás de alta temperatura no processo de “coking” do carvão mineral na coqueria. Este gás contém além do ácido cianídrico, compostos fenólicos e poli hidrocarbonetos aromáticos, que são retirados do processo na forma de efluentes após processo de lavagem de gases (HUI-OIANG et al., 2011).

3.4 TRATAMENTOS DE EFLUENTES COM CIANETO

O tratamento de efluentes contendo compostos inorgânicos de cianeto tem sido descrito na literatura, em vários métodos diferentes, mas que visam sua degradação ou sua reciclagem. Os processos de tratamento constituem-se de métodos físicos, químicos, complexação, adsorção com carvão ativado (BOSE; BOSE; KUMAR, 2002), oxidação, troca iônica, mas estes métodos não se aplicam à degradação de compostos orgânicos de cianeto (YAN; WANG; GUO, 2007). Todavia, a separação e destruição das espécies cianídricas inorgânicas podem, inclusive, ocorrer naturalmente (YOUNG, 2001).

Normalmente, os processos empregados para degradação de cianeto utilizam agentes oxidantes fortes como, por exemplo: peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e hipoclorito de sódio (NaClO). A utilização de agentes oxidantes pode ser conjugada com sistema de ultravioleta (UV) (GONÇALVES, A. C., 2004; MUDLIARA et al., 2008). Entretanto, as reações de oxidação geram, ao final do processo, lamas tóxicas ou soluções concentradas que quando não aproveitadas no processo se tornarão outro passivo ambiental (POMBO; DUTRA, 2008).

Além dos processos físico-químicos conhecidos, citados anteriormente, existem outros, tais como: oxidação eletroquímica, oxidação fotoquímica, precipitação química, resinas de troca iônica, fotocatalise através de titânio, volatilização e absorção por soda cáustica, recuperação por solventes e também pelo processo de biodegradação (DUTRA et al., 2002; SILVA; COSTA; MARTINS, 2003; ANDRADE; MARTINS, 2005).

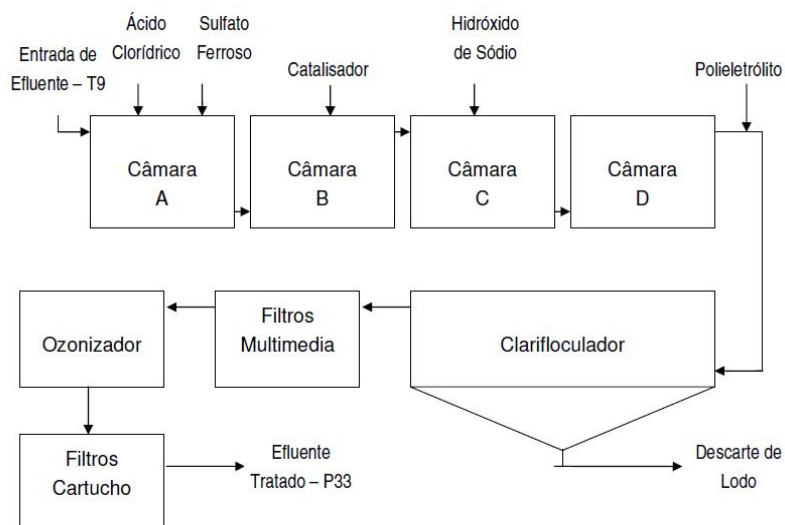
Entretanto, estes métodos devem ser complementados com a precipitação química para a remoção metálica.

A estação de tratamento da usina siderúrgica em questão utiliza um processo de tratamento biológico com lodo ativado (figura 4) seguido de um tratamento físico químico similar ao ilustrado na figura 5.

Figura 4 – Estação de tratamento biológico de lodo ativado.



Figura 5 – Diagrama de tratamento convencional físico-químico de cianeto pela adição de sulfato ferroso.

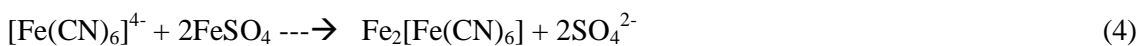


Na câmara de reação A, é adicionado ácido clorídrico (HCl) para ajustar o valor de pH na faixa de 3,5 a 5,0 para favorecer a formação de complexos metálicos de cianeto: ferricianeto ($[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{-3}$) e ferrocianeto ($[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{-4}$).

Nas câmaras de reação, o cianeto presente no efluente bruto inicialmente, reage com sulfato ferroso (FeSO_4), formando íon de ferrocianeto ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$), de acordo com a equação (3).



O íon de ferrocianeto reage com sulfato ferroso para formar o complexo metálico hexacianoferrato de ferro II, equação (4):



O excesso de íon ferroso (Fe^{2+}) é oxidado a íon férrico (Fe^{3+}), conforme equação (5):



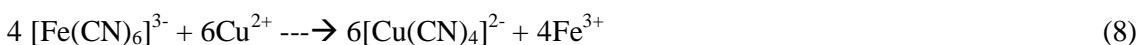
A equação (6) ilustra o íon férrico que se liga ao íon ferrocianeto para formar o complexo metálico de hexacianoferrato de ferro III ($\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$):



Paralelamente, o íon férrico também oxida o íon ferrocianeto ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$) para ferricianeto ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$) e, conseqüentemente, se reduz para Fe^{2+} , equação (7), sendo liberado no meio e se oxidando novamente a Fe^{3+}



Na câmara de reação B é adicionado o sulfato de cobre (CuSO_4) no meio, que libera o íon cobre II (Cu^{2+}), que reage com o íon ferrocianeto III ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$), formando complexo metálico de cobre ($[\text{Cu}(\text{CN})_4]^{2-}$) e liberando íon férrico (Fe^{3+}) para reagir novamente, conforme ilustrado na equação (8).



Na câmara de reação C, é adicionado hidróxido de sódio (NaOH) para ajustar o valor de pH na faixa de 7,0 a 8,0 e polímero para favorecer a floculação dos complexos metálicos de cianeto. Entretanto, para a remoção do excesso de íons ferroso (Fe^{2+}) e cúprico (Cu^{2+}) o pH é ajustado para faixa de 8,0 a 9,0.

Estes sais são então separados do efluente pelo processo de floculação e filtração existentes no sistema.

Este tratamento utilizando substâncias químicas de sulfato ferroso e sulfato de cobre para formação de complexos metálicos de cianeto, partindo de efluente tratado por lodo ativado, com concentrações de 13,0 mg/L de cianeto foi estudado por Park et al. (2009).

Todavia, a escolha do processo mais adequado para remoção de cianeto dependerá de alguns parâmetros importantes a observar, tais como: concentração de cianeto no efluente, tipo de efluente, aspectos específicos da empresa, entre outros (ISMAIL et al., 2009). Nessa linha os processos eletrolíticos têm sido utilizados para separação de complexos metálicos de cianeto porque propiciam a recuperação dos metais numa forma pura, sem a geração de resíduos e com a oxidação simultânea do cianeto livre. (CHENG et al., 2002; DUTRA et al., 2002; DUTRA; LEMOS, 2011).

3.5 BIODEGRADAÇÃO DE EFLUENTES COM CIANETO

As alternativas mais promissoras para resolução de inúmeros problemas ambientais ocasionados pela atividade industrial derivam do estudo de novas tecnologias para o tratamento de efluentes industriais. Nesse contexto, a utilização de processos biológicos baseados na utilização de fungos e bactérias, ou diretamente na utilização de enzimas purificadas, tem surgido como umas das alternativas de grande potencial.

Apesar do uso de enzimas purificadas apresentar alguns problemas que muitas vezes limitam a sua utilização no tratamento de efluentes, tais como: instabilidade térmica, suscetibilidade ao ataque por proteases, inibição da atividade enzimática, além do elevado custo e necessidade de imobilização desses biocatalisadores (LEAL, 2002), tem-se verificado o aumento na aplicação de enzimas na degradação de poluentes.

A crescente utilização na forma purificada ou na forma *in vivo* em microrganismos, nos tratamentos de poluentes específicos, e recentes avanços biotecnológicos tem

possibilitado a produção de enzimas mais baratas e facilmente disponíveis através de melhores procedimentos de isolamento e purificação.

As potenciais vantagens do tratamento enzimático (biodegradação) quando comparadas a tratamentos convencionais incluem: aplicação em materiais recalcitrantes específicos para removê-los por precipitação ou transformação em outros produtos inócuos, atuação em concentrações altas e baixas dos contaminantes, atuação num amplo espectro de pH, temperatura e salinidade, necessidade de aclimatização de biomassa e o fácil processo de controle, entre outros. Podem também mudar as características de um determinado rejeito para torná-lo mais receptivo ao tratamento, ou auxiliar na bioconversão dos rejeitos em produtos de maior valor agregado (LEAL, 2002).

Como mencionado anteriormente, o cianeto apresenta elevada toxicidade para microrganismos, danificando seu sistema respiratório. Porém, no tratamento com lodo ativado, quando as bactérias são adaptadas e condicionadas na presença de cianeto, ocorre a decomposição deste composto. O processo de formação de lodo resistente e capaz de decomposição do ânion CN^- é um processo que envolve o crescimento de bactérias no meio, na presença de baixas concentrações de cianeto.

O efluente a ser tratado pelo lodo ativado, deve conter baixa concentração de cianeto. Todavia, o mesmo lodo condicionado em ambiente com cianeto, pode ser danificado se ocorrer um choque por alta concentração desse composto.

A biodegradação de cianeto é realizada por microrganismos que se utilizam de enzimas e processos metabólicos capazes de converter cianeto livre e complexado com metais a espécies químicas menos tóxicas, como bicarbonato e amônia e, conseqüentemente, liberando os metais. A biodegradação de complexos metálicos de cianeto exige condições muito específicas de meio para ocorrer, além de estas substâncias dependerem de processos químicos para serem removidas do meio (PARK, 2008). Entretanto, Quan et al. (2004) obteve degradação de complexos metálicos de cianeto, através de consórcio de bactérias, em condições redutoras de sulfato. Já os cianetos livres podem ser degradados mais facilmente e os complexos formados com ferro são mais difíceis (AKCIL et al., 2003; EZZI; LYNCH, 2005).

As bactérias que realizam a decomposição de cianeto atuam no cianeto livre ou cianeto complexo fraco. Os produtos de complexos fortes, como cianeto ferro, níquel e outros metais, não são facilmente removidos no tratamento biológico. Na maioria dos casos, é necessário adicionar um processo de tratamento físico químico após o tratamento com lodo ativado para remoção desses complexos de cianeto.

Estudos têm mostrado que alguns microrganismos são capazes de biodegradar cianeto para produtos finais não tóxicos, utilizando cianeto como a única fonte de nitrogênio, obtendo-se como produto final principal a amônia e, em alguns casos, constata-se a produção de metano (KAO et al., 2003).

A biodegradação de cianeto envolve vias enzimáticas e condições específicas de pH, temperatura e concentração de cianeto e, geralmente é induzida pela presença de cianeto no meio e depois pela conversão de cianeto em carbono e nitrogênio.

A biodegradação de compostos de cianeto em condições aeróbias normalmente produz compostos inorgânicos de nitrogênio, sendo o principal a amônia e seguem as equações (9) e (10) descritas a seguir: (AITIMBETOV; WHITE; SETH, 2005).

Na equação (9) em presença de oxigênio (O₂) o cianeto de hidrogênio (HCN) é degradado em ácido ciânico (HCNO).



O ácido ciânico é facilmente hidrolisado para a formação de amônia (NH₃) e dióxido de carbono (CO₂), conforme ilustrado na equação (10):



A literatura tem descrito vários organismos que utilizam uma via diferente para a degradação de cianeto. Em alguns casos mais do que uma via metabólica pode ser utilizada para biodegradação cianeto em alguns organismos (MUFADDAL; JAMES, 2002).

Segundo Dasha, Gaur e Balomajumder (2009), a degradação de cianetos pode ocorrer por quatro vias metabólicas diferentes: hidrolítica, oxidativa, redutiva e de substituição ou transferência.

Na via hidrolítica a degradação ocorre pela ação das enzimas: cianeto hidratase, nitrilo hidratase, cianidase e nitrilase (KUBSAD; GUPTA; CHAUDHARI, 2011).

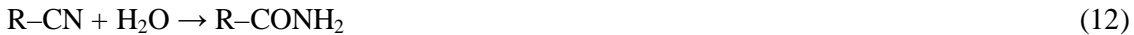
A enzima cianeto hidratase catalisa a hidrólise do cianeto de hidrogênio em metanoamida (HCONH₂), equação (11).

Cianeto hidratase:



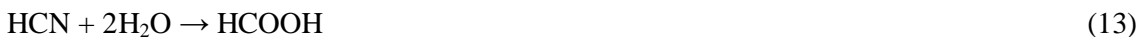
A enzima nitrilo hidratase catalisa a hidrólise de compostos orgânicos chamados nitrila (R-CN), produzindo amidas (R-CONH₂), equação (12).

Nitrilohidratase:



A enzima cianidase catalisa a hidrólise de cianeto de hidrogênio, produzindo ácido metanóico(HCOOH), também conhecido como ácido fórmico, equação (13).

Cianidase



A enzima nitrilase catalisa a hidrólise de compostos orgânicos chamados nitrila (R-CN), produzindo ácidos carboxílicos (R-COOH), equação (14).

Nitrilase



Na via oxidativa, a biodegradação de cianeto produz amônia e dióxido de carbono utilizando as enzimas cianeto monoxigenase e dioxigenase. A primeira catalisa a degradação do cianeto de hidrogênio em ácido ciânico na presença de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato na forma reduzida (NADPH), produzindo também a coenzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato na forma oxidada NAD(P), equação (15).

Cianetomonoxigenase



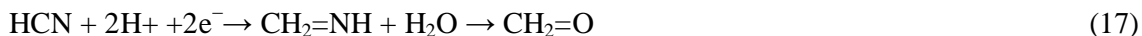
A enzima cianeto dioxigenase catalisa o cianeto de hidrogênio para a produção de amônia e dióxido de carbono, equação (16).

Cianeto dioxigenase

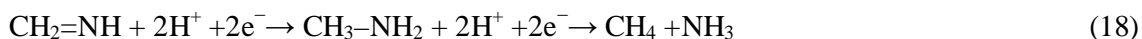


As reações de redução não são muito comuns na degradação de cianeto, mas podem ocorrer em duas etapas e formar metano e amônia. Na equação (17) o cianeto de hidrogênio é

degradado a um composto instável imina ($\text{CH}_2=\text{NH}$) que, em seguida, é hidrolisado a metanal.



O composto instável imina, também pode ser convertido a amina (CH_3-NH_2) que, pode ser convertida a metano (CH_4) e amônia (NH_3), equação (18).



O cianeto também pode ser convertido em beta-cianoalanina ou aminonitrila, pela catalise da enzima cianoalaninasintase seguida de hidrólise de produtos intermediários para formar amônia e ácido (equação 19). Outra via é a de conversão a tiocianato, que é uma substância menos tóxica (equação 20). O tiocianato (SCN^-) produzido pode ser convertido a carbonil sulfito pela enzima tiociantohidrolase. O tiocianato também pode ser convertido a sulfato (SO_4^{4-}) e CO_2 pela ação da enzima cianase.

Cianoalaninesintase



Tioissulfato cianeto sulfotransferase

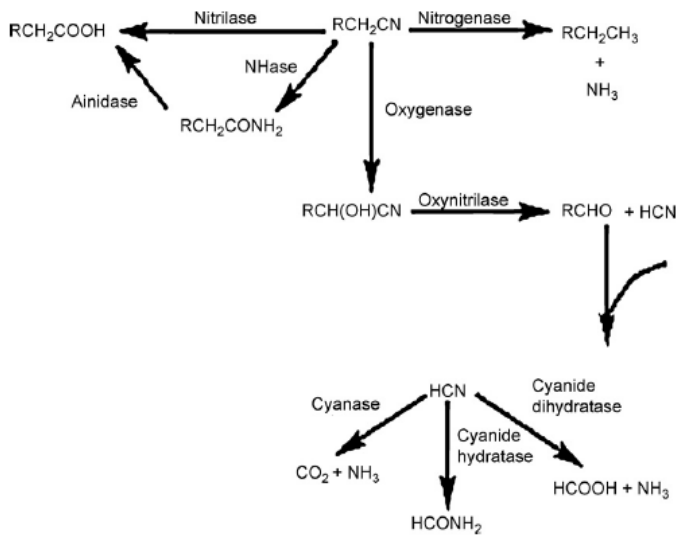


Segundo Kwon, Woo e Park (2002), as vias metabólicas hidrolítica, oxidativa e redutora são vias de degradação em que as enzimas catalisam a conversão do cianeto para moléculas orgânica ou inorgânica simples e produzem metano, amônia, CO_2 , ácido fórmico e ácido carboxílico.

