

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA E BIOLOGIA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

CAMILA PEITZ

**REMOÇÕES DE MATÉRIA ORGÂNICA, COMPOSTOS ESPECÍFICOS,
COR E TOXICIDADE EM EFLUENTE DE CELULOSE POR REATOR
DE LEITO MÓVEL MBBR**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CURITIBA
2015

CAMILA PEITZ

**REMOÇÕES DE MATÉRIA ORGÂNICA, COMPOSTOS ESPECÍFICOS,
COR E TOXICIDADE EM EFLUENTE DE CELULOSE POR REATOR
DE LEITO MÓVEL MBBR**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2, do Curso Superior de Bacharelado em Química do Departamento Acadêmico de Química e Biologia – DAQBi – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Regina Xavier

CURITIBA
2015

CAMILA PEITZ

**REMOÇÕES DE MATÉRIA ORGÂNICA, COMPOSTOS ESPECÍFICOS,
COR E TOXICIDADE EM EFLUENTE DE CELULOSE POR REATOR
DE LEITO MÓVEL MBBR**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial à obtenção do grau de BACHAREL EM QUÍMICA pelo Departamento Acadêmico de Química e Biologia (DAQBI), do Câmpus Curitiba, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), pela seguinte banca examinadora:

Membro 1 – Profa. Dr. Wanessa Algarte Ramsdorf Nagata
Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)

Membro 2 – Prof. Dr. Marcelo Real Prado
Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)

Orientadora – Profa. Dra. Cláudia Regina Xavier
Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)

Coordenadora de Curso – Profa. Dra. Danielle Caroline Schnitzler

Curitiba, 23 de novembro de 2015.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, pela proteção e por todas as oportunidades concedidas ao longo dessa vida.

Ao meu pai, João Peitz, minha irmã, Cristina Peitz de Lima e minha mãe, Clemilda Peitz, que sempre me apoiaram, me incentivando e dando o melhor dos exemplos.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Claudia Regina Xavier, agradeço por tudo, pela paciência, pelo carinho, orientação, compreensão, confiança, pelos conhecimentos ministrados e por todo o apoio que me concedeu ao longo do tempo que fui sua orientada desde a iniciação científica.

Agradeço as amigas da UTFPR por estarem comigo nos momentos de diversão e de tensão acadêmica, meninas, muito obrigada.

Um agradecimento em especial para Raquel de Almeida Konzen, por ter me ensinado quando comecei na iniciação científica, o que me ajudou a chegar até esse momento e também para, agora mestras, Janaíne Mioduski, Thalita Copelli e Juliana Túlio pela ajuda nos meus primeiros passos na ecotoxicologia.

Aos amigos do Grupo de Pesquisa (GTEF), pela amizade, ajuda e incentivo ao longo da pesquisa: Andressa, Luiz, Osmar, Dayane, muito obrigada.

O meu agradecimento a todas as demais pessoas que contribuíram para a concretização deste trabalho, estimulando-me intelectual e emocionalmente.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná por ter dado base ao meu desenvolvimento, e ao desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

PEITZ, Camila. **Remoções de matéria orgânica, compostos específicos, cor e toxicidade em efluente de celulose por reator de leito móvel MBBR**. 2015. 57 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Departamento Acadêmico de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2015.

No PIB-industrial nacional a indústria brasileira da madeira contribuiu com cerca de 5,5 % do total em 2014, mantendo o Brasil como o 4º maior produtor de celulose do mundo. Dentre suas características, a indústria de celulose utiliza de 30 a 60 m³ de água para cada tonelada de celulose produzida, o que gera efluente. Em geral, esse efluente apresenta altas concentrações de demanda química de oxigênio (DQO), demanda biológica de oxigênio (DBO₅), cor e toxicidade. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o tratamento de efluente Kraft contendo fitoesteróis através do Reator Biológico de Leito Móvel (MBBR), remoções de matéria orgânica, compostos específicos e ecotoxicidade em *Daphnia magna*, além das relações de correspondência entre esses parâmetros. O tratamento biológico ocorreu durante 125 dias, com a adição dos fitoesteróis β-sitosterol e Estigmasterol em 2 mg.L⁻¹ de cada um no efluente de celulose Kraft. Este foi caracterizado segundo a: DBO₅, DQO, cor, compostos fenólicos totais, biomassa aderida e suspensa no reator MBBR. Os efeitos de toxicidade foram avaliados durante o tratamento biológico através de testes agudos e crônicos seguindo as normas NBR 12.713, OECD e a ASTM. A eficiência de remoção de matéria orgânica foi maior para as cargas menores (0,6 e 1,2 g.L⁻¹.d⁻¹) alcançando em média 41,63 e 93,2% de remoção de DQO e DBO₅ respectivamente. Para as maiores cargas (4,0 e 9,0 g.L⁻¹.d⁻¹) a eficiência de remoção de DQO e DBO₅ foi inferior, em média, 3%, apresentando o reator MBBR como um sistema estável. O maior valor de remoção de cor foi de 4,6%, obtido na Carga Orgânica Volumétrica 0,6 g.L⁻¹.d⁻¹. A eficiência de remoção dos compostos fenólicos foi crescente em relação às cargas aplicadas chegando a 36,2% para a carga mais alta. Sobre a biomassa aderida ao meio suporte, esta variou de 6 a 23 g.L⁻¹, quanto à biomassa em suspensão no reator sua concentração foi relativamente baixa, variando de 510 a 1230 mg.L⁻¹, com razão (Sólidos Suspensos Voláteis)/(Sólidos Suspensos Totais) próxima de 0,73. Também se verificou que o Efluente tratado não apresentou efeito de toxicidade aguda, em contrapartida, o Afluente das COV's 4,0 e 9,0 g.L⁻¹.d⁻¹ apresentaram efeito hormese, no qual em baixas concentrações houve um aumento no número de neonatos, com conseqüente decréscimo com o aumento da concentração. Com relação aos efeitos crônicos, os ensaios permitiram determinar Concentração de Efeito Observado de mais de 40% no Efluente tratado, valor superior ao Afluente que foi de 5% para as cargas mais altas. Em geral, efeitos inibidores de crescimento, reprodução e longevidade não foram observados para concentrações de até 30% do Efluente tratado por MBBR.

Palavras-chave: MBBR. Toxicidade. *Daphnia magna*. Tratamento de águas Residuárias

ABSTRACT

PEITZ, Camila. **Removal of organic matter, specific compounds, color, and toxicity in the pulp effluent by moving bed biofilm reactor MBBR.** 2015. 52 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Departamento Acadêmico de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2015.

The timber industry contributed with an average of 5.5% with the total amount of the Brazilian industrial GNP in 2014, keeping Brazil as the 4th world's largest pulp producer. Among its features, the pulp industry uses 30 to 60 m³ of water per ton of pulp produced, generating effluent as a result. In general, this effluent has high concentrations of chemical oxygen demand (COD), biological oxygen demand (BOD₅), color and toxicity. This study aimed to evaluate the treatment of a Kraft effluent containing phytosterols, through a Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR), using parameters such as removal of organic matter, specific compounds and ecotoxicity on *Daphnia magna*, in addition to correspondent banking relationships between these parameters. The biological treatment took place for 125 days, when 2 mg.L⁻¹ of β -sitosterol and stigmasterol were added to the Kraft pulp effluent. The effluent was characterized according to: BOD₅, COD, color, phenolic compounds, attached and suspended biomass in the MBBR reactor. The acute and chronic toxicity were evaluated using NBR 12713, OECD and ASTM standard methods, during the biological treatment. The organic matter removal efficiency was higher for smaller loads (0.6 and 1.2 g_{COD}.L⁻¹.d⁻¹) reaching an average of 41.63% and 93.2% removal of COD and BOD₅ respectively. For larger loads (4.0 and 9.0 g_{COD}.L⁻¹.d⁻¹) the COD and BOD₅ removal rates were lower, reaching an average of 3%, showing that the MBBR reactor is a stable system. The greater color removal amount was 4.6% obtained on OLR 0.6 g_{COD}.L⁻¹.d⁻¹. The efficiency of removal of phenolic compounds was increased in relation to applied loads reaching 36.2% for the highest load. On attached biomass to the media support, this ranged 6 to 23 g.L⁻¹, as the biomass suspended in the reactor concentration was relatively low, ranging 510-1230 mg.L⁻¹, with reason VSS/TSS 0.73. It was also found that the treated effluent showed no effect of acute toxicity, as a counterpart, the tributary of OLR 4.0 and 9.0 g_{COD}.L⁻¹.d⁻¹ showed hormesis effect, in which at low concentrations there was an increase in the number neonates with consequent decrease with increasing concentration. Regarding the chronic effects, the tests allowed to determine OEC of over 40% in the treated effluent, higher than influent which was 5% for the highest loads. In general, inhibitory effects of growth, reproduction and longevity were not observed at concentrations up to 30% of effluent treated by MBBR.

Keywords: MBBR. Toxicity. *Daphnia magna*. Wastewater Treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema do processo de celulose Kraft.....	14
Figura 2 - Principais fitoesteróis encontrados em efluentes de celulose Kraft.....	16
Figura 3 - Esquema de funcionamento do reator MBBR.....	17
Figura 4 - Diluições feitas para teste de ecotoxicidade aguda.....	30
Figura 5 - Medida do comprimento total de <i>Daphnia magna</i>	32
Figura 6 - Remoção de DQO (—●—) e COV (—■—).....	35
Figura 7 - Remoção de DBO ₅ (—●—) e COV (—■—).....	36
Figura 8 - Remoção de Cor (—●—) e COV (—■—).....	37
Figura 9 - Remoção de compostos fenólicos totais (CFT) (—●—) e COV (—■—).....	37
Figura 10 - Remoções obtidas no MBBR tratando efluente de celulose Kraft.....	38
Figura 11 - a) Sólidos Aderidos e b) Suspensos do Reator MBBR.....	40
Figura 12 - Média de reprodução de <i>D. magna</i> em Afluente e Efluente Kraft em todas as COV's.....	41
Figura 13 - Média de crescimento de <i>D. magna</i> em Afluente e Efluente Kraft em todas as COV's.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Aplicações do reator MBBR para o tratamento de efluentes.	20
Tabela 2 - Configurações geométricas dos principais meios suporte usados no reator MBBR.....	21
Tabela 3 - Parâmetros de operação e frequência analítica.	28
Tabela 4 - Estágios de Operação do Reator MBBR.	28
Tabela 5 - Caracterização do efluente de celulose Kraft.	34
Tabela 6 - Estágios de Operação do Reator MBBR, Tempo de Operação e TDH. ..	35
Tabela 7 - Comportamento durante o tratamento por MBBR	39
Tabela 8 - Valores do Fator de Toxicidade (FT), CENO e CEO para reprodução em efluente Kraft tratado por reator MBBR.	42
Tabela 9 - Número de mortes dos organismos-teste nos testes crônicos.	44
Tabela 10 – Caracterização do efluente Kraft antes do tratamento por reator MBBR	45

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- ASTM** – American Society for Testing and Materials
- CE₅₀** – Concentração de Efetiva média para 50% da população
- CENO** – Concentração de Efeito Não Observado
- CEO** – Concentração de Efeito Observado
- CFT** – Compostos Fenólicos Totais
- COV** – Carga Orgânica Volumétrica
- DBO₅** – Demanda Bioquímica de Oxigênio medida após cinco dias
- DQO** – Demanda Química de Oxigênio
- FT** – Fator de Toxicidade
- LATAR** – Laboratório de Tratamento de Águas Residuárias
- MBBR** - Reator Biológico de Leito Móvel (Moving Bed Biofilm Reactor)
- OECD** – Organization for Economic Co-operation and Development
- pH** – Potencial Hidrogeniônico
- SS** – Sólidos Suspensos
- SST** – Sólidos Suspensos Totais
- SSV** – Sólidos Suspensos Voláteis
- TDH** – Tempo Detenção Hidráulico
- U.S. EPA** – United States Environmental Protection Agency
- VIS₄₄₀** – Comprimento de onda visível – 440 nm – medida de cor

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 OBJETIVO GERAL	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1 INDÚSTRIA DE CELULOSE E PAPEL NO BRASIL	13
3.2 CARACTERÍSTICAS DA MADEIRA E PROCESSO DA CELULOSE KRAFT	13
3.2.1 Característica da madeira	13
3.2.2 Processo de obtenção da celulose Kraft	14
3.3 EFLUENTE GERADO NA INDÚSTRIA DE CELULOSE KRAFT	15
3.3.1 Características do efluente de celulose Kraft	15
3.3.2 Processos empregados para o tratamento do efluente de celulose	16
3.4 REATOR BIOLÓGICO DE LEITO MÓVEL (MBBR)	17
3.4.1 Aplicações do MBBR	19
3.4.2 Meios suportes utilizados em sistemas MBBR	20
3.4.3 Formação de biofilme nos meios suportes	22
3.5 TESTES DE TOXICIDADE	22
3.5.1 Organismo-teste <i>Daphnia magna</i> em efluente de celulose Kraft	24
4 METODOLOGIA	26
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE DE CELULOSE KRAFT	26
4.1.1 Coleta e conservação do efluente de celulose Kraft	26
4.1.2 Demanda química de oxigênio (DQO)	26
4.1.3 Demanda bioquímica de oxigênio (DBO ₅)	26
4.1.4 Compostos fenólicos totais (CFT)	27
4.1.5 Cor	27
4.1.6 Caracterização da biomassa aderida e suspensa no reator MBBR	27
4.2 TRATAMENTO DO EFLUENTE DE CELULOSE KRAFT E OPERAÇÃO DO REATOR MBBR	28
4.2.1 Operação do reator MBBR	28
4.3 ECOTOXICIDADE	29
4.4 RELAÇÕES E CORRELAÇÃO DE PEARSON DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E ECOTOXICOLÓGICOS	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE DE CELULOSE KRAFT	34
5.2 OPERAÇÃO DO REATOR MBBR	34

5.2.1 Remoção de matéria orgânica	35
5.2.2 Remoção de compostos específicos	36
5.2.3 Análise de remoções	38
5.2.4 Análise da biomassa aderida e suspensa no reator MBBR.....	39
5.3 ECOTOXICIDADE.....	40
5.4 RELAÇÕES E CORRELAÇÃO DE PEARSON DOS PARÂMETROS FÍSICO- QUÍMICOS E ECOTOXICOLÓGICOS	44
6 CONCLUSÕES	47
REFERÊNCIAS.....	49
ANEXO A	57
ANEXO B	58
ANEXO C	59

1 INTRODUÇÃO

No PIB-industrial nacional a indústria brasileira da madeira contribuiu com 60,6 bilhões de reais, cerca de 5,5 % do total em 2014. Esse ramo da indústria compõe o segmento de papéis de madeira, pisos laminados, celulose, papel, etc. As exportações somaram cerca de 8,4 bilhões de dólares, o equivalente a 3,8% das exportações nacionais, sendo que esse ramo da indústria projeta investimentos de cerca de 53 bilhões de dólares até 2020 para o setor. Com uma área plantada de cerca de 7,74 milhões de hectares, 34% são destinados a indústria de papel e celulose (IBÁ a, 2015).

Dentre as características das indústrias de celulose, tem-se o alto consumo de água em seus processos. Onde, em média, são consumidos entre 30 a 60 m³ de água por tonelada de celulose produzida, o que conseqüentemente acaba por gerar grandes volumes de efluentes (BACHMANN, 2009; BUYUKKAMACI; KOKEN, 2010; DEL GRANDE, 2004).

Em geral, o efluente é abundante em matéria orgânica oriunda das altas concentrações de demanda química de oxigênio (DQO) e demanda biológica de oxigênio (DBO₅), além de apresentar alto teor de sólidos suspensos (SS), resinas ácidas, lignina, cor e toxicidade (ARAÚJO; TAVARES; COSSICH, 2010; KREETACHAT *et al.*, 2007).

Para o tratamento de efluentes industriais, as técnicas desenvolvidas têm como objetivo a remoção de matéria orgânica, cor e toxicidade. Para tanto, tratamentos biológicos com sistemas de aeração, como lodos ativados e reatores de leito móvel (MBBR), são os mais utilizados para este fim, sendo eficientes para as remoções de matéria orgânica e toxicidade (XAVIER *et al.*, 2011; FURLEY; LOMBARDI; GOMES, 2015; KAMALI; KHODAPARAST, 2015).

Com a evolução da indústria esses sistemas de tratamento também evoluíram, assim, o desenvolvimento do Reator Biológico com Leito Móvel, MBBR - sigla que expressa o termo inglês: *Moving Bed Biofilm Reactor* - é proporcional a um sistema de fluxo contínuo que faz uso de meios suporte para disponibilizar superfície de adesão para a biomassa microbiana. Os meios-suporte são mantidos em circulação pelo reator com auxílio de um misturador ou de um sistema de aeração, para manter contato em toda a massa líquida (MINEGATTI, 2008).

Após o tratamento do efluente, torna-se essencial o monitoramento deste, visando sua correta destinação para preservação do meio ambiente, para isso são necessários, além das análises físico-químicas, testes ecotoxicológicos (SAAR, 2002).

Testes ecotoxicológicos são ferramentas úteis para avaliar a qualidade de cargas de efluentes, uma vez que somente as análises físico-químicas tradicionalmente realizadas (DQO, DBO₅, etc.) não são capazes de distinguir, entre as substâncias, quais afetam os ecossistemas dos corpos receptores (RONCO; BÁEZ; GRANADOS, 2004). Estes testes são realizados sob condições experimentais específicas e controladas, sendo utilizados para estimar a toxicidade de substâncias, efluentes industriais e amostras ambientais (águas ou sedimentos). Nesses ensaios, os organismos-testes são expostos a diferentes concentrações da amostra e os efeitos tóxicos produzidos sobre eles são observados e avaliados (DORNFELD, 2002; PARANÁ, 2010; RONCO; BÁEZ; GRANADOS, 2004).