As vias de degradação de substituição e síntese são utilizadas para assimilação de cianeto no micro-organismo como fonte de nitrogênio e carbono.

Todas essas vias metabólicas dependem do mecanismo de tolerância dos microrganismos a cianeto e o processo que utiliza para dissociar os cianetos complexos de metais ou de metais quelantes, conforme ilustrado na figura 6.

Figura 6 - Diagrama das várias vias metabólicas para degradação de cianeto

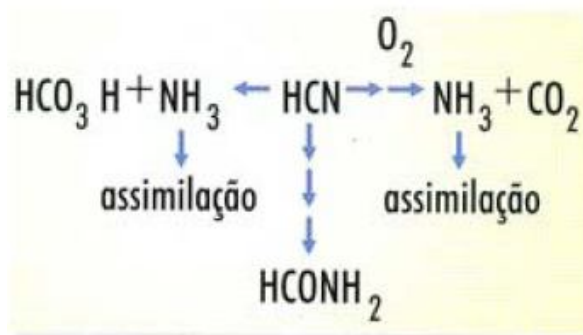


Fonte: (GUPTA; BALOMAJUMDER; AGARWAL, 2010).

Estas cinco vias metabólicas utilizam enzimas específicas para a degradação do cianeto. Cada via enzimática tem vantagens e desvantagens. Os microrganismos que contêm a enzima cianeto hidratase podem degradar concentrações de cianeto de até 200 ppm, mas nesta via metabólica o carbono da molécula de cianeto não é utilizado como fonte de nutrientes, requerendo uma fonte adicional de carbono no meio. Entretanto, micro-organismos que contêm a enzima nitrilo hidratase utilizam o cianeto como fonte de carbono e de azoto. Microrganismo contendo as enzimas nitrilase e amidase degradam cianeto em condições específicas de pH altamente alcalino 11,2. A enzima tiocianato hidrolase é uma enzima que degrada tiocianato. Os microrganismos que utilizam a via oxidativa para degradar cianeto, podem degradar o cianeto com concentração muito elevada. Geralmente usam um complexo de cianeto de metal, como fonte de alimentação em meio de pH alcalino mas requerem cofator para a sua atividade. Um tipo de enzima primitiva a nitrogenase principalmente quebra as ligações de nitrogênio triplo e pode ser uma boa alternativa para a degradação de cianeto (GUPTA; BALOMAJUMDER; AGARWAL, 2010).

Segundo Kunz, Wang e Chen (1994) a biodegradação de cianeto de hidrogênio segue o esquema de vias metabólicas ilustrado na figura 7. Onde uma via favorece a degradação para amônia e ácido carbônico (HCO_3H). Outro mecanismo produz amônia e dióxido de carbono, na presença de oxigênio e a terceira via produz amina (HCONH_2).

Figura 7 - Esquema da degradação de cianeto em diferentes compostos



Fonte: (KUNZ; WANG; CHEN, 1994).

3.6 MICRORGANISMOS QUE DEGRADAM CIANETO

A degradação de compostos orgânicos de cianetos, como as nitrilase seus derivados tem sido relatada por diversos grupos de pesquisadores usando diferentes microrganismos tais como: *Nocardia rhodochrous*; *Arthrobacter*; *Brevilbacterium*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas marginalis*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Pseudomonas stutzeri*; *Rhodococcus erythropolis*; *Rhodococcus rhodochrous*; *Candida guilliermondii*; *Comamonas testosteroniand*; *Acidovorax sp.*; *Paracoccus thiophilus*, (LEE; WANG, 2004; WANG; LEE; CHEN, 2004; WANG; LEE, 2001).

Bactérias têm sido estudadas para a biorremediação de solos contaminados com metais, compostos aromáticos e cianetos. Segundo Harborth, Thieme e Frickel (2009), a degradação de cianeto total e livre em solos é favorecida em condições de pH controlado e em regime aeróbio. Todavia, a biodegradação de complexos metálicos de cianeto pode ocorrer também em condições de fermentação.

Alguns microrganismos têm sido descritos como sendo capazes de degradar o cianeto em meio com pH neutro. Nesta condição a alta concentração de cianeto evapora na forma de ácido cianídrico (HCN), que é um ácido fraco. Todavia, alguns microrganismos cianotróficos, que utilizam o cianeto como fonte de nitrogênio, conseguem degradar cianeto em condições com pH alcalino, como é o caso da bactéria *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 isolada do rio Guadalquivir, em Córdoba, que é capaz de degradar cianeto livre e cianeto na forma de complexos metálicos nas condições alcalinas de pH 10 (IGEÑO et al., 2007).

As espécies de *Pseudomonas* são bastonetes gram negativos (HOLMES; DOWLING; LAPAGE, 1979; DWORKIN et al., 2006), usualmente, móveis, retos ou ligeiramente curvos

(0,5 a 1,0 x 1,5 a 5,0 μm) tipicamente dispostos aos pares. Os microrganismos utilizam carboidratos através da respiração aeróbica, tendo o oxigênio como aceptor final de elétrons. Embora descritos como aeróbios obrigatórios, podem crescer de modo anaeróbio usando o nitrato ou arginina como um aceptor alternativo de elétrons.

O gênero *Pseudomonas*, originalmente, consistia em uma ampla coleção de bactérias não fermentativas que foram agrupadas devido à sua semelhança morfológica. Estas bactérias foram chamadas *Pseudomonas* porque estão, comumente, dispostas em pares de células que lembram uma única célula. Em 1992, esse gênero foi subdividido em vários novos gêneros; entretanto, ainda existem aproximadamente duas mil espécies no gênero *Pseudomonas*. Membros do gênero *Pseudomonas* são ubíquos, encontrados no solo, na matéria orgânica em decomposição, na vegetação e na água (GOMES, 2012).

As espécies de *Pseudomonas* são conhecidas por sua capacidade de utilizar uma variedade de substâncias como fonte de carbono (DWORKIN et al., 2006). Vários estudos têm demonstrado a capacidade dessas bactérias em degradar compostos aromáticos (HAN et al., 2005). *Pseudomonas pseudoalcaligenes* podem utilizar nitrobenzeno como fonte de carbono (NISHINO; SPAIN, 1993; LENDENMANN; SPAIN, 1996; ZHONGQI HE; SPAIN, 1998) e outros compostos aromáticos (HALDEN et al., 1999).

Espécies fluorescentes de *Pseudomonas* possuem capacidade de degradar diversos contaminantes orgânicos tóxicos presentes em solos contaminados e efluentes industriais (BUNDY; PATON; CAMPBELL, 2004; NEUMANN et al., 2004).

Várias espécies de *Pseudomonas* podem oxidar cianeto, tiocianato e amônia (AKCIL et al., 2003). A bactéria *Pseudomonas fluorescens*, isolada por Harris & Knowles (1983) foi utilizada para degradar cianetos. Esta bactéria utilizou o cianeto como fonte de carbono e nitrogênio, produzindo amônia e CO_2 . Um processo industrial para biodegradação de cianetos em efluentes é o processo patenteado pela Homestake Mining Co. (South Dakota – USA). Este sistema é dividido em duas etapas, sendo a primeira a biodegradação de cianetos livres e complexados através da *Pseudomonas paucimobilis*, produzindo amônia. Na segunda etapa ocorre a degradação da amônia produzida na primeira.

Águas contaminadas com cianeto de hidrogênio foram biologicamente tratadas com a bactéria *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 em reator. A volatilização de HCN ocorreu usando tratamento alcalino. O procedimento operacional foi otimizado para biodegradação de cianeto através da variação de pH e concentração de oxigênio. A combinação de um meio com pH elevado (alcalino) e baixas concentrações de oxigênio

favorece a decomposição do ácido cianídrico (HUERTAS et al., 2006; HUERTAS et al., 2010).

Pseudomonas pseudoalcaligenes também podem degradar bifenilas policloradas (PCB's) utilizando estes compostos aromáticos como fonte de carbono (SUENAGA et al., 2001; FUJIHARA et al., 2006). Também podem utilizar cianeto como fonte de nitrogênio (LUQUE-ALMAGRO et al., 2005; QUESADA et al., 2007). Esta bactéria também possui a capacidade de sobreviver em meio contendo metais e compostos tóxicos (TRISCARI-BARBERI et al., 2012),

A *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, como outras espécies do gênero *Pseudomonas*, são encontradas em solo e águas. É um microrganismo tipicamente encontrado no ambiente natural e não há evidências que seja encontrado em ambientes hospitalares e provenientes de infecções (QUINTEIRA; PEIXE, 2005). Estudos comprovam que a bactéria *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 é capaz de crescer utilizando cianeto como a única fonte de nitrogênio.

A utilização de bactérias presentes no próprio efluente contaminado, para degradação de cianetos tem apresentado resultados satisfatórios. Um estudo em Taiwan com *Klebsiella oxytoca*, isolada do efluente industrial mostrou ser capaz de degradar cianeto em produtos não tóxicos, utilizando cianeto como fonte de nitrogênio. Neste estudo a biodegradação de cianeto produziu amônia e metano no meio (KAO et al., 2003; KAO et al., 2006; CHEN; KAO; CHEN, 2008).

A utilização de *Klebsiella oxytoca*, isolada de efluente contaminado com cianeto, mostrou que a bactéria é capaz degradar cianeto, utilizando como fonte de nitrogênio, porque possui um mecanismo enzimático para metabolizar nitrilas produzindo amida e ácido carboxílico (KAO, et al., 2006).

Rhizopus oryzae foi avaliada na degradação de complexos metálicos de cianeto com ferro e zinco em efluentes. Em condições de pH neutro e temperatura ambiente, a bactéria não teve seu crescimento comprometido pela presença de cianeto e apresentou melhor degradação com o complexo de zinco (DASH et al., 2009).

Culturas de algas podem degradar cianeto utilizando este composto como fonte de nitrogênio e carbono para o crescimento. Segundo Gurbuz, Ciftci e Ackil (2009), *Scenedesmus obliquus*, foi avaliada para degradação de efluentes contendo cianeto em concentrações próximas de 77,9 mg/L e após 77 horas a concentração de cianeto foi reduzida para 6 mg/L. O uso de algas é uma alternativa biotecnológica para tratamentos de efluentes contendo cianetos (KURBUZ et al., 2004).

Pesquisas utilizando fungos para degradar cianetos tem demonstrados bom resultados no tratamento de efluentes. Segundo Zhou et al. (2007), uma espécie de fungo modificado de *Trichoderma koningii* tem apresentado habilidades efetivas para degradação de cianetos simples e complexos metálicos de cianeto com ferro. Outra espécie de fungo que consegue degradar cianeto é *Trametes versicolor* (CABUK; UNAL; KOLANKAYA, 2006).

Estudos para avaliação de fungos *Trichoderma spp* e *Fusarium spp* tem sido realizados para avaliar degradação de cianeto e complexos metálicos de cianeto em solo contaminados, utilizando estes compostos como fonte de carbono ou na presença de glicose como co-substrato (MUFADDAL; JAMES, 2002).

Culturas mistas de microrganismos também têm sido avaliadas para a degradação de cianetos e compostos orgânicos. Segundo Campos, Pereira e Roseiro (2006), culturas de fungos *Fusarium oxysporum* CCMI 876 e *Methylobacterium spp.* RXM CCMI 908 demonstraram resultados eficientes para degradação de cianeto e formaldeído em efluentes industriais.

A degradação de cianetos por determinadas bactérias é caracterizada pela ação de uma enzima chamada cianase, presente nesses microrganismos, conforme já mencionado anteriormente na figura 6. A cianase converte o cianeto diretamente em amônia e também faz a assimilação de nitrogênio. Dessa forma, os micro-organismos que possuem esta enzima, são capazes de utilizar o cianeto como fonte de nitrogênio (LUQUE-ALMAGRO et al., 2008).

Dessa forma, pelo menos três funções fisiológicas têm sido atribuídas a atividade da cianase: a assimilação de nitrogênio, desintoxicação do cianato e regulação do metabolismo. Uma vez que a enzima catalisa a formação direta de amônia a partir de cianato de atividade cianase, permite que algumas bactérias possam utilizar como um cianato de azoto fonte. Todas as bactérias heterotróficas capazes de assimilar cianato têm atividade cianase. Esta enzima também foi encontrada em cianobactérias e plantas. O papel da cianase na desintoxicação baseia-se na toxicidade de cianato em concentrações relativamente baixas (LUQUE-ALMAGRO et al., 2003, 2005, 2007, 2008, 2011).

Os microrganismos capazes de assimilar cianeto, normalmente podem utilizá-lo somente como fonte de nitrogênio, mas não podem utilizá-lo como fonte de carbono. Todavia em condições anaeróbicas, o cianeto pode ser utilizado como alternativa de aceptor de elétrons, produzindo metano e amônia (LUQUE-ALMAGRO et al., 2005). A bactéria *Pseudomonas pseudoalcaligenes* foi capaz de crescer em meios alcalinos, até um pH inicial de 11,5, e de cianeto livre na concentração de até 30 mg/L, o que faz com que seja um bom candidato para o tratamento biológico de efluentes contendo cianetos. O metabolismo dessa

bactéria utiliza tanto o acetato e D, L-malato como fontes de carbono apresentando um crescimento adequado, mas não foi detectado o crescimento em meios utilizando cianeto, como única fonte de carbono. Além de cianeto, *P. pseudoalcaligenes* CECT5344 utiliza outras fontes de nitrogênio, tais como amônio, nitrato, cianato, cianoacetamida, nitroferrocianeto (Nitroprussiato), e uma variedade de complexo de metal cianeto.

Células de *Pseudomonas pseudoalcaligenes* cultivadas sob condições limitantes de nitrogênio, na presença de sintase, cianeto de citrato e isocitratoliase tiveram atividades com cerca de duas e cinco vezes maior, respectivamente, do que em meios com amônio, e cerca de 25 vezes superiores, respectivamente, do que em células cultivadas em meio de nitrato (LUQUE-ALMAGRO et al., 2011).

Nos estudos de Luque-Almagro et al. (2004) para a degradação de cianeto, a formulação do meio de cultura é de suma importância em relação à definição de qual fonte de carbono deverá ser utilizada. Dependendo das substâncias utilizadas, pode ocorrer reação com o cianeto presente no meio, formando compostos de cianeto aldeídos e cetonas, como glicose, mascarando a degradação biológica do cianeto (reação de Kiliani).

4. MATERIAISE MÉTODOS

No presente estudo, foi realizado tratamento de um efluente em escala laboratorial e, em seguida, em escala ampliada para uma planta piloto industrial. Os procedimentos experimentais foram divididos em três etapas distintas:

1. Caracterização física, química e ecotoxicológica do efluente siderúrgico
2. Tratamento biológico do efluente em escala laboratorial
3. Tratamento biológico do efluente em escala ampliada na planta piloto industrial

4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E ECOTOXICOLÓGICA DO EFLUENTE

4.1.1 Efluente

O efluente estudado é proveniente do processo de lavagem de gases da produção de coque de uma siderúrgica na região sul fluminense do estado do Rio de Janeiro. Esse efluente é tratado na estação de tratamento biológico de lodo ativado, existente na siderúrgica.

Essa estação de tratamento consiste de um sistema de lodo ativado, para degradação essencialmente de amônia, conforme ilustrado nas figuras 8 e 9, seguido de tratamento físico-químico, para degradação de cianeto, ferro e cobre.