Na literatura existem vários trabalhos sobre a toxicidade de efluente de indústria de celulose, empregando fungos, bactérias, microcrustáceos e diferentes espécies de peixes para avaliar genotoxicidade e toxicidade aguda e crônica. O tratamento destes efluentes por processos físico-químicos, biológicos ou avançados pode diminuir a toxicidade parcial ou completamente (GRÖTZNER, 2014).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficiência de tratamento de efluente de celulose Kraft por reator MBBR na presença de fitoesteróis, com diferentes cargas orgânicas volumétricas (COV), através da remoção de matéria orgânica (DQO e DBO₅), compostos fenólicos, cor e toxicidade.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o efluente quanto a: DQO e DBO₅, cor, sólidos suspensos totais e sólidos suspensos voláteis, compostos fenólicos totais e toxicidade inicial do efluente;
- Montar um reator MBBR em escala de bancada para realização do tratamento biológico e definir condições ótimas de controle: carga orgânica volumétrica (COV), tempo de detenção hidráulico (TDH), pH, sólidos suspensos e sólidos aderidos;
- Avaliar parâmetros de eficiência do reator MBBR na presença de fitoesteróis, como remoção de: DBO₅ e DQO, cor, compostos fenólicos totais e toxicidade aguda e crônica em *D. magna*;
- Avaliar relações de correspondência entre parâmetros físico-químicos e ecotoxicológicos medidos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 INDÚSTRIA DE CELULOSE E PAPEL NO BRASIL

No ramo da celulose e papel o Brasil é o quarto produtor mundial, com mais de 14 milhões de toneladas produzidas por ano (IBÁ a, 2015). O Brasil, apesar de deter uma pequena parte da área de plantios de árvores do mundo, contribui anualmente com 17% de toda a madeira colhida, em decorrência da alta produtividade dos plantios de árvores no país (IBÁ, 2014).

Com uma área plantada no Brasil de quase 8 milhões de hectares em 2014, o plantio de árvores de eucalipto e pinus representam mais de 98% do volume produzido, sendo 34% destinados a indústria de papel e celulose (IBÁ a, 2015).

O setor da produção de celulose apresentou um crescimento de 8,8% entre 2013 e 2014, sendo quase 65% desse volume voltado para exportação (IBÁ b, 2015).

3.2 CARACTERÍSTICAS DA MADEIRA E PROCESSO DA CELULOSE KRAFT

3.2.1 Característica da madeira

A fabricação de celulose e papel hoje tem como principal matéria-prima as fibras vegetais. A fonte de fibras mais utilizada para compor a pasta celulósica é a madeira (GAUTO; ROSA, 2013). A madeira é composta por celulose (~40%), hemicelulose (20 a 30%) e lignina (entre 19 e 35%) (DIEZ *et al.*, 2002; TUOMELA *et al.*, 2000). Além destes, há a presença de diversos compostos orgânicos que podem ser extraídos, tais como: terpenos, fenóis polares, ácidos graxos, ácidos resínicos e fitoesteróis, os chamados extrativos da madeira (XAVIER *et al.*, 2011).

Para a produção de celulose, se retiram os demais componentes da madeira por processos mecânicos, químicos, termomecânicos ou mesmo

quimiotermomecânicos (AVSAR; DEMIRER, 2008). Dentre estes, muitas indústrias empregam o processo químico denominado Kraft.

3.2.2 Processo de obtenção da celulose Kraft

O processo Kraft é o mais largamente utilizado para a obtenção de celulose, representando mais de 90% da celulose obtida no Brasil. A polpação Kraft consiste em atuar na madeira, em forma de cavacos, com o licor branco (NaOH e Na₂S) para obter a dissolução da lignina e a liberação das fibras (GAUTO; ROSA, 2013). Esse processo se dá nas etapas descritas na Figura 1.

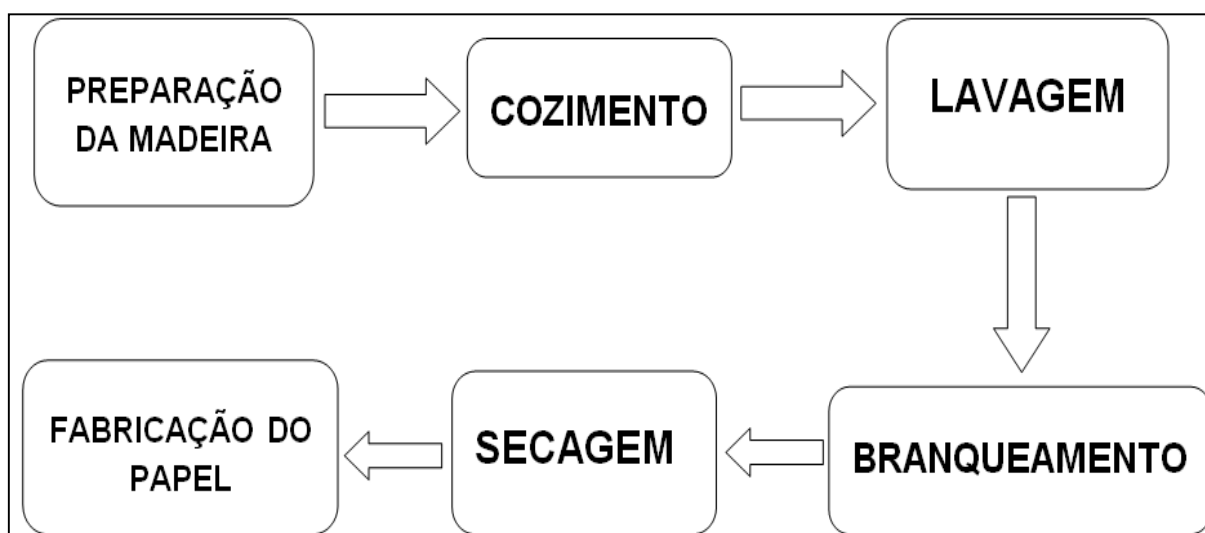


Figura 1 - Esquema do processo de celulose Kraft.

Fonte: Adaptado de GAUTO e ROSA (2013).

Segundo Gauto e Rosa (2013), a polpação Kraft tem suas etapas caracterizadas a seguir.

Na preparação da madeira ocorre o descascamento das toras recebidas, ocorre também a lavagem, as toras passam pelo picador para serem transformadas em cavacos (pequenos pedaços de madeira), aumentando assim a superfície de contato na hora do cozimento.

O cozimento é a etapa na qual os cavacos são sujeitos ao licor branco e vapor d'água dentro de digestores industriais, para dissociar a lignina entre as fibras da madeira. É nessa etapa que se produz um subproduto denominado licor negro

usado para gerar energia na fábrica e geração do licor verde (mistura de licor branco fraco com os sais provenientes da queima do licor negro).

Na etapa de branqueamento a polpa obtida do cozimento é tratada por agentes branqueadores, que variam de acordo com o grau de branqueamento desejado.

Ao final do branqueamento, a celulose diluída em água passa pela secagem, que consiste de etapas em prensas e trocadores de calor para retirar a água presente e, assim, obter a celulose branqueada em fardos, finalizando a produção da celulose. A partir disso, ocorre a fabricação do papel propriamente dito.

3.3 EFLUENTE GERADO NA INDÚSTRIA DE CELULOSE KRAFT

Dentre as características das indústrias de celulose tem-se o alto consumo de água em seus processos, onde em média são consumidos entre 30 a 60 m³ de água por tonelada de celulose produzida, o que conseqüentemente acaba por gerar grandes volumes de efluentes (BACHMANN, 2009; BUYUKKAMACI; KOKEN, 2010; DEL GRANDE, 2004).

3.3.1 Características do efluente de celulose Kraft

Em geral, o efluente de celulose Kraft apresenta altas concentrações de demanda química de oxigênio (DQO), demanda biológica de oxigênio (DBO₅), sólidos suspensos (SS), resinas ácidas, ligninas, enxofre, cor e toxicidade.

A DBO₅ se origina de compostos facilmente biodegradáveis, tais como carboidratos e ácidos orgânicos. A cor e a toxicidade resultam da presença de compostos lignínicos e seus derivados fenólicos de alto peso molecular (KHANSORTHONG; HUNSOM, 2009; KREETACHAT *et al.*, 2007; XAVIER, 2006).

No caso de efluentes originados na etapa de branqueamento, a toxicidade também pode ser atribuída aos compostos fenólicos clorados (KHANSORTHONG; HUNSOM, 2009; KREETACHAT *et al.*, 2007; XAVIER, 2006).

Dentre os compostos encontrados nesse tipo de efluente, também se encontram os fitoesteróis: β -sitoesterol e estigmasterol (Figura 2) em concentrações que vão de 0,3 a 3,2 mg·L⁻¹, sendo o componente majoritário, β -sitoesterol, que corresponde a cerca de 60% do total de fitoesteróis (ORREGO *et al.*, 2010).

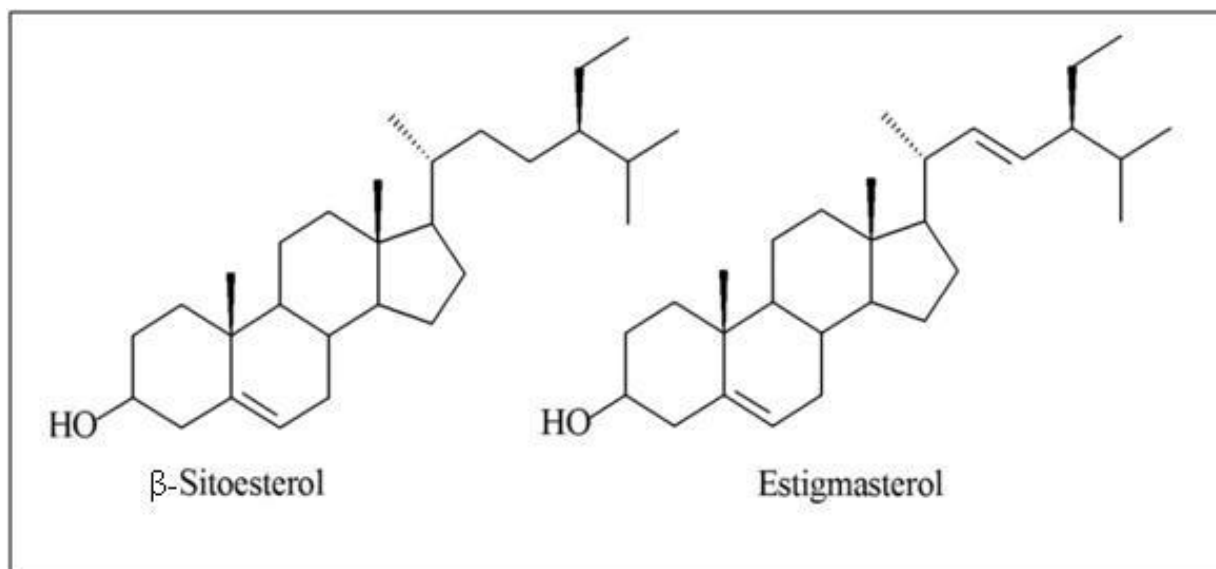


Figura 2 - Principais fitoesteróis encontrados em efluentes de celulose Kraft.
Fonte (ORREGO *et al.*, 2010).

3.3.2 Processos empregados para o tratamento do efluente de celulose

Os sistemas de tratamento de efluentes mais utilizados na indústria de celulose são os sistemas biológicos. As tecnologias de tratamento empregadas visam à remoção da matéria orgânica, da cor e da toxicidade presentes no efluente. Sistemas de tratamento aeróbico são eficazes na redução da matéria orgânica como DQO e DBO₅, no entanto, apresentam baixa eficiência na remoção da cor (XAVIER *et al.*, 2011).

Os sistemas aeróbios evoluíram com o desenvolvimento dos sistemas de lodos ativados e filtros biológicos. Muitas inovações vêm sendo propostas ao longo dos anos a fim de aperfeiçoar estes processos, reduzindo gastos com energia e consumo de oxigênio. Uma das maiores contribuições para essa evolução foi o desenvolvimento de processos que utilizam biofilmes suportados em materiais inertes, como o Reator Biológico de Leito Móvel (MBBR) (MINEGATTI, 2008).

3.4 REATOR BIOLÓGICO DE LEITO MÓVEL (MBBR)

O MBBR foi desenvolvido na Noruega entre o final dos anos 80 e início dos anos 90, se tornando uma tecnologia comercialmente promissora, haja vista a instalação de mais de 400 plantas de grande escala presentes no mundo, que empregam esta tecnologia (RUSTEN *et al.*, 2006; VANZETTO, 2012).

O desenvolvimento do reator MBBR esteve relacionado à ideia de agregar, em um único sistema, as melhores características dos tratamentos de lodo ativado e com biofilmes (biofiltros), deixando de lado as características indesejáveis de cada processo. Neste tipo de reator, a biomassa cresce aderida aos suportes inertes, que se movem livremente no volume do reator com o auxílio de um aerador ou rotador (RUSTEN *et al.*, 2006).

O reator MBBR, esquematizado na Figura 3, mantém em suspensão no interior do reator biológico os meios suportes plásticos com densidade inferior a da água, que sujeitos à agitação promovida pelo sistema de aeração ou pelo misturador, apresentam mobilidade elevada e, conseqüentemente, maior exposição e contato com a massa líquida em suspensão no reator. Consiste, portanto, em um reator biológico híbrido, no qual organismos decompositores são mantidos tanto em suspensão na massa líquida, como também aderidos aos meios de suporte (MINEGATTI, 2008).

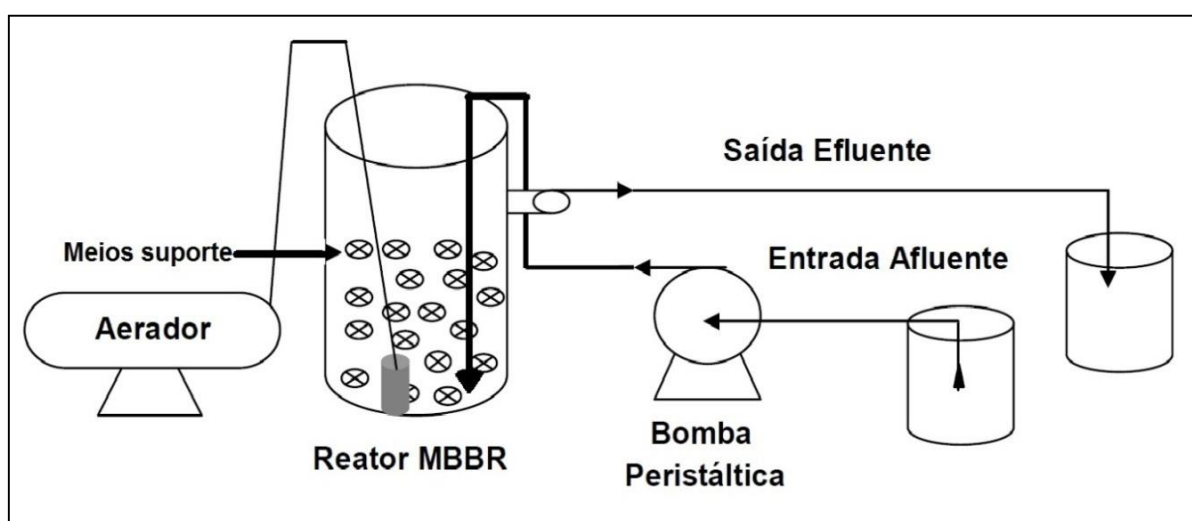


Figura 3 - Esquema de funcionamento do reator MBBR.
Fonte: Adaptado de VANZETTO, 2012.

Conseqüentemente, em um mesmo volume de reator biológico é possível manter maior quantidade de biomassa e assim aportar maior quantidade de substrato para biodegradação, o que implica em maior carga orgânica volumétrica (COV) e redução do tempo de detenção hidráulico (TDH) (MINEGATTI, 2008).

Na literatura, vários autores têm relatado diversas vantagens referentes ao sistema MBBR (ØDEGAARD, 2006; RUSTEN *et al.*, 2006; SALVETTI *et al.*, 2006; CHEN; SUN; CHUNG, 2007; AYGUN; NAS; BERKTAY, 2008; JAHREN; RINTALA; ØDEGAARD, 2002; SCHNEIDER, 2010; FUJII, 2011; WATER ENVIRONMENT FEDERATION, 2011), como:

- o volume útil do reator é eficientemente utilizado para o crescimento do consórcio microbiano;
- elevada área interfacial entre biofilme e os substratos;
- boa resistência a choques de carga;
- flexibilidade de operação;
- a planta de tratamento requer menos espaço comparado a outros sistemas de tratamento biológico;
- a eficiência do tratamento é pouco dependente das características de separação do lodo, pois a concentração de biomassa a ser separada é pelo menos 10 vezes menor do que a de sistemas convencionais;
- o reciclo de lodo não é necessário para manter a alta concentração de biomassa no reator;
- não depende da unidade de separação de sólidos, porque a maioria da biomassa ativa é retida continuamente no reator;
- estabilidade operacional.

Entretanto, o reator MBBR apresenta desvantagens como os custos operacionais relativamente altos em relação ao consumo de energia. Além disso, é necessária a utilização de dispositivos de aeração que sejam adequados, impedindo o aparecimento de zonas estagnadas dentro do reator, devido à má movimentação dos suportes móveis (SCHNEIDER, 2010).

3.4.1 Aplicações do MBBR

O tratamento biológico por reator MBBR é utilizado para o tratamento de diferentes efluentes industriais. Em geral, seu uso tem por objetivo o aperfeiçoamento de unidades de tratamentos biológicos já existentes como lodos ativados, também sendo aplicável como forma de modificar o tratamento sem drásticas mudanças em estruturas já existentes (RUSTEN *et al.*, 2006; MINEGATTI, 2008; WATER ENVIRONMENT FEDERATION, 2011).

Um exemplo são estações de tratamento que apresentam sistemas de lodo ativado sendo complementados com os reatores MBBR's, podendo também ser combinados com tratamentos físico-químicos (RUSTEN *et al.*, 2006; MINEGATTI, 2008; WATER ENVIRONMENT FEDERATION, 2011).

Há também indicações para que este sistema seja utilizado como pré-tratamento para aumentar a remoção de carbono orgânico e nutrientes (RUSTEN *et al.*, 2006; BORKAR; GULHANE; KOTANGALE, 2012).