Figura 8 – Estação de tratamento biológico de lodo ativado – tanque de recebimento de efluente



Figura 9 – Estação de tratamento biológico de lodo ativado – tanque de aeração



4.1.2 Coleta de amostras

Amostras do efluente foram coletadas na estação de tratamento biológico em três pontos: entrada e saída do reator biológico, no tanque de clarificação (lodo e sobrenadante), em frascos plásticos de 500 mL e armazenado a -10°C .

Na planta piloto, as amostras foram coletadas na entrada e na saída em regime contínuo, considerando o tempo de retenção hidráulica do efluente durante o tratamento. No experimento em escala laboratorial as amostras foram coletas antes do início e ao final do tratamento, após 72 horas.

4.1.3 Caracterização física e química do efluente

Para dimensionamento do potencial poluente do efluente e, por consequência, para avaliação comparativa do efeito dos tratamentos em estudo, o efluente siderúrgico foi analisado quanto aos parâmetros físico, químico e ecotoxicológico, mais relevantes.

Dessa forma, o efluente de entrada e saída da estação de tratamento biológico existente, teve os seguintes parâmetros analisados: temperatura; pH; concentrações de cianeto, fenol e amônia, e biológicos.

Para os experimentos em escala laboratorial e planta piloto, o foco foi a remoção de cianeto, uma vez que o efluente avaliado foi coletado na saída do tratamento biológico existente, onde a concentração de amônia e fenol já estavam enquadrados dentro dos limites da legislação.

4.1.3.1 Determinação da concentração de cianeto

A concentração de cianeto total no efluente foi determinada por método colorimétrico conforme procedimento padrão (STANDARD, 2005; FEEMA, 1983) através de espectrofotômetro, modelo HACH DR-2000.

Tomou-se 250 mL da amostra e diluiu-se para 500 mL com água, em balão de Claysen. Adicionou-se no frasco absorvedor 50 ml de solução de hidróxido de sódio 1,25N. Com injeção de ar comprimido, ajustando a aspiração formação de uma bolha por segundo no balão de Claysen. Em seguida, adicionou-se vagarosamente, pelo tubo do balão de Claysen, 50 mL de ácido sulfúrico a 50%. Adicionou-se 20 ml de solução de cloreto de magnésio, pelo tubo do balão de Claysen. Amostra foi aquecida em chapa de aquecimento até a ebulição, deixando em refluxo por 60 minutos. Após marcação do tempo, o destilado foi transferido do frasco absorvedor, para um balão volumétrico de 250 ml e o pH foi ajustado para 7.0 +/-, com adição de ácido clorídrico (HCl) e o volume foi completado sob e agitação lenta. Com auxílio de uma proveta graduada de 100 mL com tampa, foram medidos 25mL da amostra, em seguida adicionado um pillow do reagente para cianeto número 3. Após 30 minutos foi adicionado à amostra, o reagente para cianeto número 4. Após preparo da amostra a mesma foi disposta na cubeta específica do espectrofotômetro e a leitura de concentração de cianeto foi realizada utilizando comprimento de onda de 612 nm.

O resultado da análise foi a leitura direta do aparelho, em mg/L, com aproximação da segunda casa decimal.

4.1.3.2 Determinação do teor de amônia

A determinação do teor de amônia no efluente foi realizada por método de titulometria e espectrofotometria, conforme procedimento padrão (STANDARD, 2005) em Espectrofotômetro HACH DR 2000 e 2010.

O método utilizado para determinação do teor de amônia é aplicável para amostras com concentrações abaixo de 1000 mg/L. Para amostras coloridas ou com substâncias interferentes deve ser feita uma destilação prévia da amostra. No caso de amostras que necessitem fazer mais que 10 diluições, não é necessário efetuar a destilação prévia da amostra

Mediu-se 250 mL de amostra e transferir para o balão de destilação do conjunto kjeldahl contendo 25 mL de solução tampão borato de sódio, 25 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) 5 N. Mediu-se 50 mL da solução de ácido bórico 2% e transferiu-se para um erlenmeyer adaptado na saída de destilado do conjunto kjeldahl. Destilou-se aproximadamente 150 mL. Após destilação, transferiu-se o destilado para um balão volumétrico de 250 mL e completou-se o volume. Em seguida, transferiu-se 25 mL da amostra contida no balão volumétrico para uma cubeta de 25 mL. Adicionou-se 3 gotas de solução Estabilizante Mineral sob agitação. Em seguida, adicionou-se 3 gotas de solução Álcool Polivinílico e mL de solução Reagente Nessler. Após preparo da amostra a mesma foi disposta na cubeta específica do espectrofotômetro e a leitura de teor de amônia foi realizada utilizando comprimento de onda de 425nm.

O resultado da análise foi a leitura direta do aparelho, em mg/L, com aproximação da segunda casa decimal.

No caso de diluição da amostra, utilizou-se a equação 21:

$$C_{mg / L} = Leitura \times FD \quad (21)$$

onde:

C = concentração de amônia, expressa em miligramas por litro (mg/L);

Leitura = leitura da concentração da amostra diluída no espectrofotômetro, expresso em miligramas por litro;

FD=fator de diluição.

4.1.3.3 Determinação da concentração de fenol

A concentração de fenol no efluente foi realizada por método de titulometria e espectrofotometria conforme procedimento padrão (STANDARD, 2005) em espectrofotômetro HACH DR 2000 e 2010.

Tomou-se 300 mL da amostra e transferiu para o balão de destilação, contendo aproximadamente 50 mL de água. Após aquecimento até ebulição e destilação da amostra adicionou-se 5 mL do reagente solução tampão dureza 1 pH $10,1 \pm 0,1$. Em seguida adicionou-se um envelope do reagente FENOL 1, e agitou-se por 15 segundos. Após homogeneização, adicionou-se um envelope do reagente FENOL 2 e agitou-se por 15 segundos. A amostra foi transferida para funil de separação e adicionou-se a amostra 30 mL

de clorofórmio PA, sob agitação por 30 segundos. Aguardou-se por 2 minutos a separação da fase aquosa da fase clorofórmica. A fase clorofórmica foi recolhida em becher de 100 mL, e a fase aquosa foi desprezada. Em seguida, transferiu-se 25 mL para a cubeta do espectrofotômetro. A leitura de concentração de fenol foi realizada utilizando-se comprimento de onda de 460 nm.

O resultado da análise será o valor obtido pela leitura direta do espectrofotômetro em mg/L, com aproximação da terceira casa decimal.

No caso de diluição da amostra, utilizou-se a equação 22:

$$C = \text{Leitura} \times FD \quad (22)$$

onde:

C = concentração de fenol, expressa em miligramas por litro (mg/L);

Leitura = leitura da concentração da amostra diluída no espectrofotômetro, expresso em miligramas por litro;

FD=fator de diluição.

4.1.3.4 Determinação de pH

O pH das amostras a 20°C, sem nenhum tratamento prévio, foi determinado por meio de leitura direta em pHmetro modelo Micronal.

4.1.3.5 Determinação da temperatura

A temperatura das amostras foi determinada por meio de leitura direta em termômetro.

4.1.4 Caracterização biológica do efluente

O objetivo da caracterização biológica do efluente foi a identificação da presença de *Pseudomonas* e a adaptação do lodo ativado existente em escala de laboratório para avaliar condições de crescimento e possível degradação de cianeto presente no efluente. A literatura

mostra que em tratamento de efluentes contendo amônia, utilizando lodo ativado, o gênero *Pseudomonas* é comum e faz parte do metabolismo (DASH, 2009; HUERTAS, 2010).

4.1.4.1 Preparo das amostras

As amostras de efluente e de lodo foram colocadas em tubos de ensaio com 8mL e centrifugadas por 30 minutos para retirada do sobrenadante com pipeta de Pasteur e, posterior, descarte. O sedimento foi homogeneizado em agitador vórtex por 5 minutos.

4.1.4.2 Isolamento dos microrganismos nativos do efluente

O isolamento de bactérias foi realizado seguindo o processo de diluição em série em placas de Petri (PELCZAR et al., 1997). Do efluente homogeneizado foi recolhida uma amostra com alça bacteriológica de aproximadamente 1 micro litro (μL) e semeado por esgotamento em placa de petri contendo meios de cultivo de enriquecimento e seletivo, e em tubos de ensaio, contendo 2 ml de caldo de enriquecimento. As semeaduras foram feitas em triplicata, incubadas em estufa a 35 ± 2 °C por 48 horas e em câmara a temperatura ambiente, também por 48 horas.

Foram utilizados meios de cultura não seletivos, de enriquecimento e seletivos para identificação da microbiota do lodo ativado (QUEISSADA, 2009). Como meios de cultura não seletivos foram utilizados os seguintes meios:

- a) Ágar Sangue: é um meio rico não seletivo, mas diferencial para a hemólise. Neste meio crescem a maioria dos microrganismos, seja Gram negativo, seja Gram positivo, além de fungos filamentosos (bolors) e leveduras.
- b) Ágar Nutriente: é utilizado como um meio de cultura para organismos pouco fastidiosos, ou seja, que não exigem nutrientes específicos. Pode ser enriquecido com sangue ou outros fluidos biológicos.
- c) Caldo BHI (brain heart infusion): é um meio de cultura de enriquecimento, não seletivo e utilizado para cultivo de estreptococos, pneumococos, meningococos, enterobactérias, não fermentadores, leveduras e fungos.
- d) Ágar Muller Hinton: é um meio de cultura nutritivo, não seletivo.

Como meios de cultura seletivos foram utilizados os seguintes meios:

- a) Ágar Cetrimide: é um meio de cultura seletivo e diferencial para espécies de *Pseudomonas aeruginosa*, uma bactéria gram-negativa.
- b) Ágar Mac Conkey: meio seletivo para Gram negativo e diferencial para a utilização de lactose.
- c) Ágar Pseudomonas: é um meio de cultura seletivo e diferencial para espécies de *Pseudomonas*, principalmente *Pseudomonas aeruginosa*.

4.1.4.3 Seleção, caracterização e identificação dos microrganismos isolados

Foram isolados os microrganismos que cresceram nos meios de cultura para identificação. A identificação foi realizada pelas características morfológica das colônias. (QUEISSADA, 2009).

Análises de oxidase e coloração de Gram foram realizadas para confirmação de *Pseudomonas*, identificadas nos meios de culturas (PELCZAR et al., 1997).

4.1.4.4 Ensaio de toxicidade

Os ensaios de toxicidade foram feitos para determinação de toxicidade aguda, utilizando-se como organismo o microcrustáceo *Daphnia similis*. Foram realizados conforme a Norma NBR 12713/04 (ABNT, 2004).

Os organismos foram cultivados em lotes de até 25 adultos por litro, em recipientes de 1 a 2 L, com luminosidade difusa, fotoperíodo de 16 h de luz e temperatura de $20 \pm 20^{\circ}\text{C}$. Para o cultivo dos organismos foi mantida a relação de 25 organismos/L. Os cultivos foram trocados no mínimo duas vezes por semana, as segundas e sextas-feiras. A cada semana novos lotes de cultivo eram iniciados, para garantir a disponibilidade de organismos-teste para o ensaio sendo descartados quando atingiam idade superior a 28 dias.

Neonatos com 6 a 24 h de vida foram expostos a cinco concentrações do efluente estudado mais o controle com água de diluição, por 48 h. Os testes foram realizados em recipientes com capacidade de 30 mL contendo 10 mL de solução-teste. No ensaio preliminar foram utilizados 10 organismos distribuídos em 2 réplicas e no ensaio definitivo foram utilizados 20 organismos distribuídos em quatro réplicas com 5 organismos em cada. O teste

preliminar foi conduzido nas mesmas condições do teste definitivo, exceto pelo tempo de duração que foi de 24 h no ensaio preliminar. Os organismos foram mantidos em câmaras incubadoras com fotoperíodo, sem alimentação, com temperatura variando entre $20 \pm 2^\circ \text{C}$. Após o período de exposição de 48 h, realizou-se a contagem dos organismos imóveis, sendo considerados imóveis aqueles que não conseguiram nadar dentro de um intervalo de 15 segundos, após leve agitação do recipiente. A CE50 foi calculada pelo método Trimmed Spearman – Karber (HAMILTON et al., 1977). Os resultados foram expressos em porcentagem para efluentes líquidos e, considerados válidos, se no término do período de ensaio a porcentagem dos organismos imóveis no controle não excedesse 10% (RIBEIRO, 2008).

4.2 TRATAMENTO BIOLÓGICO DO EFLUENTE

4.2.1 Tratamento biológico em escala laboratorial

Foi utilizado um recipiente de vidro com capacidade de 10 L, com adaptação de uma bomba de aquário para recirculação/aeração do efluente, figura 10. Amostra do efluente da saída da estação de tratamento biológico foi utilizada, permanecendo por 72 horas em aeração contínua.

O experimento foi conduzido de duas formas, sendo a primeira utilizando o próprio lodo da estação de tratamento existente e a segunda, utilizando lodo liofilizado Biotrat HX para tratamento de efluentes na concentração de 20 mg/L conforme orientação do fabricante.

Figura 10 – Tratamento biológico em escala laboratorial para avaliação da degradação de cianeto



4.2.2 Tratamento biológico em planta piloto

Foi confeccionada em PVC uma estação de tratamento em escala piloto seguindo o mesmo conceito da estação de tratamento biológico de lodo ativado. Constituída de três tanques de tratamento e um de saída foi dimensionada para refletir as condições operacionais da estação de tratamento existente, com relação à vazão e tempo de detenção hidráulica, conforme ilustrado na figura 10.

Para a realização de experimentos nesta escala foi adaptada uma tubulação para coletar continuamente, efluente na saída do clarificador e lodo na saída do tanque de aeração, da estação de tratamento biológico de lodo ativado e transferir para o tanque de recebimento da planta piloto.

O experimento foi conduzido de duas formas, sendo a primeira utilizando o próprio lodo da estação de tratamento existente e, a segunda utilizando lodo liofilizado Biotrat HX, específico para tratamento de efluentes.

Conforme definido nos experimentos em escala laboratorial, o lodo coletado do tanque de aeração da estação foi disposto no tanque de entrada da planta piloto onde ficou por 72 horas em agitação contínua para ser ativado. Foram utilizados 360 litros de efluente no primeiro tanque para ativação do lodo.

As condições de processo para desenvolvimento de lodo ativado na planta piloto seguiram as condições operacionais da estação de tratamento existente e as condições observadas nos estudos de Luque-Almagro et al. (2003; 2005; 2007; 2008; 2011), para condicionamento das bactérias em efluentes contendo cianeto.

Não foram necessários ajustes de pH, temperatura do meio reacional, conforme descrito por Kim et al. (2011).

Após ativação do lodo na planta piloto, o efluente da saída do clarificador da estação de tratamento foi transferido continuamente para a estação piloto.