Segundo Reis (2007), a tecnologia MBBR tem sido amplamente aplicada em tratamentos de efluentes para remoção de matéria orgânica (DQO, DBO₅) e nitrogenada, tanto nas etapas de nitrificação como de desnitrificação.

Na literatura, existem vários trabalhos utilizando o sistema MBBR, envolvendo tratamento biológico de diferentes efluentes industriais e alguns destes estão apresentados a seguir na Tabela 1. Nestes trabalhos podem ser verificadas remoções significativas nos parâmetros físico-químicos.

Tabela 1 - Aplicações do reator MBBR para o tratamento de efluentes.

Sistema	Efluente	Objetivo	Condições operacionais			Eficiência de Remoção
			TDH (h)	Tipo de Suporte	V_s/V_R	
MBBR	Indústria de Papel	Remoção de DQO	13-22	K1	0,58	60-65%
2 MBBR em série	Doméstico Sintético	Remoção de DQO e Nitrificação	1,95-4,18	AMB	0,4-0,5	DQO: 81-91% N-NH: 90%
MBBR	Doméstico Sintético	Remoção de DQO	8	K1	0,5	45-95%
MBBR	Indústria de Borracha Sintética	Nitrificação	12 e 24	AMB	0,4	90%
MBBR	Indústria de Celulose Kraft	Remoção de DQO e DBO_5	12 e 36	K3	-	DQO: 50% DBO: 88%
MBBR	Indústria de Celulose Kraft	Remoção de DQO e DBO_5	4 e 85	Natrix C2	-	52-98%
MBBR	Refinaria de petróleo	Remoção de DQO	-	-	0,55	90%
MBBR A2O	Têxtil	Remoção de DQO e Cor	44	-	0,2	DQO: 86% Cor: 50%

Fonte: Adaptado de VANZETTO (2012) e ZILLI (2013).

O reator MBBR tem sido visto como uma das tecnologias mais eficientes para o tratamento de efluentes, uma vez que, como mostrado na Tabela 1, há diversas configurações de meios suportes usados para o reator MBBR. Para a escolha do meio suporte considera-se, em geral, a área superficial específica, pois relaciona a quantidade de meio suporte presente no reator à quantidade potencial de biomassa aderida (REIS, 2007; MINEGATTI, 2008; PARK *et al.*, 2010).

3.4.2 Meios suportes utilizados em sistemas MBBR

Um dos principais parâmetros no desenvolvimento e aplicação do reator MBBR é a seleção do meio suporte empregado, para sua escolha considera-se, dentre suas características, a área superficial específica, a qual é definida como a razão entre a área do meio suporte e o volume por ele ocupado. Este é um parâmetro característico do reator MBBR, pois relaciona a quantidade de meios suportes presentes à quantidade de biomassa aderida (MINEGATTI, 2008).

Os meios suportes utilizados no reator MBBR são fabricados, geralmente, em polietileno de alta densidade ou polipropileno e possuem elevada área superficial (RODGERS; ZHAN, 2003). Devido a densidade dos meios suportes e a da água

serem próximas, os meios suportes possuem fácil agitação e em condições em que não está em movimentação, estes flutuam (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

Para a escolha dos meios suportes deve-se almejar a melhor adesão dos microrganismos, tendo alta resistência mecânica e baixo custo. Propriedades como área superficial, porosidade, rugosidade, diâmetro de partícula e densidade afetam a dinâmica de adesão dos microrganismos (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2010).

Outro importante parâmetro para o reator MBBR é a quantidade de meios suportes disponíveis para o desenvolvimento do biofilme. Em geral, a quantidade a ser adicionada ao reator é tida através de um percentual do seu volume. É recomendada uma razão entre o volume de meio suporte e o volume do reator, na faixa de 25 a 70%, no entanto, são geralmente empregadas razões de preenchimento entre 50 - 65% (FUJII, 2011; VANHAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

Segundo Fujii (2011), a adição dos meios suportes pode ser realizada gradativamente, possibilitando a correção de eventuais erros no funcionamento do reator MBBR, também permitindo o aumento nas razões de preenchimento com um aumento na carga (FUJII, 2011). Na Tabela 2 estão descritos diferentes tipos de meio suporte utilizados no processo MBBR.

Tabela 2 - Configurações geométricas dos principais meios suporte usados no reator MBBR.

Meio Suporte	Diâmetro (mm)	Área Específica (m².m⁻³)
Kaldness (K1)	9,10	500
Kaldness (K2)	15	350
Kaldness (K3)	25	500
AMB	10	850
Ambio	14	-
Biofilm Chip	48	1200

Como se pode perceber existem diferentes configurações de meio suporte, as quais resultam em diferentes áreas de contato e por sua vez podem ainda apresentar maior ou menor potencial para aderência da biomassa (PARK *et al.*, 2010).

3.4.3 Formação de biofilme nos meios suportes

Segundo Rezende (2011), a biomassa presente em reatores biológicos aeróbios é constituída essencialmente por bactérias, fungos, metazoários e protozoários. Estes se desenvolvem através da matéria do efluente, sendo as bactérias heterotróficas as responsáveis pela degradação da matéria orgânica biodegradável. É nesses sistemas biológicos que as bactérias crescem e se acumulam na forma de biofilme nos meios suporte, formando um consórcio microbiano (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2010; DIAS, 2011; REZENDE, 2011).

Durante o crescimento desse biofilme pode ocorrer a estratificação da microbiota, o que favorece a distribuição das bactérias com crescimento mais acelerado nas camadas superiores da biomassa aderida, onde o substrato é abundante (BOTROUS; DAHAB; MIHÁLTZ, 2004; DIAS, 2011).

Segundo Fujii (2011), o crescimento do biofilme pode ser influenciado por diversos fatores, dentre eles, concentração de substrato, temperatura, disponibilidade de nutrientes, pH, idade do lodo, etc. Segundo Minegatti (2008), para o reator MBBR, a espessura do biofilme formado varia de 0,10 mm a 1,00 mm, sendo o menor valor dito como o mais comum.

3.5 TESTES DE TOXICIDADE

Testes de toxicidade são definidos como procedimentos nos quais as respostas de organismos-teste são utilizadas para avaliar a qualidade de cargas de efluentes e outras substâncias. Estes testes são realizados sob condições experimentais específicas e controladas, sendo estes utilizados para estimar a toxicidade de substâncias, efluentes industriais e amostras ambientais (águas ou sedimentos). Nesses ensaios, os organismos-testes são expostos a diferentes concentrações da amostra e os efeitos tóxicos produzidos sobre eles são observados e avaliados através de testes de toxicidade aguda e, se necessário, crônica (DORNFELD, 2002; RONCO; BÁEZ; GRANADOS, 2004; PARANÁ, 2010).

Os testes de toxicidade aguda têm por objetivo fornecer a relação entre a dose e a resposta com relação ao agente tóxico (efluentes, compostos químicos, etc.). Essa informação pode ser expressa pelo Fator de Toxicidade (FT), onde esta unidade que representa quantas vezes seria necessário diluir o efluente antes do corpo receptor para que ele deixe de ser tóxico para os organismos. Quanto mais alto for este valor, mais elevada será a toxicidade da amostra (U.S. EPA, 2002; AREZON; PEREIRA NETO; GERBER, 2008; OECD, 2012).

Porém, apenas o resultado negativo de toxicidade aguda não exclui a possibilidade de ocorrer um efeito crônico da amostra para o meio e seus organismos. Respostas a concentrações mais elevadas do agente tóxico em questão ocorrem em testes agudos, e respostas em concentrações inferiores ocorrem em testes crônicos (U.S. EPA, 2002). Normalmente são realizados os ensaios de toxicidade aguda e, caso esta não ocorra na amostra, realizam-se então os ensaios de toxicidade crônica (ASTM, 1988). Isso deve ser considerado, pois, dentro da variabilidade do efluente, um resultado negativo de uma amostra não exclui a possibilidade de outras amostras apresentarem efeito agudo ou crônico quando analisadas em outro período, no qual suas características podem sofrer alterações, devido a complexidade de certos efluentes.

Ensaio de toxicidade crônica expõem os organismos-teste a amostras de efluentes em um intervalo de tempo significativo ao seu ciclo de vida (em geral, englobam 2/3 da vida do organismo). Neles, são avaliados efeitos mais sutis, como alteração sobre a reprodução e o crescimento, além da morte dos organismos expostos, mesmo que ocorra de forma mais lenta (AREZON; PEREIRA NETO; GERBER, 2008; OECD, 2012).

Os resultados dos testes de toxicidade crônica são expressos em Concentração de Efeito Não Observado - CENO, sendo esta a mais alta concentração do agente testada que não provoca efeito quando comparada com o controle; e em Concentração de Efeito Observado - CEO, a mais baixa concentração que causa efeito significativo sobre a população quando comparada ao controle (RAND, 1995).

Ainda dentro das repostas dos organismos-teste, tem-se o efeito hormese. Esse efeito já é descrito desde década de 90, em que diversas pesquisas relataram sua ocorrência. Segundo Calabrese (2010), esse efeito consiste em uma resposta binária, na qual, em baixas concentrações ocorrem respostas opostas a altas

concentrações, é generalista e tem sido observada independentemente do agente químico, físico ou biológico mensurado.

Os testes de toxicidade não substituem as análises físico-químicas tradicionais (DQO, DBO₅, etc), elas se complementam, pois, enquanto os testes identificam os efeitos nos organismos, as análises físico-químicas quantificam e identificam possíveis substâncias tóxicas (COSTA *et al.*, 2008).

3.5.1 Organismo-teste *Daphnia magna* em efluente de celulose Kraft

Organismos-teste como a *Daphnia magna* têm sido amplamente representativos na avaliação de toxicidade de produtos químicos ou derivados como efluentes (ASTM, 1988; KNIE; LOPES, 2004). A *Daphnia magna* é internacionalmente reconhecida como organismo-teste e vem sendo utilizada há décadas em laboratórios ecotoxicológicos, por apresentar curto tempo de vida e de reprodução, o que permite seu uso tanto para testes agudos como crônicos, além de mostrar expressiva sensibilidade em uma metodologia simples de ser aplicada. Seus descendentes são geneticamente idênticos, o que assegura a uniformidade de respostas nos ensaios por sua estabilidade genética, sendo esta espécie adequada para testes estáticos, semiestáticos ou de fluxo contínuo (U.S. EPA, 2002; KNIE; LOPES, 2004).

Além dos contaminantes conhecidos citados anteriormente, o efluente de celulose Kraft também apresenta toxicidade. Tratamentos aplicados a estes efluentes permitem diminuir seus efeitos (MUNA ALI; SREEKRISHNAN, 2001; FURLEY, 2009).

Considerando que apenas análises físico-químicas não são suficientes para avaliar, caracterizar e distinguir quais são as substâncias potencialmente tóxicas nos efluentes quando lançados nos corpos receptores, testes de toxicidade são necessários para esse tipo de avaliação (AREZON; PEREIRA NETO; GERBER, 2008).

No Brasil, as resoluções 357/05 e 430/11 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (BRASIL, 2005; BRASIL, 2011) definem o enquadramento e os padrões para lançamento de efluentes em corpos hídricos. De acordo com estas resoluções,

não deve ser constatado efeito de toxicidade nos efluentes para os organismos aquáticos e ao corpo receptor. Em âmbito estadual, tem-se no Paraná a resolução do Conselho Estadual do Meio Ambiente (CEMA) nº 081/10. Esta legislação dispõe sobre critérios e padrões de ecotoxicidade para o controle de efluentes lançados em corpos d'água no estado do Paraná. Para o lançamento deverão ser analisados o Fator de Toxicidade (FT) dos efluentes e as características dos corpos hídricos receptores. Para efluentes de papel e celulose, o FT atualmente é de 4, por já ser ultrapassado o quarto ano de publicação da Resolução 081/10. A partir do oitavo ano de publicação (2018), o limite do FT será de 2, evidenciando a importância no controle da toxicidade deste efluente por parte das indústrias produtoras (PARANÁ, 2010).

4 METODOLOGIA

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE DE CELULOSE KRAFT

4.1.1 Coleta e conservação do efluente de celulose Kraft

O efluente utilizado para o tratamento com reator MBBR foi gentilmente cedido por uma indústria de celulose Kraft da região de Curitiba, três amostras foram coletadas no período de 4 meses, tendo sido coletados antes do tratamento biológico. Após coleta, este foi armazenado ao abrigo da luz e mantido a 4°C em galões de 30L.

4.1.2 Demanda química de oxigênio (DQO)

As análises de DQO do Afluente e Efluente foram realizadas através do método de refluxo fechado colorimétrico e leitura da absorbância em espectrofotômetro em comprimento de onda de 600 nm, adaptado do método 5220B (APHA, 2005).

4.1.3 Demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅)

As análises de DBO₅ foram realizadas por método de incubação de 5 (cinco) dias a 20°C, por diluições das amostras do efluente (APHA, 2005).

4.1.4 Compostos fenólicos totais (CFT)

Os compostos fenólicos totais (CFT) foram determinados, espectrofotometricamente (Espectrofotômetro UV-VIS Cary-50, da Varian), medidos a 215nm, em cubeta de quartzo de 1x1 cm (FIELD; LETTINGA, 1987; SIERRA-ALVAREZ *et al.*, 1990).

4.1.5 Cor

A cor foi avaliada por método de cor aparente. Foram determinados espectrofotometricamente (Espectrofotômetro UV-VIS Cary-50, da Varian), medidos a 440nm, em pH 9,0, em cubeta de quartzo de 1x1 cm (FIELD e LETTINGA, 1987; SIERRA-ALVAREZ *et al.*, 1990).

4.1.6 Caracterização da biomassa aderida e suspensa no reator MBBR

O biofilme bacteriano aderido aos meios supirtes constitui a biomassa aderida e a biomassa suspensa constitui os sólidos em suspensão no reator MBBR. As amostras de biomassa aderida foram analisadas por adequação do método de Reis (2007). A biomassa em suspensão no reator foi caracterizada segundo o conteúdo de sólidos suspensos totais (SST) e voláteis (SSV) conduzidas conforme metodologia nas seções 2540D e 2540E, respectivamente, descritos pela APHA (2005). Sendo que todas as determinações foram realizadas em triplicata e feitas ao final de cada COV aplicada.

4.2 TRATAMENTO DO EFLUENTE DE CELULOSE KRAFT E OPERAÇÃO DO REATOR MBBR

O tratamento biológico ocorreu em reator de fluxo contínuo, com 1L de capacidade e meios suportes plásticos AMB para biomassa microbiana e a adição dos fitoesteróis: β -sitoesterol e Estigmasterol ($2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de cada um nas amostras de celulose Kraft através de solução sonicada)¹. O reator MBBR foi mantido no Laboratório de Tratamento de Águas Residuárias (LATAR) da UTFPR.

Os parâmetros de operação e a frequência analítica foram monitorados segundo adaptação em XAVIER *et al.* (2011), presente na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros de operação e frequência analítica.

Parâmetros	Frequência Analítica
Vazão	Diária
pH	Diária
DQO	3 vezes.semana ⁻¹
DBO ₅	3 vezes.semana ⁻¹
Sólidos Aderidos	1 vez cada COV*
Sólidos em Suspensão	1 vez cada COV*
Cor	3 vezes.semana ⁻¹
Compostos Fenólicos	3 vezes.semana ⁻¹
TDH	Diária

*COV: Carga Orgânica Volumétrica ($\text{gDQO}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)

4.2.1 Operação do reator MBBR

A operação do reator MBBR ocorreu em 4 estágios contínuos, relativos às COV's (Carga Orgânica Volumétrica) aplicadas, distribuídos como apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Estágios de Operação do Reator MBBR.

Estágio	COV ($\text{gDQO}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)
1	0,6
2	1,2
3	4,0
4	9,0

¹ Os fitoesteróis foram adicionados para avaliar sua remoção a partir de uma concentração conhecida. Não foi possível avaliar seu teor por cromatografia, mas seus valores adicionados são citados para comparações futuras sem a adição dos mesmos.

O tempo relativo de cada estágio foi definido quando o sistema de tratamento atingiu o estado estacionário, ou seja, apresentou variações inferiores a 5% na remoção de matéria orgânica (DQO e DBO₅) nas COV's experimentais.

4.3 ECOTOXICIDADE

As amostras para os testes de ecotoxicidade aguda e crônica foram classificadas como: Afluente (amostras do efluente bruto) e Efluente (amostras obtidas do tratamento por MBBR), sendo referentes a todas as COV's aplicadas durante seu estado estacionário.

Os efeitos agudos foram avaliados de acordo com a norma NBR 12713 de Ecotoxicologia Aquática com o organismo *D. magna* (ABNT, 2009). Os organismos utilizados são oriundos de cultivos mantidos no Laboratório de Ecotoxicologia da UTFPR – Curitiba. Seus respectivos meio de cultivo (M4), água de diluição e carta de sensibilidade encontram-se nos anexos A, B e C respectivamente (KNIE; LOPES, 2004; ABNT, 2009).

Os testes de ecotoxicidade aguda do Afluente e Efluente do reator MBBR foram realizados para:

- (i) avaliar a ecotoxicidade aguda do efluente Kraft contendo os fitoesteróis frente ao tratamento biológico;
- (ii) monitorar a eficiência do reator MBBR na remoção da ecotoxicidade e
- (iii) avaliar de forma preliminar as concentrações para os ensaios de ecotoxicidade crônica dos afluentes e efluentes dos 4 estágios de operação do reator MBBR onde não ocorre mortandade dos neonatos.

Para os ensaios de ecotoxicidade aguda foram utilizados filhotes (neonatos entre 2 e 26 horas de vida) provenientes de um mesmo lote, com as mesmas condições de cultivo e idade (KNIE; LOPES, 2004). Os filhotes foram submetidos a um gradiente de concentrações do efluente testado, além do controle, seguindo 4 concentrações (12,5%; 25%; 50% e 100%), como mostra a Figura 4, utilizando-se água de diluição. Cada concentração foi avaliada em triplicata, mantida nas mesmas

condições de temperatura que o cultivo, protegido de incidência luminosa. Em cada béquer de 50 mL foram adicionados 20 neonatos em 40 mL das respectivas concentrações do efluente e do controle (contendo apenas água de diluição).