A planta piloto foi constituída de quatro tanques circulares de PVC, sendo que os três primeiros têm as dimensões de 1300 mm de altura por 600 mm de diâmetro e o último, 1200 mm de altura por 500 mm de diâmetro. Dessa forma o volume total da planta piloto é de 1,33 m³, conforme descrito nas equações (23) a (28).

$$V = S \cdot H \quad (23)$$

$$S = \Pi \cdot R^2 = 3,1416 \cdot (0,3)^2 = 0,28 \text{ m}^2 \quad (24)$$

$$S = \Pi \cdot R^2 = 3,1416 \cdot (0,25)^2 = 0,20 \text{ m}^2 \quad (25)$$

$$V_1 = S \cdot H = 0,28 \cdot 1,3 = 0,36, \text{ como são três tanques iguais, } V1 = 1,1 \text{ m}^3 \quad (26)$$

$$V_2 = S \cdot H = 0,20 \cdot 1,2 = 0,24 \text{ m}^3 \quad (27)$$

$$V_t = V_1 + V_2 = 1,33 \text{ m}^3 \quad (28)$$

A vazão da estação existente em média é de 80,0 a 90 m³/h e velocidade de fluxo estimada em 1,2 m/s. Como foi utilizada uma tubulação de PVC para transferir efluente da estação para a planta piloto, o cálculo de vazão de efluente para a estação é de 2,4 m³/h, conforme descrito nas equações (29) a (31).

$$Q = v \cdot S \quad (29)$$

$$Q = 1,2 \text{ m/s} \cdot 5,57 \cdot 10^{-4} = 6,7 \cdot 10^{-4} \text{ m}^3/\text{s} \cdot 3600 \text{ s} \quad (30)$$

$$Q = 2,4 \text{ m}^3/\text{h} \quad (31)$$

O tempo de retenção do efluente na planta piloto foi de 33 minutos, conforme descrito nas equações (32) a (34).

$$Q = V / t \quad (32)$$

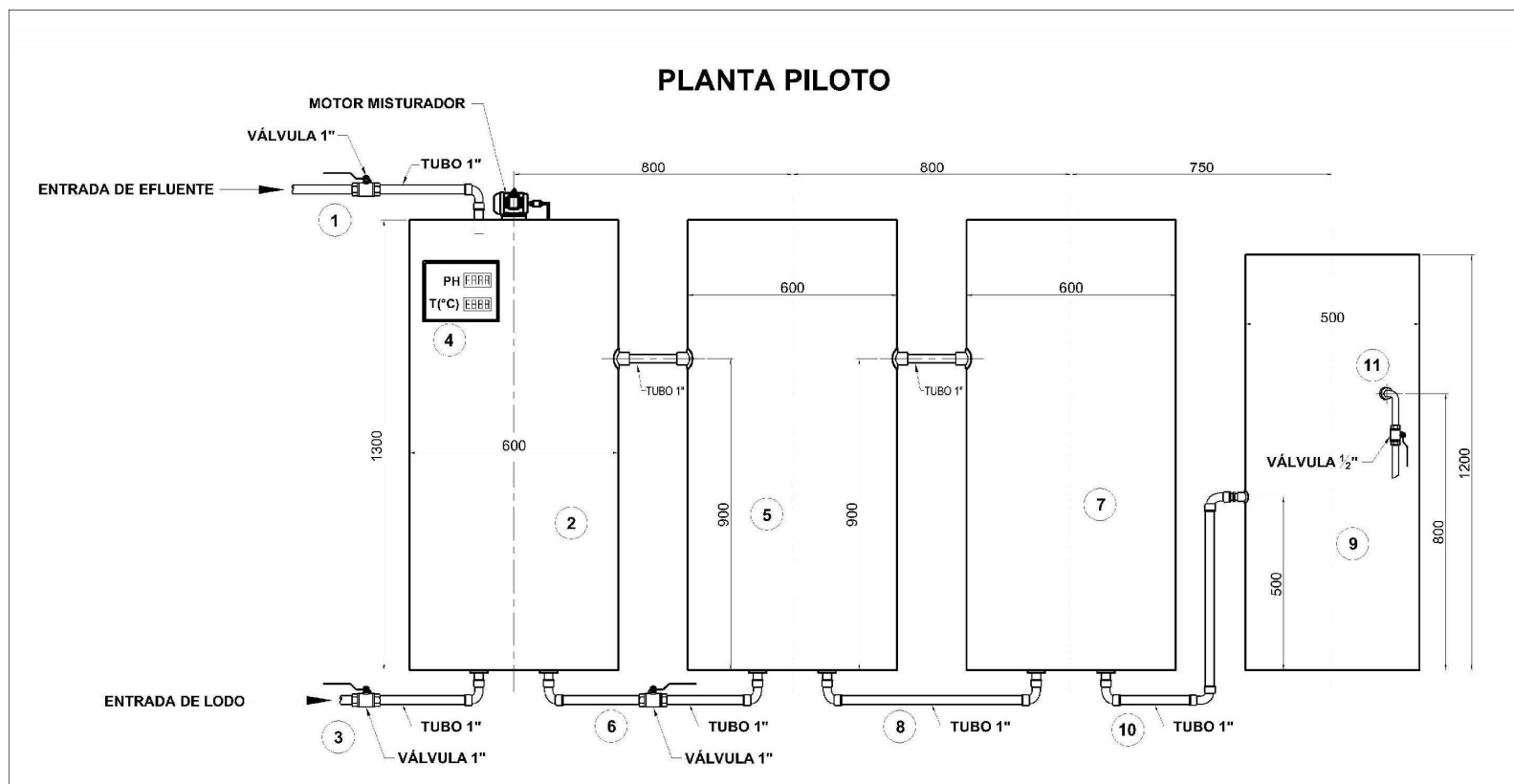
$$t = V / Q \quad (33)$$

$$t = 1,33 / 2,4 \quad (34)$$

$$t = 0,55 \text{ h} \cdot 60 \quad (35)$$

$$t = 33,25 \text{ minutos} \quad (36)$$

Figura 11 – Esquema da planta piloto para degradação de cianeto.



Legenda: 1- tubulação de entrada de efluente; 2 – tanque de aeração; 3 – tubulação de entrada de lodo ativado; 4 – painel de controle de ph e temperatura; 5 e 7 – tanques de recirculação; 6 e 8 – recirculação de lodo; 9 – tanque de saída; 10 – tubulação de transferência e 11 – saída de efluente e ponto de coleta de amostra.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para melhor apresentação e discussão dos resultados obtidos, será utilizada a mesma sequência de materiais e métodos:

1. Caracterização física, química e ecotoxicológica do efluente siderúrgico
2. Tratamento biológico do efluente em escala laboratorial
3. Tratamento biológico do efluente em escala ampliada na planta piloto industrial

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E ECOTOXICOLÓGICA DO EFLUENTE SIDERÚRGICO

Com relação às análises física e química do efluente, foram avaliados os parâmetros de pH, temperatura, vazão e determinadas as concentrações de amônia, cianeto e fenol no efluente siderúrgico bruto, na entrada da estação de tratamento biológico de lodo ativado existente e após tratamento, na saída da estação.

Conforme tabelas 3 e 4, o pH do efluente de entrada da estação apresentou valores entre 9,0 e 10,0 sendo que na saída este valor decresce para uma faixa neutra de 7,2 a 7,8. Os valores de pH encontrados no efluente de entrada, que é proveniente do processo de coqueria, se aproxima dos valores determinados no estudo de caracterização e tratamento de efluentes líquidos provenientes da produção de coque em siderurgias (PRASAD; SHUKLA; SINGH, 1991) e confirmados por Wild et al. (1994) no estudo dos efeitos da presença de cianeto em processos de tratamento de efluentes.

O processo de tratamento de lodo ativado existente, possui um controle de pH através da adição de hidróxido de sódio (NaOH) e ácido clorídrico (HCl), para manter o meio levemente alcalino, com faixa de 7,8 a 9,0.

A temperatura não variou muito permanecendo na faixa de 31 a 35 °C, praticamente a temperatura ambiente, tanto nas amostras de efluente bruto e efluente tratado. Observou-se que a vazão de entrada do efluente na estação varia muito e depende do processo de lavagem do gás de coqueria nas plantas de amônia e alcatrão.

Tabela 3 – Resultados de análises físicas e químicas do efluente bruto na entrada do tratamento biológico de lodo ativado

Amostra	pH	T °C	Q m3/h	Cianeto mg/l	Amônia total mg/l
1	10,20	33,40	82,09	19,30	36,00
2	9,75	32,50	70,92	22,10	31,00
3	9,41	33,10	72,97	14,90	41,30
4	9,07	32,90	72,72	14,80	45,00
5	8,70	33,60	75,00	15,10	46,30
6	9,72	32,60	82,77	21,00	56,50
7	10,08	31,40	85,64	34,60	52,80
8	9,78	31,40	91,98	22,00	54,80
9	9,46	32,60	91,75	22,80	59,80
10	9,49	34,40	94,78	18,40	60,80
11	9,65	33,70	95,00	23,60	61,80
12	9,60	33,30	100,00	22,40	51,30
13	9,54	33,60	82,98	25,10	62,30
14	9,62	32,40	90,38	21,60	53,50
15	9,82	34,40	85,00	21,00	56,80

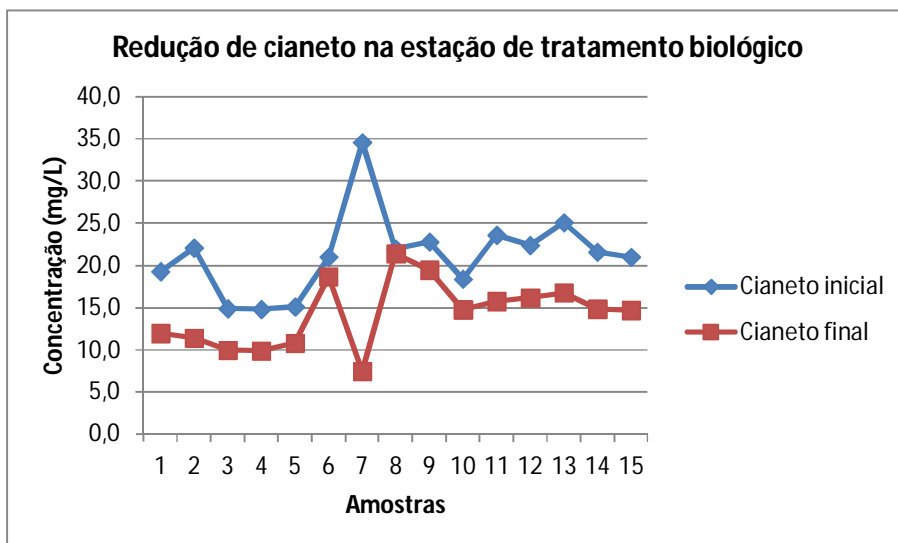
Na tabela 4 encontram-se os resultados de análise do efluente tratado na estação de tratamento biológico de lodo ativado.

Tabela 4 – Resultados de análises físicas e químicas do efluente tratado na estação de tratamento biológico de lodo ativado

Amostra	pH	T °C	Cianeto mg/l	Amônia total mg/l
1	7,78	33,80	11,95	1,95
2	8,21	35,60	11,41	1,89
3	7,89	35,10	9,95	1,70
4	7,85	35,30	9,88	2,07
5	7,26	34,90	10,80	1,80
6	7,48	30,80	18,70	1,85
7	7,42	31,20	7,46	1,69
8	7,52	31,60	21,40	1,43
9	7,48	32,40	19,48	1,79
10	7,51	34,70	14,77	1,89
11	7,88	33,00	15,75	2,41
12	7,54	32,00	16,15	1,98
13	7,60	33,80	16,77	2,46
14	7,41	32,60	14,85	2,35
15	7,36	33,90	14,68	2,18

Os resultados de cianeto encontrados no efluente bruto coincidem com os valores estimados por Prasad, Shukla e Singh (1991). Comparando a concentração de cianeto no efluente de entrada e saída do tratamento biológico de lodo ativado, observa-se uma redução de 30% (figura 12). Estes resultados sugerem que o processo de tratamento de lodo ativado, utilizado para a degradação de amônia, nas condições de pH alcalino, favorecem a degradação de cianeto, conforme verificado por Luque-Almagro (2005) quando avaliou a degradação de cianeto por bactérias *Pseudomonas* em meio alcalino. Segundo Igeño et al. (2007) microrganismos de lodo ativado em condições alcalinas são capazes de degradar cianeto.

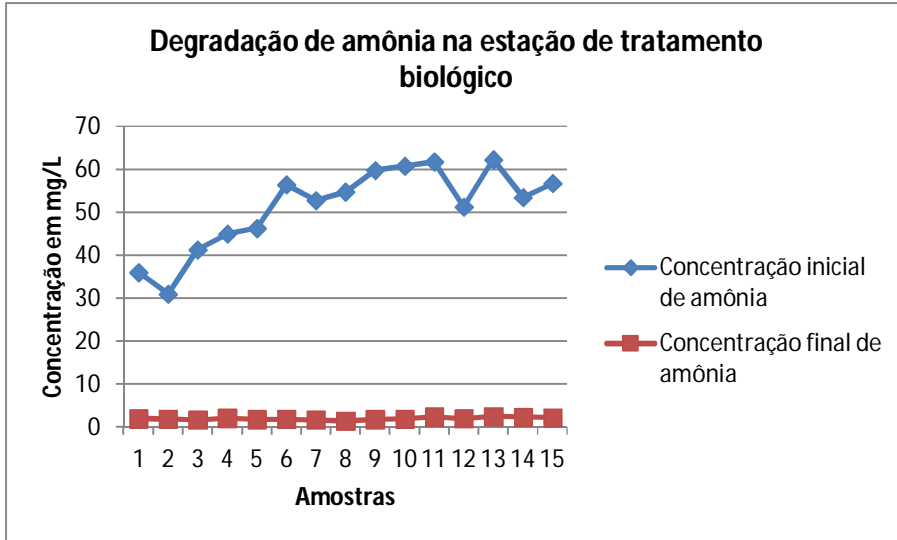
Figura 12 – Avaliação da concentração de cianeto no tratamento biológico de lodo ativado



As amostras de efluente de entrada e saída também foram submetidas à análise de concentração de amônia total. Conforme demonstrado na figura 13, a concentração de amônia no efluente de saída da estação de tratamento biológico decresce na faixa de 90 a 95% devido à biodegradação. O lodo ativado do tanque de aeração é característico para degradar compostos de amônia, porém está adaptado ao efluente siderúrgico contendo cianeto. Segundo Kelly et al. (2004) e Kim et al. (2008; 2011) há um efeito inibidor de cianeto nos processos de nitrificação e desnitrificação em tratamento de efluentes, porém, alguns microrganismos podem tolerar este efeito inibidor do cianeto livre em suas reações metabólicas. Baseado no estudo de Kim et al. (2007) que avaliou a remoção de nitrogênio em efluentes industriais de coqueria, sob a influência de cianeto, conforme demonstrado na figura

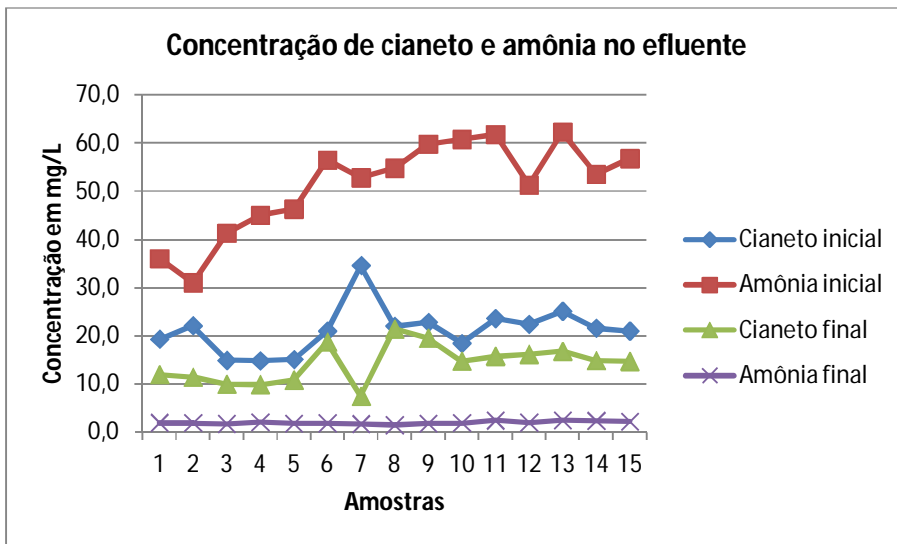
13, foi observado que os microrganismos do lodo ativado, mesmo na presença de cianeto, conseguem assimilar o nitrogênio, através da degradação de amônia.

Figura 13 - Avaliação da concentração de amônia no tratamento biológico de lodo ativado



O tratamento biológico de lodo ativado existente mostrou-se eficiente na degradação de amônia e, além disso, o processo também consegue degradar cianeto, conforme ilustrado na figura 14, a redução nas concentrações desses agentes químicos.