O efeito agudo foi estimado, baseando-se na CE_{50} obtida, pelo Fator de Toxicidade (FT), unidade mais comumente utilizada para efluentes industriais no Brasil, que é a unidade que representa quantas vezes o corpo receptor precisaria diluir o efluente para que ele deixe de ser tóxico para os organismos (AREZON; PEREIRA NETO; GERBER, 2008; ABNT, 2009).

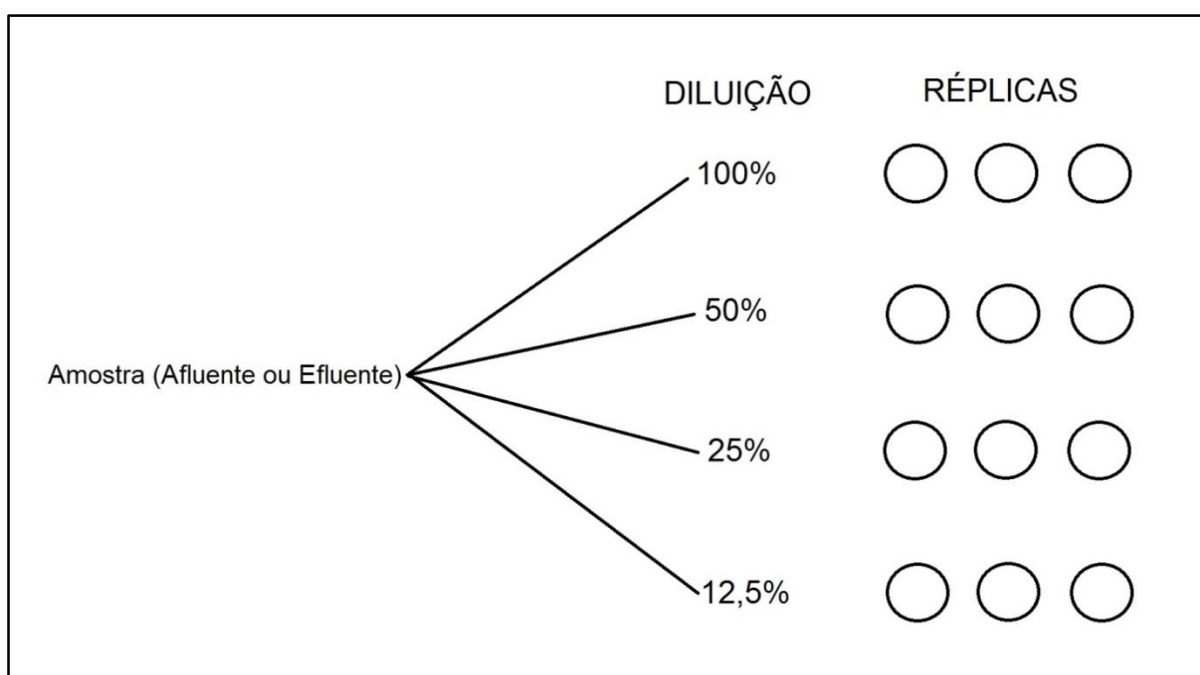


Figura 4 - Diluições feitas para teste de ecotoxicidade aguda.

Os efeitos crônicos foram avaliados também empregando *D. magna*, por exposição de 21 dias em concentrações abaixo da CE_{50} (Concentração de Efetiva média para 50% da população) (MARIA; LANGE; AMARAL, 2014) com gradientes de 4 a 5 concentrações de acordo com o resultados dos testes de ecotoxicidade aguda, expresso em porcentagem de efluente na diluição, utilizando-se do Meio de Cultivo (M4) como meio para diluição, de acordo com o guia da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 2012) e o guia para testes de Toxicidade e ciclo de vida da *Daphnia magna* da American Society for Testing and Materials (ASTM, 1988). Para cada concentração aplicada foram feitas 10 réplicas em béqueres de 50 mL, com um neonato em cada.

Assim também, para o teste crônico os filhotes foram provenientes do mesmo lote, com tempo de vida inferior a 24 horas. Três vezes por semana foram feitas as trocas totais dos respectivos meios e dos controles (apenas meio M4), com a adição de algas, com densidade algal de 10^6 células.mL⁻¹, como alimento, sendo 300µL de suspensão algal.dia⁻¹ até a primeira postura, quando a quantidade foi aumentada para 400µL de solução algal.dia⁻¹. Todos os testes foram mantidos em estufa BOD adaptada com fotoperíodo de 16 horas.dia⁻¹ e temperatura de 20°C (ASTM, 1988; OECD, 2012). Após a primeira postura o número de neonatos nascidos foi contado, como demonstrado no Quadro 1, e descartado os neonatos do dia em solução comercial de hipoclorito de sódio.

Réplica (R)	Controle	X%	Y%	Z%	W%	Observações
R1						COV:
R2						
R3						
R4						Dia:
R5						
R6						
R7						
R8						Data:
R9						
R10						

Quadro 1 - Planilha de contagem do número de neonatos por dia de postura. Nota: X, Y, Z e W são valores das diluições inferiores ao CE₅₀ determinado pelo teste de ecotoxicidade aguda.

O objetivo dos testes crônicos é avaliar se uma determinada carga ou amostra gera efeito na reprodução, desenvolvimento ou sobrevivência dos organismos em análise por um período de 21 dias (ASTM, 1988).

Os testes crônicos foram considerados válidos quando alcançaram sobrevivência de 80% dos organismos-teste e se o número de neonatos ao final do ensaio de 21 dias fosse superior a 60 nos controles (ASTM, 1988).

Para os resultados dos ensaios de ecotoxicidade aguda, foi aplicado o Teste t para análises de diferença entre duas médias, usando o programa estatístico BioStat

2008. No teste crônico foram aplicados, para os dados paramétricos, os testes de ANOVA e Dunnett e para dados não paramétricos, os testes Kruskal-Wallis usando o programa ASSISTAT (SILVA, 1996; SILVA; AZEVEDO, 2002; SILVA; AZEVEDO, 2006; SILVA; AZEVEDO, 2009) e o teste Tukey, usando o programa desenvolvido pelo Centro de Ciências Agrárias da UFSCar (TESTE TUKEY - UFSCar, 2015) para estimar os valores de CENO (Concentração de Efeito Não Observado) e CEO (Concentração de Efeito Observado), junto a uma avaliação do número de neonatos gerados nos testes crônicos. O intervalo de confiança foi no nível de 95% em cada um dos testes

O crescimento de *D. magna* também foi avaliado através da medição do comprimento dos organismos ao final do teste de 21 dias (ASTM, 1988). Considera-se o comprimento total do indivíduo como o da cabeça até o final da carapaça, conforme Figura 5.

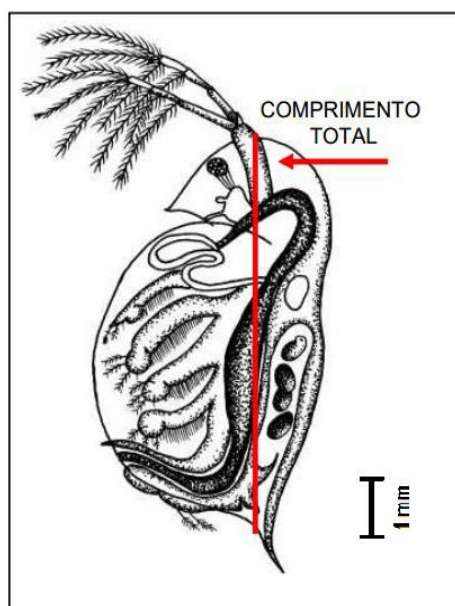


Figura 5 - Medida do comprimento total de *Daphnia magna*.
Fonte: Adaptado de BRENTANO e LOBO (2003).

A longevidade foi avaliada para *D. magna* através do acompanhamento da sobrevivência dos organismos até o final do ensaio de 21 dias, expressando o parâmetro em número de daphnias sobreviventes após 21 dias (ASTM, 1988).

4.4 RELAÇÕES E CORRELAÇÃO DE PEARSON DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E ECOTOXICOLÓGICOS

Foram comparadas as características dos efluentes (Afluentes) empregados nos distintos estágios do reator MBBR e os resultados dos testes agudos e crônicos de cada fase da operação. Assim, foi realizada análise de correlação de Pearson, para avaliar estatisticamente as relações da DQO, DBO₅, cor e CFT, com os valores de FT e CEO determinados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE DE CELULOSE KRAFT

O efluente foi caracterizado em relação aos seguintes parâmetros: DBO₅, DQO (APHA, 2005) cor e compostos fenólicos (FIELD; LETTINGA, 1987; SIERRA-ALVAREZ *et al.*, 1990). Sua caracterização média relativa a três coletas de efluente bruto está apresentada na Tabela 5, de acordo com seus respectivos parâmetros.