Figura 14 - Redução da concentração de amônia e cianeto no tratamento biológico de lodo ativado

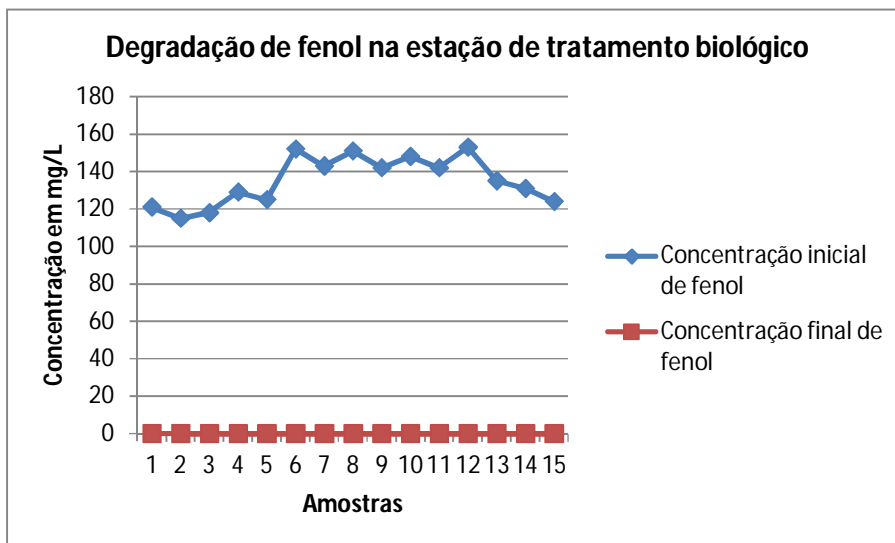


Na tabela 5 observa-se que há redução na concentração de fenol no efluente após o tratamento biológico de lodo ativado. A redução de 99,9% na concentração de fenol (figura 15) sugere que este composto foi utilizado como fonte de carbono pelos microrganismos presentes no meio. Segundo Halden et al. (1999), as bactérias do gênero *Pseudomonas* podem utilizar compostos aromáticos como fonte de carbono. No estudo realizado por Staib e Lant (2007), o qual avaliou a degradação de tiocianato em efluente proveniente dos fornos de coqueria através de tratamento biológico, concluiu que a degradação de fenol em reatores com lodo ativado para efluentes siderúrgicos contendo cianeto, não sofre inibição de cianeto livre (CN⁻).

Tabela 5 – Resultados da avaliação da concentração de fenol no efluente do tratamento biológico de lodo ativado

Amostra	Fenol Entrada mg/l	Fenol Saída mg/l
1	121,00	0,062
2	115,00	0,050
3	118,00	0,048
4	129,00	0,053
5	125,00	0,041
6	152,00	0,079
7	143,00	0,070
8	151,00	0,058
9	142,00	0,048
10	148,00	0,056
11	142,00	0,070
12	153,00	0,059
13	135,00	0,047
14	131,00	0,043
15	124,00	0,069

Figura 15 – Redução da concentração de fenol no tratamento biológico



5.2 CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA DO EFLUENTE

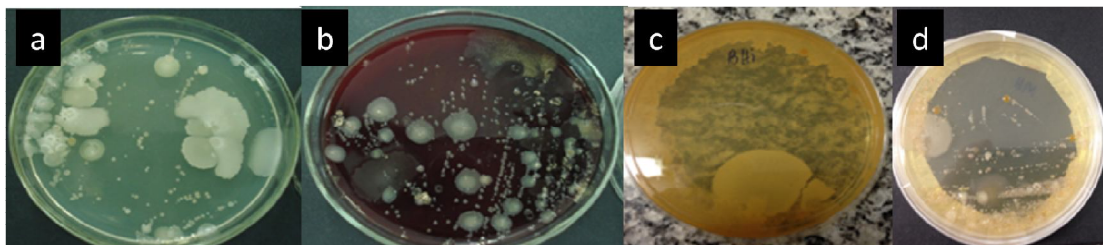
A literatura não possui muitas informações sobre a microfauna de lodos ativados de efluentes industriais, principalmente no que se refere a efluentes siderúrgicos, contendo cianetos (SANTOS, 2006). O objetivo dessa etapa não foi identificar de forma precisa os microrganismos presentes, mas verificar a presença de *Pseudomonas ssp.* no lodo ativado.

Estudos realizados por Luque-Almagro et al. (2005; 2007; 2008; 2011) identificaram, isolaram e testaram uma espécie de *Pseudomonas* que, em condições de alcalinidade do meio, conseguiu degradar cianeto em efluentes industriais.

Huertas (2006; 2010) e Igeño et al. (2007) também obtiveram resultados satisfatórios de degradação de cianeto com *Pseudomonas ssp.* em lodo ativado. Outras espécies de bactérias também degradam cianeto, de acordo com o estudo de Kim et al. (2011) que identificou bactérias de nitrificação em lodo ativado de efluentes de coqueria.

As placas de petri contendo meios não seletivos, como por exemplo, ágar Nutrient, Muller Hinton, ágar sangue e BHI, apresentaram crescimento de diversas colônias bacterianas. Nas amostras incubadas em estufas o crescimento observado foi maior, contra um crescimento mais discreto nas placas cultivadas em temperatura ambiente (figura 16).

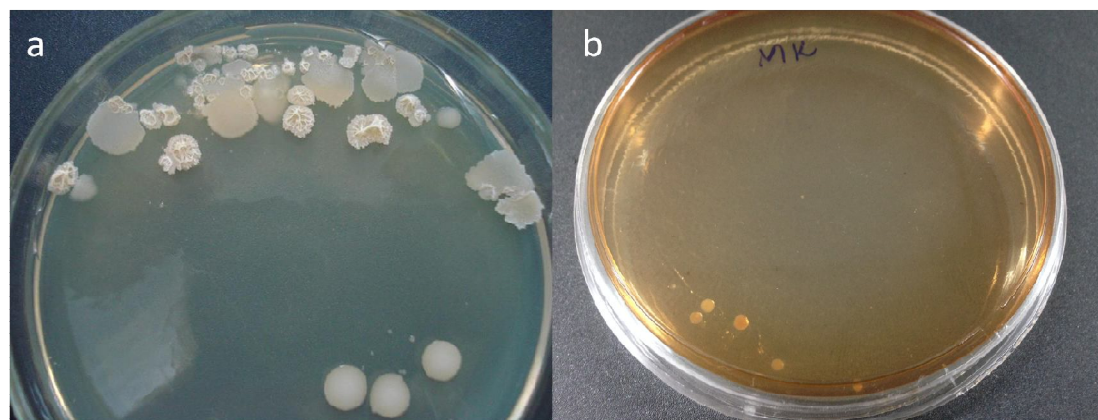
Figura 16 – Crescimento de microrganismos em meios não seletivos



Legenda: a – meio ágar nutriente; b – meio ágar sangue; c – meio Agar BHI; d – meio Agar Muller Hinton

No meio seletivo ágar cetrimide, que é específico para *Pseudomonas aeruginosa*, não foi observado crescimento de nenhuma colônia. Entretanto nos meios seletivos ágar pseudomonas e ágar Mac Conkey, meios específicos para *Pseudomonas ssp.* e microrganismos gram negativos, respectivamente, observou-se crescimento de várias colônias (figura 17).

Figura 17 – Crescimento de microrganismos em meios seletivos



Legenda: a – meio ágar pseudomona; b – meio ágar Mac Conkey

A partir das colônias encontradas nos meios seletivos para *Pseudomonas ssp.*, foram feitos isolamentos em meio Mac Conkey, conforme ilustrado na figura 17b. Nas colônias isoladas foram feitos testes de coloração de gram e o resultado encontrado foi a presença de bacilos gram negativos, característicos de *Pseudomonas* (GOMES, 2012).

5.3 ENSAIOS DE TOXICIDADE

A avaliação da sensibilidade de *D. similis* foi feita utilizando-se como substância de referência o cloreto de sódio (NaCl).

A carta controle da sensibilidade de *D. similis* à substância de referência no período em que foram realizados os testes, foi de acordo com a utilizada por Pereira, E. L. (2013), com a média acumulada, limite superior e inferior do intervalo de confiança. De maneira geral, os resultados obtidos na avaliação da sensibilidade do organismo utilizado no presente trabalho, foram satisfatórios.

Nos efluentes siderúrgicos estudados foram consideradas as seguintes identificações:

- efluente A – efluente bruto, sem tratamento, coletado na entrada do tratamento biológico de lodo ativado;
- efluente B – efluente tratado coletado na saída da estação de tratamento biológico de lodo ativado;
- efluente C – efluente tratado na planta piloto.

Na tabela 6 observa-se a CE50 48 h e intervalo de confiança, obtidos nas amostras de efluentes. De acordo com os resultados, todos os efluentes avaliados foram tóxicos para o microcrustáceo *D. similis*. O efluente A foi o mais tóxico dos três, por tratar-se de um efluente sem tratamento, o que justifica o resultado de maior toxicidade. Esse efluente apresentou as maiores concentrações de cianeto, fenol e amônia.

Tabela 6 – Resultados de CE50 48 h e intervalo de confiança (IC), obtidos na avaliação de sensibilidade de *D. similis*, utilizando NaCl g/L como substância de referência

Amostra	CE50 48h g/L	IC (95%)
A	7,34	5,23 – 10,30
B	44,38	38,28 – 51,45
C	78,49	74,65 – 82,53

Observa-se que a amostra C, que representa o efluente tratado na estação de tratamento biológico de lodo ativado, que foi submetido ao tratamento na planta piloto, posteriormente, apresentando redução de aproximadamente 70% de cianeto e 90% de amônia

e, com concentração final de fenol praticamente em zero mg/L, foi a que apresentou menor toxicidade aguda.

A amostra B, referente ao efluente tratado na estação de tratamento biológico, apresentou uma toxicidade menor que a amostra A, porém maior que a amostra B. Esta condição revela que o tratamento biológico de lodo ativado reduz a toxicidade do efluente. Entretanto, quando o efluente segue no tratamento da planta piloto, há redução da toxicidade devido à redução da concentração de cianeto.

Estes resultados coincidem com os valores de concentração de cianeto encontrados. O efluente bruto é o que teve a maior concentração de cianeto e isto explica a maior toxicidade.

5.4 TRATAMENTO BIOLÓGICO DO EFLUENTE EM ESCALA LABORATORIAL

No experimento de laboratório foi utilizado o efluente tratado na estação de tratamento biológico de lodo ativado, coletado após o tratamento. Foram utilizados 10 litros por batelada com aeração por 72 horas (PELCZAR et al., 1997).

O efluente, utilizado nos experimentos em escala laboratorial, apresentou baixas concentrações de amônia e de fenol. A concentração de amônia determinada no início da batelada apresentou valores na faixa de 1,50 a 2,50 mg/L e a concentração de fenol apresentou resultados na faixa de 0,040 a 0,070 mg/L. Dessa forma, o lodo ativado encontrou-se em condições restritas de nitrogênio e carbono.

A concentração de cianeto determinada no início, apresentou valores na faixa de 9,80 a 16,80 mg/L. Esta variação deu-se devido às condições instáveis do efluente recebido na estação de tratamento. Na figura 18 observa-se que após 72 horas houve uma redução de cianeto. A redução de 66% na concentração de cianeto (figura 19) sugere que os microrganismos presentes no lodo ativado, na escassez de fontes de carbono e nitrogênio, utilizaram o cianeto. Estes resultados confirmam os estudos realizados por Gupta, Balomajumder e Agrawal (2010), que descreveram que alguns microrganismos podem utilizar o cianeto como fonte de carbono e azoto.

Conforme estudo de Luque-Almagro et al. (2008), que obteve bons resultados de degradação de cianeto em condições alcalinas; os resultados obtidos nos experimentos de escala laboratorial, indicam que o lodo ativado em condições de pH levemente alcalino, variando na faixa de 7,40 a 8,20 e, em presença de concentração reduzida de amônia e fenol,

utilizou o cianeto como fonte de nitrogênio resultando numa maior degradação. Segundo IGEÑO et al. (2007), microrganismos de lodo ativado em condições alcalinas são capazes de degradar cianeto.

Também foi observado nas amostras com redução de cianeto que não houve um aumento significativo da concentração de amônia. Os resultados obtidos de amônia total encontram-se na faixa de 1,60 a 2,40 mg/L. Isto sugere que não houve consumo de amônia e que os microrganismos utilizaram o cianeto como fonte de nitrogênio. Por outro lado, no processo de biodegradação do cianeto, não podemos afirmar que houve produção de amônia. Segundo Luque-Almagro et al. (2008), microrganismos que possuem a enzima cianase, degradam cianeto produzindo amônia e, esta é degradada em seguida, no processo de assimilação nitrogênio.

As concentrações constantes de amônia sugerem que, no metabolismo para degradação de cianeto, o processo ocorra como o estudo realizado por Harris & Knowles (1983), que sugere que a biodegradação de cianeto ocorre em duas etapas, sendo que na primeira, o cianeto é convertido em amônia e, na segunda etapa, a amônia é degradada para assimilação do nitrogênio.

Entretanto, segundo Gupta, Balomajumder e Agrawal (2010), existem várias vias metabólicas que podem ser utilizadas pelos microrganismos para degradação de cianeto e assimilação de nitrogênio. O metabolismo dependerá do microrganismo e das condições do meio.

Figura 18: Avaliação da concentração de cianeto em escala laboratorial com lodo ativado

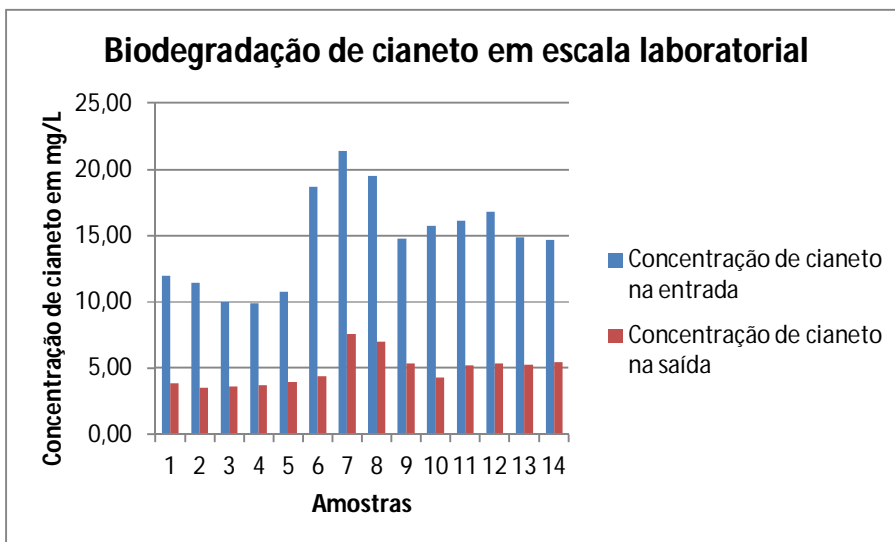
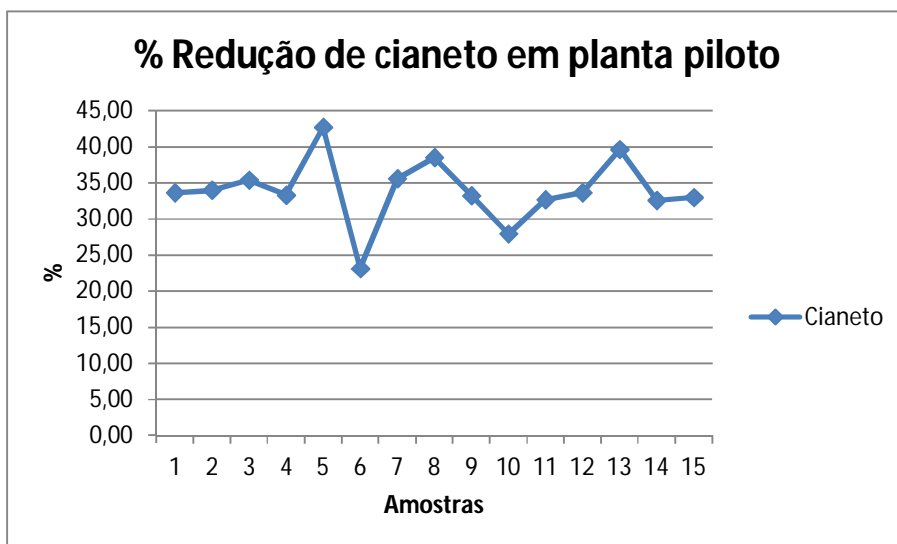
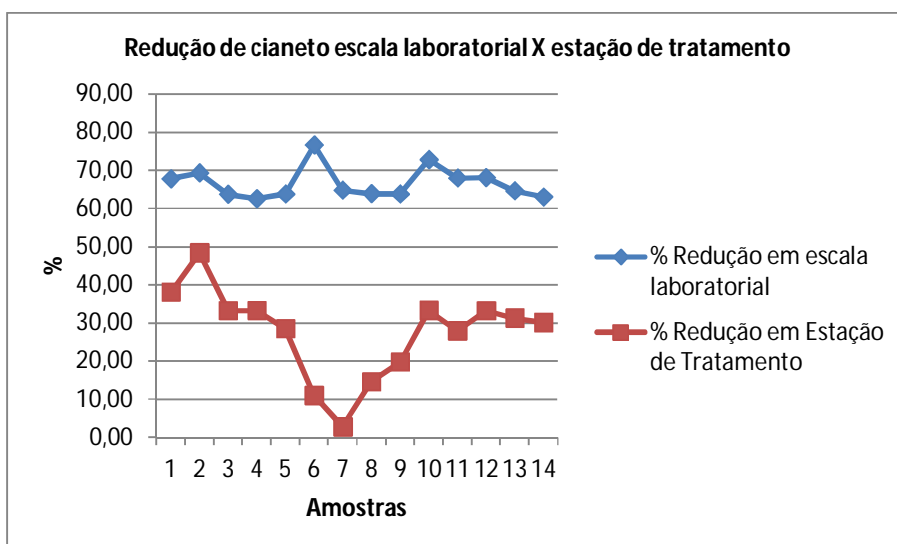


Figura 19: Redução concentração de cianeto em escala laboratorial



A eficiência de degradação de cianeto obtida em escala laboratorial foi mais que o dobro da degradação na estação de tratamento biológico com lodo ativado. Conforme ilustrado na figura 20, a porcentagem de redução na concentração de cianeto em escala laboratorial foi de 66% em média contra 27% do tratamento biológico de lodo ativado.

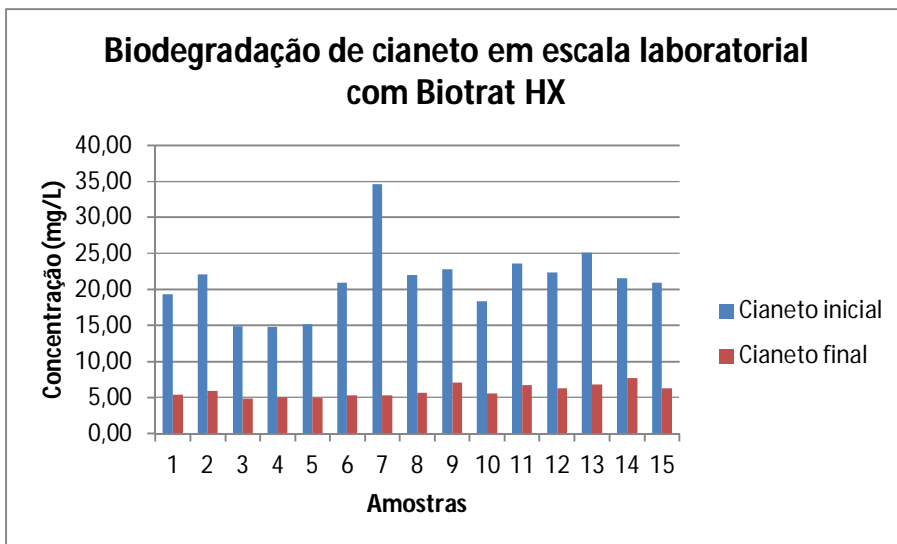
Figura 20 – Comparativo da % de redução de cianeto em escala laboratorial e no tratamento biológico



Um segundo experimento em escala laboratorial foi realizado utilizando lodo liofilizado comercial. O Biotrat HX é um composto de nutrientes e microrganismos para tratamento biológico. Este material foi comprado da empresa Ecobac Biotecnologia e adicionado no próprio efluente na concentração de 20 mg/L conforme orientação do fornecedor.

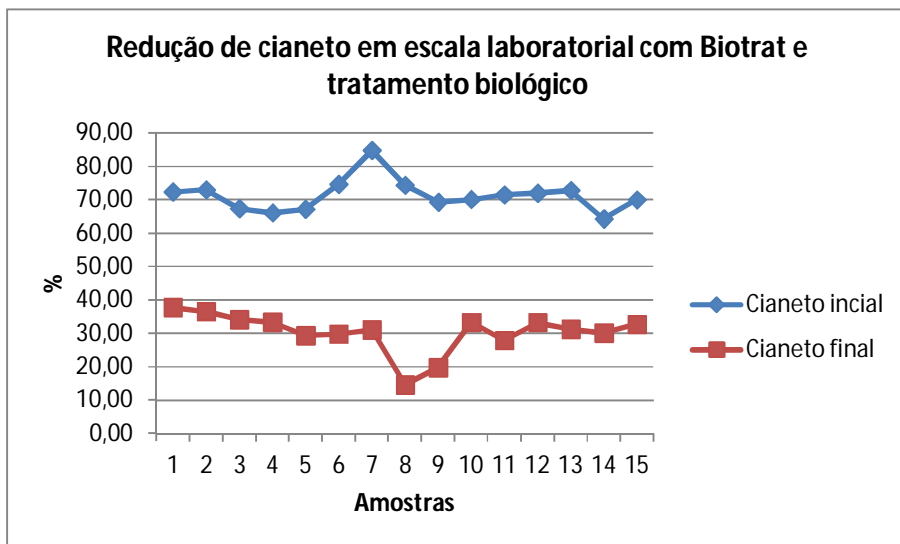
Em condições de aeração e sem correção de pH que manteve-se estável na faixa de 7,3 a 8,0 avaliou-se a concentração no início e no final do tratamento após 72 horas. Na figura 21, observa-se que houve redução na concentração de cianeto.

Figura 21: Avaliação da concentração de cianeto em escala laboratorial com lodo liofilizado



Com a utilização do lodo liofilizado em escala laboratorial, a degradação de cianeto foi maior, atingindo valores de 70%, conforme ilustrado na figura 22. O composto comercial que apresenta uma fórmula balanceada com nutrientes e microrganismos apresenta uma microbiota selecionada e indicada para tratamento de efluentes industrial, a princípio não é seletivo, mas apresentou um resultado de maior eficiência como era esperado. Kaewkannetra et al. (2009) obteve redução da concentração de cianeto em efluente de moinho de mandioca, introduzindo a bactéria *Azotobacter vinelandii* TISTR 1094 no lodo ativado do tratamento biológico, realizando testes em escala piloto. Segundo este estudo a introdução no lodo ativado, do microrganismo seletivo para degradação de cianeto, após condicionamento em escala piloto obteve resultado acima de 90% de redução.

Figura 22: Comparativo da % de redução de cianeto em escala laboratorial com lodo liofilizado e no tratamento biológico



5.5 TRATAMENTO BIOLÓGICO DO EFLUENTE EM PLANTA PILOTO

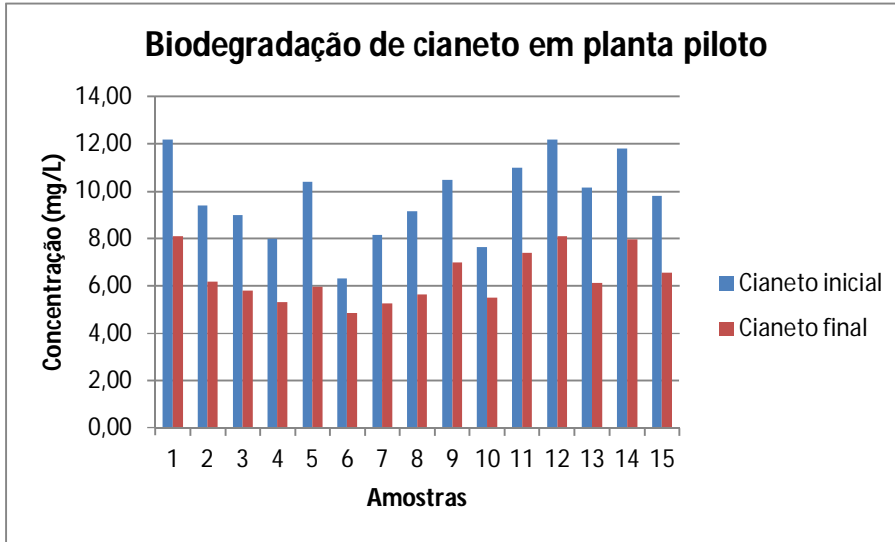
Na planta piloto montada com capacidade para $1,33 \text{ m}^3$ foi adaptada uma tubulação para coletar efluente na saída do tratamento biológico existente, de forma contínua para avaliar a degradação de cianeto.

Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro utilizando o efluente e o lodo ativado do tratamento existente. Foi realizada uma coleta de 360 litros de lodo e efluente e disposto no primeiro tanque da planta piloto, sob aeração por 72 horas. Após este período iniciou-se a alimentação contínua da planta somente com efluente de saída da estação existente.

O efluente tratado coletado na saída do tratamento biológico de lodo ativado, como nos experimentos em escala laboratorial, também apresentou baixas concentrações de amônia e de fenol na faixa de 1,65 a 2,40 mg/L e 0,025 a 0,065 mg/L, respectivamente. Similar às condições dos experimentos em escala laboratorial, o lodo ativado da planta piloto, encontrou-se em condições restritas de nitrogênio e carbono.

A concentração de cianeto determinada no início, apresentou valores na faixa de 7,60 a 12,20 mg/L. Na figura 23 observa-se que após o tempo de detenção hidráulica de 33 minutos na planta piloto houve uma redução de cianeto.

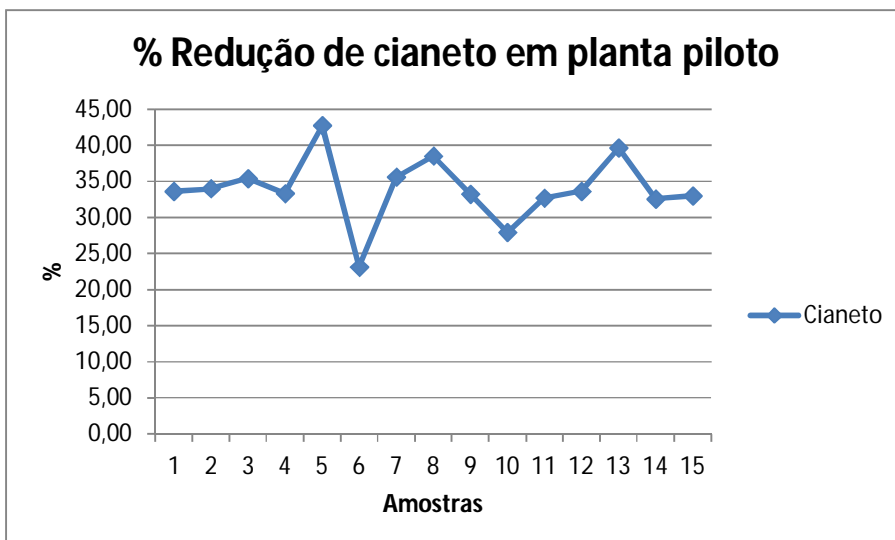
Figura 23: Avaliação da concentração de cianeto em planta piloto com lodo ativado



A redução de 33% da concentração de cianeto na planta piloto (figura 24) obteve performance próxima da estação de tratamento biológico de lodo ativado, apesar de ter ocorrido em taxa menor que a obtida em escala laboratorial. Entretanto, nas condições de fluxo contínuo, de pH levemente alcalino, utilizando o próprio lodo ativado da estação existente, há um acréscimo de redução no processo de degradação de cianeto.

Segundo Kim et al. (2011), em seu estudo de degradação de cianeto em efluentes de coqueria em siderurgia, concentrações de cianeto livre (CN⁻) podem ser completamente removidas em reatores aeróbicos.

Figura 24: Redução da concentração de cianeto em planta piloto com lodo ativado



O pH do meio na planta piloto ficou estável na faixa de 7,5 a 8,1. Esta condição de meio levemente alcalino favoreceram a degradação de cianeto, conforme Luque-Almagro et al. (2008), relatou em seu estudo sobre degradação de cianeto em condições alcalinas. Segundo Igeño et al. (2007), microrganismos de lodo ativado em condições alcalinas são capazes de degradar cianeto, podendo utilizar este composto como fonte de nitrogênio.

Também foi observado nas amostras com redução de cianeto que não houve um aumento significativo da concentração de amônia. Os resultados obtidos de amônia total encontram-se na faixa de 1,50 a 2,25 mg/L. Estes resultados são ligeiramente menores que os obtidos na escala de laboratório. Entretanto, sugere que não houve consumo de amônia. Mas conforme os resultados obtidos por Luque-Almagro et al. (2008), microrganismos que possuem a enzima cianase, degradam cianeto produzindo amônia e, esta é degradada em seguida, no processo de assimilação nitrogênio.

Como praticamente não houve variação da concentração de amônia, o lodo ativado degradou cianeto para assimilação de nitrogênio (HARRIS; KNOWLES, 1983).

O segundo experimento realizado na planta piloto foi ativar o lodo liofilizado comercial Biotrat HX no primeiro tanque sob aeração por 72 horas. Em seguida foi feita a alimentação contínua com lodo tratado na estação de tratamento biológico.

O efluente tratado na planta piloto foi avaliado com relação à concentração de cianeto. Conforme as figuras 25 e 26 observa-se que houve redução na concentração de cianeto com maior eficiência em relação à utilização de lodo ativado do tratamento existente.

Figura 25: Avaliação da concentração de cianeto em planta piloto com lodo liofilizado

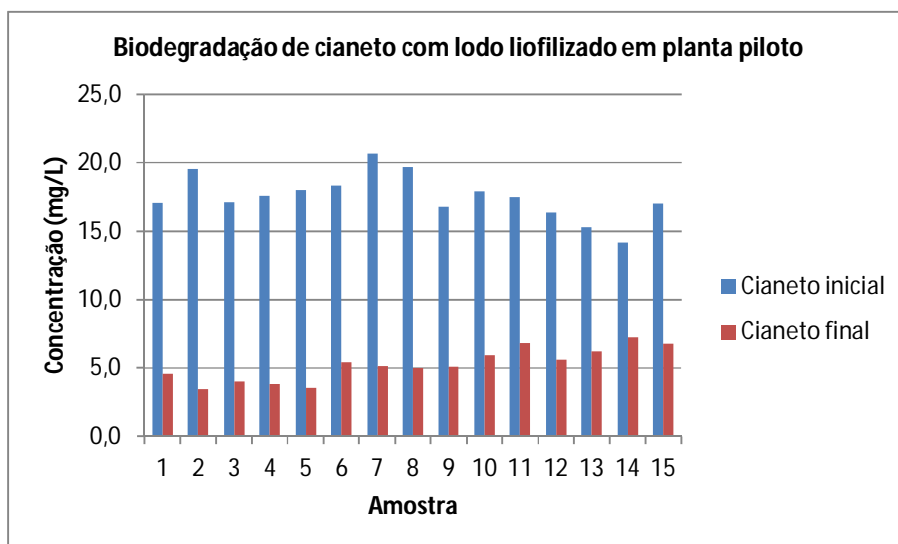
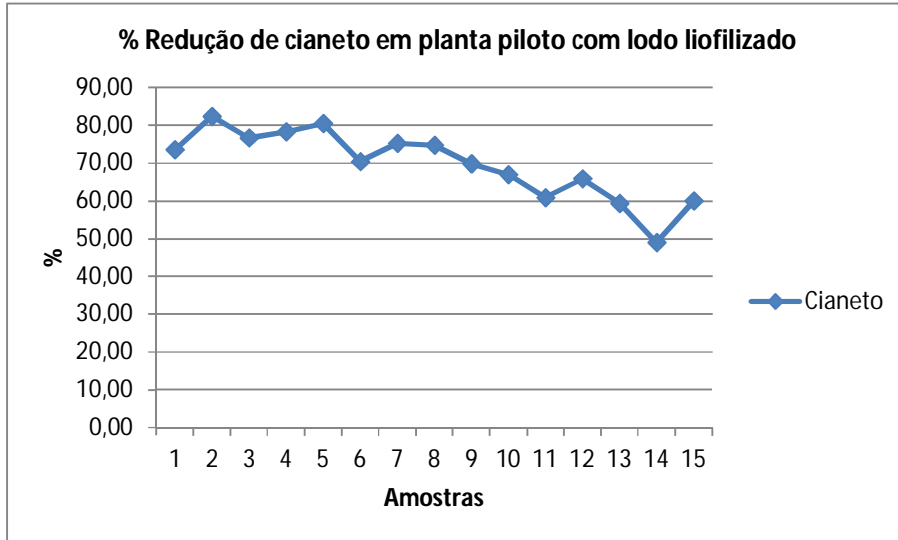


Figura 26: Redução da concentração de cianeto em planta piloto com lodo liofilizado



Avaliando os dados que são apresentados na figura 27, podemos observar que os experimentos em escala laboratorial utilizando lodo liofilizado comercial, apresentou uma redução maior na concentração de cianeto, entretanto estes experimentos não refletiram as condições do tratamento existente, mas serviram para definir as condições de ativação dos lodos na planta piloto.

Na planta piloto a utilização de lodo liofilizado comercial, em regime contínuo, na sequência do tratamento existente, mostrou uma redução da concentração de cianeto próxima aos experimentos de laboratório.

Entretanto, o foco desse trabalho foi avaliar a capacidade do lodo ativado degradar cianeto em condições de ausência de amônia e fenol como nutrientes do meio. Conforme observado na figura 28 a utilização do lodo da estação existente na planta piloto, demonstrou uma degradação igual à obtida no tratamento existente.

Considerando uma redução de 30,0% de cianeto no tratamento biológico de lodo ativado, quando o efluente tratado foi encaminhado para a planta piloto, houve uma redução de 33%. Comparando a concentração de cianeto do efluente bruto na entrada do tratamento biológico de lodo ativado com a concentração do efluente na saída da planta piloto, há uma redução total da concentração de cianeto em 60,0%, ou seja, utilizando a planta piloto como uma extensão do tratamento biológico, a redução na concentração de cianeto do efluente, praticamente dobrou.

Os resultados de concentração de cianeto obtidos após tratamento do efluente na planta piloto com lodo liofilizado e lodo ativado foram, respectivamente, 4,0 e 6,0 mg/l e 6,0 a 8,0 mg/L.

Figura 27: Comparativo da redução da concentração de cianeto no tratamento de lodo ativado, em escala laboratorial e planta piloto com lodo liofilizado.

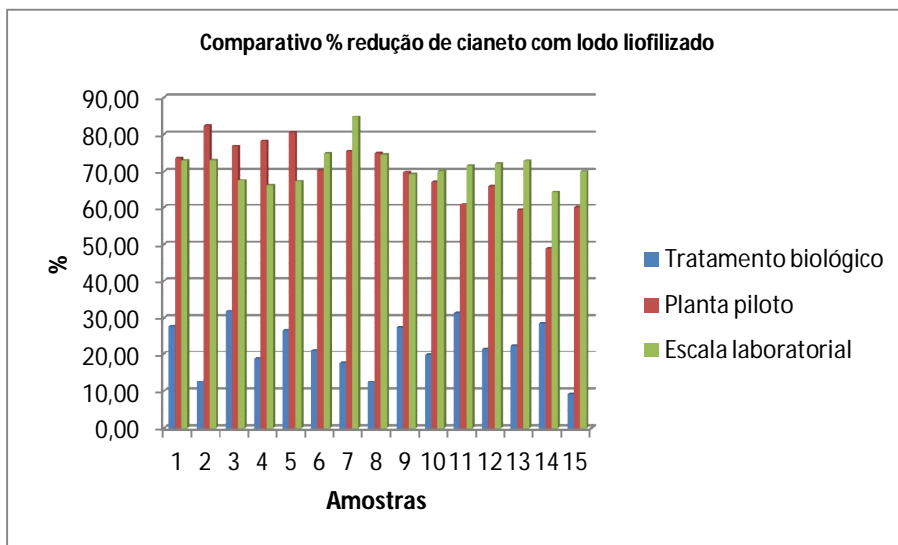
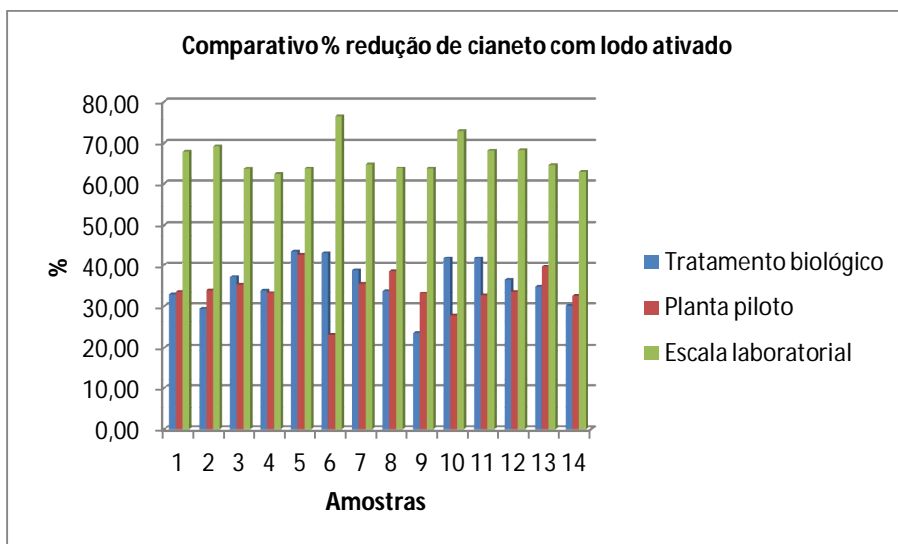


Figura 28: Comparativo da redução da concentração de cianeto no tratamento de lodo ativado, em escala laboratorial e planta piloto com lodo ativado.



Os resultados obtidos, na planta piloto, com a utilização do próprio lodo ativado da estação de tratamento biológico existente, sugere que um aumento no tempo de permanência do efluente na estação de tratamento biológico, considerando mais um estágio no tratamento, após degradação da amônia e do fenol, associada a uma recirculação maior de lodo ativado, poderia favorecer uma maior degradação, pois a planta piloto em regime contínuo funcionou como uma extensão do tratamento.

A utilização do lodo liofilizado comercializado aumenta a taxa de redução da concentração de cianeto no efluente, mas para utilização em escala industrial, na estação existente, deverá ser melhor avaliado.

6. CONCLUSÃO

A Resolução CONAMA nº 430 de 13 de maio de 2011, e a Norma Técnica NT202 Revisão 10, de 04 de dezembro de 1986, do Instituto Estadual do Ambiente (INEA), que fixam os padrões para descarte de efluentes nos corpos receptores, determinam a concentração limite em 0,2 mg/L para descarte de cianeto. Na estação de tratamento existente somente se atinge este limite através do tratamento físico-químico, pois as concentrações de cianeto na saída do tratamento biológico estão bem acima do estipulado pela legislação vigente.

Os resultados obtidos em escala laboratorial foram importantes para definição dos parâmetros nos ensaios realizados na planta piloto.

A utilização da planta piloto com o lodo ativado do tratamento biológico, fazendo com que a mesma seja uma extensão do tratamento existente, reduziu a concentração de cianeto no efluente até 60%.

Os resultados obtidos de concentração de cianeto na saída da planta piloto foram de 4,00 a 6,00 mg/L, utilizando-se lodo liofilizado.

Com a aclimatização do lodo ativado na planta piloto foi possível obter uma degradação mais eficaz do cianeto.

Os resultados de redução da concentração de cianeto obtidos na planta piloto confirmam a capacidade do lodo ativado tratar este composto presente no efluente.

A degradação de cianeto, amônia e fenol reflete diretamente na redução da toxicidade do efluente estudado.

Considerando a redução total na concentração de cianeto na planta piloto, o efluente tratado que segue para o tratamento físico-químico será mais facilmente tratado devido à condição da concentração de contaminantes estar reduzida.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem a realização de outros estudos com relação a:

- Dimensionamento de planta piloto em maior escala, com estudos de balanço de massa, cinética para novos testes;
- Estudo de toxicidade do efluente considerando diferentes concentrações de amônia, fenol e cianeto resultantes nas etapas do tratamento biológico e da planta piloto;
- Realização de ensaio de toxicidade crônica para avaliação dos resultados em decorrência do decréscimo da concentração de cianeto.
- Estudo mais aprofundado na caracterização biológica do efluente, para isolamento das espécies *Pseudomonas ssp* e avaliação do seu comportamento na degradação de cianeto.
- Testes com *Pseudomonas ssp.* presentes no tratamento biológico de lodo ativado para avaliação da eficiência de degradação de cianeto desse microrganismo em comparação ao lodo ativado;

REFERÊNCIAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713: Ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com *Daphnia spp* (Cladocera, Crustacea)**. Rio de Janeiro. 2004.

AKCIL, A. et. al. Biological treatment of cyanide by natural isolated bacteria (*Pseudomonas spp.*), **Miner. Eng.**, v.16, p.643–649, 2003.

AKCIL, A., MUDDER T. Microbial destruction of cyanide wastes in gold mining: process review, **Biotechnol. Letter**, v.25, p.445–450, 2003.

ANDRADE, R. C., MARTINS, A. H. Extração por solventes aplicada à recuperação de cianetos, **Revista Esc. Minas**, v.58, n.2, p.161-164, 2005.

ATSDR, Department of Health and Human Services. **Toxicological Profile for Trichloroethylene**, 2012. Disponível em <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp19.html>. Acesso em 19.Mai.2014.

AITIMBETOV, T., WHITE, D. M., SETH, I. Biological gold recovery from gold–cyanide solutions, **Int. J. Miner.Process**, v.76, p.33– 42, 2005.

BHATTACHARYA, R; FLORA, S.J.S. Handbook of toxicology of Chemical Warfare Agents, 2.ed. London: Editora Elsevier, 2009, p. 255–270.

BORGES, M. F.; FUKUDA, W. M. G.; ROSSETTI, A. G. Avaliação de variedades de mandioca para consumo humano. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.37, n.11, p.1559-1565, 2002.

BOSE, P.; BOSE, M. A., KUMAR, S. Critical evaluation of treatment strategies involving adsorption and chelation for wastewater containing copper, zinc and cyanide. **Advances in Environmental Research**, v.7, p.179-195, 2002.

BUNDY, J.G.; PATON, G.I; CAMPBELLA, C.D. Combined microbial community level and single species biosensor responses to monitor recovery of oil polluted soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, p.1149–1159, 2004.

CAMPOS, M. G.; PEREIRA, P.; ROSEIRO, J. C., Packed-bed reactor for the integrated biodegradation of cyanide and formamide by immobilized *Fusariumoxysporum* CCMI 876 and *Methylobacterium* sp. RXM CCMI 908, **Enzyme and Microbial Technology**, v.38, p.848–854, 2006.

CABUK, A.; UNAL, A. T.; KOLANKAYA, N. Biodegradation of cyanide by a white rot fungus, *Trametes versicolor*. **Biotechnology Letters**, v.28, p.1313–1317, 2006.

CHAKRABORTY, S.; VEERAMANI, H. Effect of HRT and recycle ratio on removal of cyanide, phenol, thiocyanate and ammonia in an anaerobic-anoxiaerobic continuous system. **Process Biochem**, v.41, p.96–105, 2006.

CHEN, C. Y.; KAO, C. M.; CHEN, S. C. Application of *Klebsiella oxytoca* immobilized cells on the treatment of cyanide wastewater. **Chemosphere**, v.71, p.133–139, 2008.

CHENG, S. C. et al, The electrochemical oxidation of alkaline copper cyanide solutions, **Electrochimica Acta**, v.47, p.3245-3256, 2002.

CHISTÉ, R. C.; COHEN, K. O.; OLIVEIRA, S. S. Determinação de cianeto durante etapas de processamento da farinha de mandioca do grupo seca. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTIFICA DA UFRA E SEMINÁRIO DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL – 2005, Belém.

CONAMA – CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE, Resolução nº 430 de 13 de Maio de 2011. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16.05.11, p.89.

DASH, R. R et al. Removal of metal cyanides from aqueous solutions by suspended and immobilized cells of *Rhizopus oryzae* (MTCC 2541). **Eng. Life Science.**, v.9, n.1, p.53–59, 2009.

DASH, R. R.; GAUR, A.; BALOMAJUMDER, C. Cyanide in industrial wastewaters and its removal: A review on biotreatment. **Journal of Hazardous Materials**, v.163, p.1–11, 2009.

DASH, R. R.; BALOMAJUMDER, C.; KUMAR, A. Treatment of metal cyanide bearing wastewater by simultaneous adsorption and biodegradation (SAB). **Journal of Hazardous Materials**, v.152, p.387–396, 2008.

DONATO, D. B. et al. A critical review of the effects of gold cyanide-bearing tailings solutions on wildlife. **Environment International**, v.33, n.7, p.974-984, 2007.

DUTRA, A. J. B. et al. O processo eletrolítico como alternativa para o tratamento de efluentes cianídricos. **REM – Revista Escola de Minas**, v.55, n.4, p.267-272, 2002.

DUTRA, A. J. B; LEMOS, F. A. Recuperação de metais de efluentes de cianídricos de mineração de ouro com catodos de aço inoxidável AISI 304 e titânio. **Tecnol. Metal. Mater. Miner.** v.8, n.3, p.191-196, 2011.

DWORKIN, et al. **The Prokaryotes, a handbook on the biology of bacteria**, 3.ed. New York: Springer, 2006, v.6, p.646-703.

EZZI, M. I.; LYNCH, J. M. Biodegradation of cyanide by *Trichoderma* spp. and *Fusarium* spp. **Enzyme and Microbial Technology**, v.36, p.849–854, 2005.

FEEMA – FUNDAÇÃO DE ENGENHARIA E MEIO AMBIENTE, Manual de meio ambiente. **MF 418, Método Titulométrico de Determinação de Cianeto Total**, Rio de Janeiro, 1983.

FEEMA – FUNDAÇÃO DE ENGENHARIA E MEIO AMBIENTE, Manual de meio ambiente. **MF 419, Método Colorimétrico de Determinação de Cianeto Total**, Rio de Janeiro, 1983.

FUJIHARA, H. et al. Cross-regulation of biphenyl- and salicylate-catabolic genes by two regulatory systems in *Pseudomonas pseudoalcaligenes* KF707. **Journal of Bacteriology**, v.188, n.13, p.4690–4697, 2006.

FURTADO, et al. Cianeto em tiquiras: riscos e metodologia analítica. **Ciência Tecnol. Aliment.**, v.27, n.4, p.694-700, 2007.

GESSNER, T. P.; KADLEC, R. H.; REAVES, R. P. Wetland remediation of cyanide and hydrocarbons. **Ecological Engineering**, v.25, p.457–469, 2005.

GOMES, M., **Microbiologia Clínica Veterinária: Gênero *Pseudomonas* spp.**1.ed. Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012.

GONÇALVES, A. C., Tratamento de efluentes contendo cianeto livres através do sistema H_2O_2 / UV, 2004. **Tese (Doutorado em Ciências dos Materiais e Metalurgia)**, Departamento de Ciências dos Materiais e Metalurgia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2004.

GUPTA, N.; BALOMAJUMDER; C., AGARWAL, V.K. Enzymatic mechanism and biochemistry for cyanide degradation: a review. **Journal of Hazardous Materials**, v.176, p.1–13, 2010.

GURBUZ, F.; CIFTCI, H.; AKCIL, A. Biodegradation of cyanide containing effluents by *Scenedesmus obliquus*. **Journal of Hazardous Materials**, v.162, p.74–79, 2009.

GURBUZ, F. et al. Microbial detoxification of cyanide solutions: a new biotechnological approach using algae. **Hydrometallurgy**, v.72, p.167–176, 2004.

HALDEN, R. U. et al. Degradation of 3-Phenoxybenzoic Acid in Soil by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* POB310(pPOB) and Two Modified *Pseudomonas* Strains. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n.8, p.3354–3359, 1999.

HAMILTON, M.A.; RUSSO. R.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science and Technology**, v.11, p. 714-718, 1977.

HAN, J. et al, Epoxide formation on the aromatic B ring of flavanone by biphenyl dioxygenase of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* KF707. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, n.9, p.5354–5361, 2005.

HARBORTH, P.; THIEME, M.; FRICKEL, K. Bioremediation of a cyanide-contaminated site using EH/PH-controlled conditions (ENA). **Advanced Materials Research**, v.71-73, p.717-720, 2009.

HOLMES, B.; DOWLING, J.; LAPAGE, S. P. Identification of Gram-negative non-fermenters and oxidase-positive fermenters by the Oxi/Ferm Tube. **Journal of Clinical Pathology**, v.32, p.78-85, 1979.

HUERTAS, M. J. Cyanide metabolism of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344: role of siderophores. **BiochemSoc Trans**, v.34, p.152–155, 2006.

HUERTAS, M. J. Alkaline cyanide degradation by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 in a batch reactor. Influence of pH. **Journal Hazard Materials**, v.179, p72–78, 2010.

HUI OIANG, L. et al. Removal of phenols, thiocyanate and ammonium from coal gasification wastewater using moving bed biofilm reactor. **Bioresource Technology**, v.102, n.7, p.4667–4673, 2011.

IBS – INSTITUTO AÇO BRASIL (antigo Instituto Brasileiro de Siderurgia), 1963. **Números de mercado: estatísticas 2013**. Disponível em: <http://acobrasil.org.br>. Acesso em: 19.Mai.14.

ICMI, INTERNATIONAL CYANIDE MANAGEMENT CODE FOR THE MANUFACTURE. **Transport and use of cyanide in the production of gold**, 2012. Disponível em: <http://www.cyanidecode.org/>. Acesso em 19.Mai.14.

IGEÑO M. I.; OROVENGUA, E.; GUILO, M. I.; MERCHÁN, F.; QUESSADA, B.; OBLASCO, R. Biodegradation of cyanide-containing wastes by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344. **Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology**, p.100-107, 2007.

INEA, INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE - **NORMA TÉCNICA NT202**: Critérios e padrões para lançamento de efluentes líquidos, 10.revisão, Rio de Janeiro, 1986.

ISMAIL, I. et al. Treatment of a synthetic solution of galvanization effluent in the conversion of sodium cyanide into an insoluble safe complex. **Journal of Hazardous Materials**, v.166, p.978-983, 2009.

JUNG, F.; CAMMAROTA, M. C.; FREIRE, D. M. G. Impact of enzymatic prehydrolysis on batch activated sludge systems dealing with oily wastewaters. **Biotechnol. Letters**, v24, p. 1797-1802, 2002.

KANG et al, Plant germination and growth after exposure to iron cyanide complexes. **Journal of Environmental Science and Health Part A**, v.43, p.627–632, 2008.

KAO, C. M. et al. Biotransformation of cyanide to methane and ammonia by *Klebsiella oxytoca*. **Chemosphere**, v.50, p.1055–1061, 2003.

KAO, C. M., et al. Enzymatic degradation of nitriles by *Klebsiella oxytoca*, **Applied Microbiol Biotechnol**, v.71, p.228–233, 2006.

KAEWKANNETRA, P.; IMAIC, T.; GARCIA-GARCIA, F.J., CHIUE, T.Y., Cyanide removal from cassava mill wastewater using *Azotobacter vinelandii* TISTR 1094 with mixed microorganisms in activated sludge treatment system. **Journal of Hazardous Materials**, v.172, p.224–228, 2009.

KELLY, R.T.; HENRIQUES, I.D.; LOVE, N.G.; Chemical inhibition of nitrification in activated sludge. **Biotechnol. Bioeng**, v.85, p.683-694, 2004.

KIM, Y.M. et al. Inhibitory effects of toxic compounds on nitrification process for cokes wastewater treatment. **Journal of Hazardous Materials**, v.152, p915–921, 2008.

KIM, Y.M. et al. Park, instability of biological nitrogen removal in a cokes wastewater treatment facility during summer. **Journal of Hazardous Materials**, v.141, p.27–32, 2007.

KIM, Y.M. et al. Effects of free cyanide on microbial communities and biological carbon and nitrogen removal performance in the industrial activated sludge process. **Water Research**, v.45, p.1267-1279, 2011.

KUBSAD, V.; GUPTA, S. K.; CHAUDHARI, S. Biodegradation of wastewater containing cyanide, acetonitrile, and acrylonitrile using rbc and shock loading study. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v.89, p.1536-1544, 2011.

KUMAR, M. S. et al. Performance evaluation of a full-scale coke oven waste water treatment plant in an integrated steel plant. **Ind. Journal Environment Health**, v.45, p.29–38, 2003.

KUNZ, D. A.; WANG, C. S.; CHEN, J. L.; Alternative routes of enzymic cyanide metabolism in *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11764. **Microbiology**, v.140, p.1705–1712, 1994.

KWON, H. K.; WOO S. H.; PARK J. M. Degradation of tetracyanonickelate (II) by *Cryptococcus humicolus* MCN2, FEMS. **Microbiology Letter**, v.214, p211–216, 2002.

LEAL, M. C. M. R. et. al. Hydrolytic enzymes as coadjuvants in the anaerobic treatment of dairy wastewater. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.19, n.2, p.175-180, 2002.

LEE, C. M.; WANG, C.C. Denitrification with epsilon-caprolactam by acclimated mixed culture and by pure culture of bacteria isolated from polyacrylonitrile fibre manufactures wastewater treatment system. **Water Scienc Technology**, v.49 p.341–348, 2004.

LEMOS, F.A.; SOBRAL, L.G.; DUTRA, A. J. B. Copper electro winning from gold plant waste streams, **Minerals Engineering**, v.19, p.388-398, 2006.

LENDENMANN, U.; SPAIN, J. C. 2-Aminophenol 1,6-Dioxygenase: a Novel Aromatic Ring Cleavage Enzyme Purified from *Pseudomonas pseudoalcaligenes* JS45. **Journal of Bacteriology**, v.178, n.21, p. 6227–6232, 1996.

LIMA-NETO, P. et al. Estudo Eletroquímico de um Novo Banho Galvânico de Zinco Alcalino Livre de Cianeto. **Química. Nova**, v.29, n.1, p.15-19, 2006.

LUQUE-ALMAGRO, V. M. et al. Flow-injection spectrophotometric determination of cyanate in bioremediation processes by use of immobilised inducible cyanase. **Anal.Bioanal.Chem**, v.377, p.1071–1078, 2003.

LUQUE-ALMAGRO, V. M. et al. Bacterial degradation of cyanide and its metal complexes under alkaline conditions. **Applied Environment Microbiology**, v.71, p.940–947, 2005.

LUQUE-ALMAGRO, V. M. et al. Alkaline cyanide biodegradation by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344. **Biochem Soc. Trans**, v.33, p.168–169, 2005.

LUQUE-ALMAGRO, V. M. et al. The cyanotrophic bacterium *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 responds to cyanide by defence mechanisms against iron deprivation, oxidative damage and nitrogen stress. **Environment Microbiology**. v.9, p.1541–1549, 2007.

LUQUE-ALMAGRO, V. M. et al, Characterization of the *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 Cyanase, an Enzyme That Is Not Essential for Cyanide Assimilation, **Environmental Microbiology**, v.74, n20, p.6280–6288, 2008.

LUQUE-ALMAGRO, V. M. et al. Cyanide degradation by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 involves amalate: quinine oxidoreductase and an associated cyanide-insensitive electron transfer chain. **Microbiology**, v.157, p.739–746, 2011.

MATTSBY-BALTZER, I, et al. Microbial Growth and Accumulation in Industrial Metal-Working Fluids. **Applied and Environmental Microbiology**, v.55, n.10, p.2681-2689, 1989.

MACHADO, C. M. et al. Estudo do comportamento reacional de cianetos no tratamento de efluentes de coqueria sob variação de parâmetros operacionais. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 27.Dez.2000, Porto Alegre.

MUDLIAR, R.; UMAREB, S. S.; RAMTEKEA, D. S.; WATEA, S.R. Energy efficient — Advanced oxidation process for treatment of cyanide containing automobile industry wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, v.164, p.1474–1479, 2009.

MUFADDAL, E.; JAMES, M. L., Cyanide catabolizing enzymes in *Trichoderma* spp, **Enzyme Microbiological Technology**, v.31, p.1042–1047, 2002.

MUDDER, T.; BOTZ, M.; SMITH, A. **The Cyanide Compendium**. 2.ed., London: Editora Mining Journal Books, 2001.

NEUMANN, G. et al. Simultaneous Degradation of Atrazine and Phenol by *Pseudomonas* spp. Strain ADP: Effects of Toxicity and Adaptation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, n.4, p.1907–1912, 2004.

NISHINO, S. F.; SPAIN, J. C. Degradation of Nitrobenzene by a *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.59, p.2520-2525, 1993.

ÖZEL, Y. K. et al. New fungal biomasses for cyanide biodegradation. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.110, n.4, p.431–435, 2010.

PARK, D.; KIM, Y. Mo.; LEE, D. S.; PARK, J. M. Chemical treatment for treating cyanides-containing effluent from biological cokes wastewater treatment process. **Chemical Engineering Journal**, v.143, p.141–146, 2008.

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

PRASAD, B.; SHUKLA, A. K.; SINGH, G., Coke plants liquid effluents: characteristics and abatment, **Indian Journal Environment Protection**, p.259-263, 1991.

POMBO, F. R.; DUTRA, A. J. B. Eletrorrecuperação de cobre e oxidação de cianeto de efluentes cianídricos diluídos gerados por unidade de galvanoplastia. **Revista Matéria**, v.13, n.3, p.418 – 428, 2008.

QUAN, Z. X.; BAE, J. W.; RHEE, S. K.; CHO, Y. G.; LEE, S. T. Toxicity and degradation of metal-complexed cyanide by a bacterial consortium under sulfate-reducing conditions.

Biotechnology Letters, v.26, p.1007–1011, 2004.

QUEISSADA, D. D. **Isolamento e seleção de microrganismos para remediação de efluente oleoso da indústria metal-mecânica**. 2009, Tese (Doutorado), USP, 2009.

QUESADA, A. Essential role of cytochrome *bd*-related oxidase in cyanide resistance of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344. **Applied and Environmental Microbiology**, v.73, n.16, p.5118–5124, 2007.

QUINTEIRA S.; FERREIRA, H.; PEIXE L. First isolation of bla VIM-2 in an environmental isolate of *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 5, p.2140–2141, 2005.

RIANI, J. C.; CARLOS, V. A. L.; SILVA, C. A. Efeito estrutura da matriz na adsorção de cianocomplexos metálicos em resinas de poliestireno, **Revista Esc. Minas**, Ouro Preto, v.57, n.2: p.115-120, 2004.

RIANI, J. C., PINA, P. S.; LEÃO, V. A. Tecnologia limpa para redução de impacto ambiental do cianeto na mineração de ouro. **Revista Esc. Minas**, Ouro Preto, v.60, n.1, p.21-28, 2007.

RIBEIRO, E. N. **Avaliação da sensibilidade dos organismos utilizados em testes de toxicidade nos efluentes das indústrias de explosivos: seleção de uma bateria de testes na busca dos organismos ideais**. 2008, Tese (Doutorado), USP, 2008.

ROCZANSKI, A. O. Recuperação da água de retenção do processo de eletrodeposição de ouro por eletrodialise. 2006, Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) Centro de Ciências Tecnológicas da Universidade Regional de Blumenau, 2006.

SHARMA, N. K.; PHILIP L.; BHALLAMUDI, S. M. Bioresource Technology Aerobic degradation of phenolics and aromatic hydrocarbons in presence of cyanide. **Bioresource Technology**, v.121, p. 263–273, 2012.

SILVA, A. L.; COSTA, R. A.; MARTINS, A. H. Cyanide Regeneration by AVR Process Using Ion Exchange Polymeric Resins. **Minerals Engineering**, v.16, p.555-557, 2003.

STAIB, C.; LANT, P. Thiocyanate degradation during activated sludge treatment of coke-ovens wastewater. **Biochem. Eng. Journey**, v.34, p.122-130, 2007.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER, DC. - **PART 4000 – Inorganic Nonmetallic Constituents, SECTION 4500- Nitrogen (Ammonia)**, 21.ed. 2005.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER, DC. **PART 5000 –Aggregate Organic Constituents, SECTION 5530 – PHENOLS**, 21.ed. 2005.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER, DC – **PART 4000, CN- Cyanide, SECTION 4500 – CYANIDE**, 21.ed. 2005.

SUENAGA H, et. al. Directed evolution of biphenyl dioxygenase: emergence of enhanced degradation capacity for benzene, toluene, and alkylbenzenes. **Journal of Bacteriology**, v.183, n.18, p.5441–5444, 2001.

TRISCARI-BARBERI, T. et. al., Genome sequence of the *Pseudomonas pseudoalcaligenes* KF707 polychlorinated-biphenyl degrader. **Journal Bacteriology**, v.194, n.16, p.4426, 2012.

WANG, C.C.; LEE, C.M. Denitrification with acrylamide by pure culture of bacteria isolated from acrylonitrile–butadiene–styrene resin manufactured wastewater treatment system. **Chemosphere**, v.44, p.1047–1053, 2001.

WANG, C. C.; LEE, C. M.; CHENG, P. W. Acrylonitrile removal from synthetic wastewater and actual industrial wastewater with high strength nitrogen using a pure bacteria culture. **Water Science Technology**, v.43, p.349–354, 2001.

WANG, C. C.; LEE, C. M.; CHEN, L. J. Removal of nitriles from synthetic wastewater by acrylonitrile utilizing bacteria. **Journal Environment Science Health Part A, Toxicology Hazard Subst Environ Eng**, v.39, p.1767–1779, 2004.

WILD, S. R.; RUDD, T.; NELLER, A. Fate and effects of cyanide during wastewater treatment processes. **Science Total Environ**. v.156, p.93-107, 1994.

XU, J. F. et al, A colorimetric and fluorometric dual-modal chemosensor for cyanide in water. **Sensors and Actuators B**, v.168, p.14– 19, 2012.

YAN, G.; WANG, J.; GUO, S.; Anaerobic biochemical treatment of wastewater containing highly concentrated organic cyanogen, **Energy Sources, Part A**, v.29, p.529–535, 2007.

YOUNG, C. A. Remediation technologies for the management of aqueous cyanide species, In: **SYMPOSIUM CYANIDE: SOCIAL, INDUSTRIAL AND ECONOMIC ASPECTS**, California, 2001, p.97-117.

ZHONGQI H.; SPAIN, J. C. Novel 2-aminomuconate deaminase in the nitrobenzene degradation pathway of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* JS45. **Journal of Bacteriology**, v.180, n.9, p.2502–2506, 1998.

ZHOU X. et al. Efficient biodegradation of cyanide and ferrocyanide by na-alginate beads immobilized with fungal cells of *Trichoderma koningii*. **Canada Journal Microbiology**, v.53, p.1033-1037, 2007.