Tabela 5 - Caracterização do efluente de celulose Kraft.*

Parâmetros	Valores
DQO (mg.L ⁻¹)	1050 ± 429,2
DBO ₅ (mg.L ⁻¹)	219 ± 56,3
Cor (VIS ₄₄₀)	0,58 ± 0,16
Compostos Fenólicos Totais (CFT) (mg.L ⁻¹)	277,26 ± 51,2

*n=3 amostras

O tratamento biológico ocorreu em reator de fluxo contínuo, com 1L de capacidade e meios suportes plásticos AMB para biomassa microbiana e a adição dos fitoesteróis β -sitoesterol e Estigmasterol em 2 mg.L⁻¹ de cada um no efluente de celulose Kraft².

5.2 OPERAÇÃO DO REATOR MBBR

A operação do reator MBBR deu-se em 4 estágios, relativos às COV's (Carga Orgânica Volumétrica) aplicadas, onde o tratamento ocorreu durante 125 dias, distribuídos como apresentado na Tabela 6.

² A quantificação dos fitoesteróis adicionados ou contidos previamente no efluente não foi possível por questões técnicas.

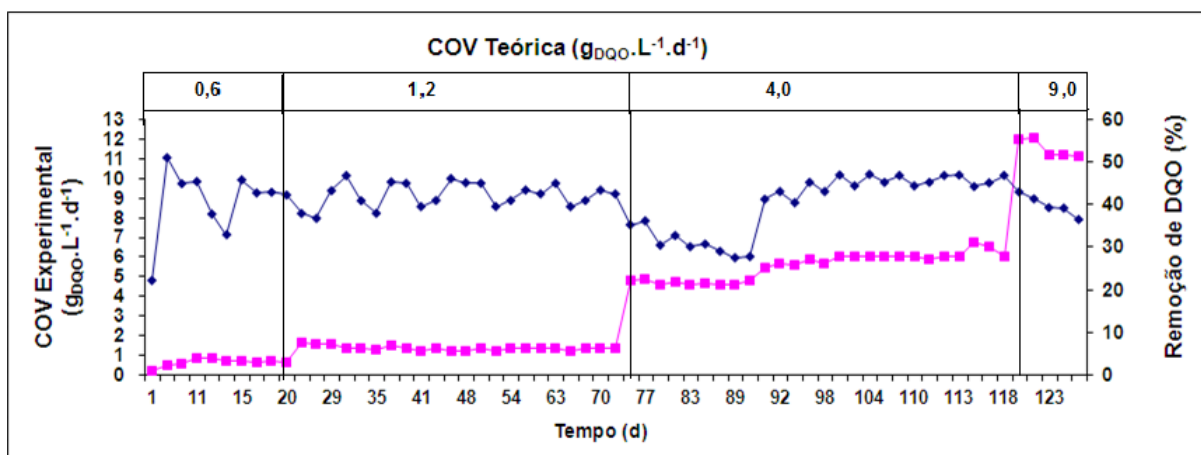
Tabela 6 - Estágios de Operação do Reator MBBR, Tempo de Operação e TDH.

Estágio	COV ($g_{DQO} \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$)	Tempo de Operação (dias)	TDH*(horas)
1	0,6	20	20
2	1,2	55	10
3	4,0	42	5
4	9,0	8	3

*Tempo de Detenção Hidráulica

5.2.1 Remoção de matéria orgânica

Na Figura 6 é apresentada a eficiência de remoção de DQO e suas respectivas cargas aplicadas (COV's). Nela se observa que o reator MBBR mostrou eficiência média de 40% de remoção de DQO ao longo da operação. Mesmo com valores mais elevados de COV, a remoção de DQO mostrou redução de pouco mais de 5% com relação à média de remoção, sendo o seu ótimo mantido até valores de COV de $4,0 g_{DQO} \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$.

**Figura 6** - Remoção de DQO (—●—) e COV (—■—).

Na Figura 7, tem-se a eficiência de remoção de DBO_5 . O tratamento apresentou uma remoção média de 91% de DBO_5 , e foi possível observar um decréscimo de aproximadamente 5% para a COV $9,0 g_{DQO} \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$.

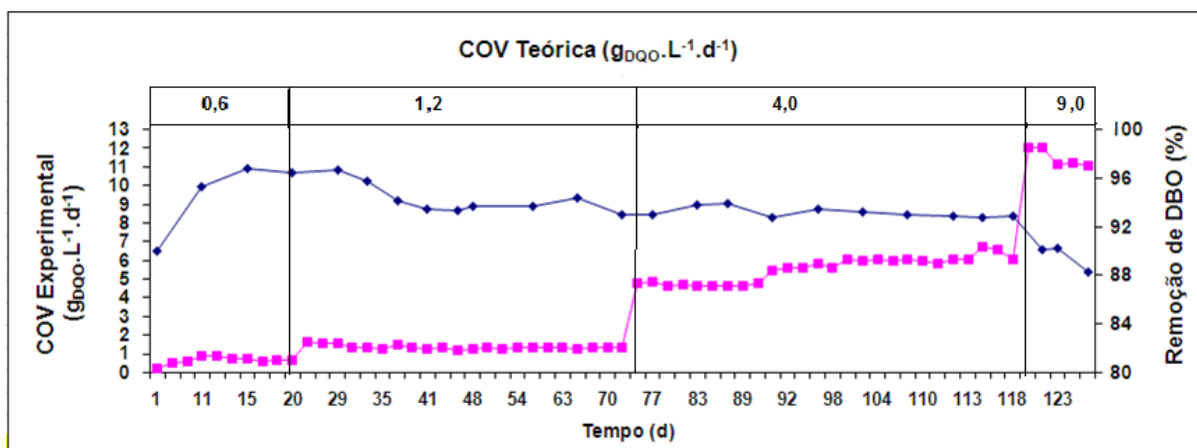


Figura 7 - Remoção de DBO₅ (—●—) e COV (—■—).

Comparado com outros trabalhos que utilizaram MBBR, se verificam remoções semelhantes. Em Villamar *et al.* (2009) foram encontrados remoções de 88% e em Vanzetto (2012), em torno de 92%, apresentando uma diferença média menor que 4% nas COV's aplicadas, o que condiz com um sistema bastante estável frente as diferentes cargas (MINEGATTI, 2008).

5.2.2 Remoção de compostos específicos

Na maioria das cargas aplicadas teve uma remoção de cor inferior a 10%, e na maior carga aplicada se observou um incremento da cor que foi em média de 0,8%, no entanto, tratamentos biológicos não são eficientes para este parâmetro em efluente de celulose Kraft (XAVIER *et al.*, 2011; FURLEY; LOMBARDI; GOMES, 2015; KAMALI; KHODAPARAST, 2015). Na Figura 8, se apresenta o gráfico de remoção de cor ao longo do tempo de operação do reator MBBR.

Segundo Larrea *et al.* (1989) um mecanismo para o aumento de cor ocorreria pela policondensação-adsorção das estruturas da lignina, que ocorreria simultaneamente com um mecanismo de formação de cor filtrável devido à oxidação bioquímica de alguns grupos funcionais a lignina.

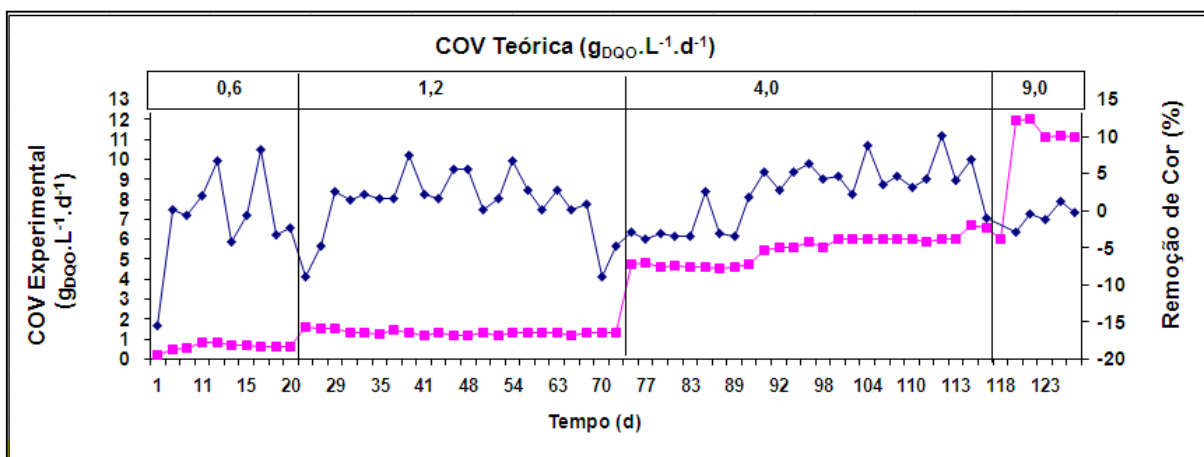


Figura 8 - Remoção de Cor (—●—) e COV (—■—).

Na Figura 9, também se apresenta o perfil de remoção para compostos fenólicos totais, os quais foram bastante variáveis durante a operação do reator MBBR. Onde foram mais removidos em cargas maiores, como 9,0 g_{DQO}.L⁻¹.d⁻¹, em 36,2%. Sendo uma melhora na remoção de compostos fenólicos de aproximadamente 10% superior às demais cargas. Considerando que o efluente utilizado apresentava maior concentração de fenóis que os demais afluentes, seu perfil de remoção demonstra o potencial desse sistema para redução de compostos considerados tóxicos em cargas mais elevadas.

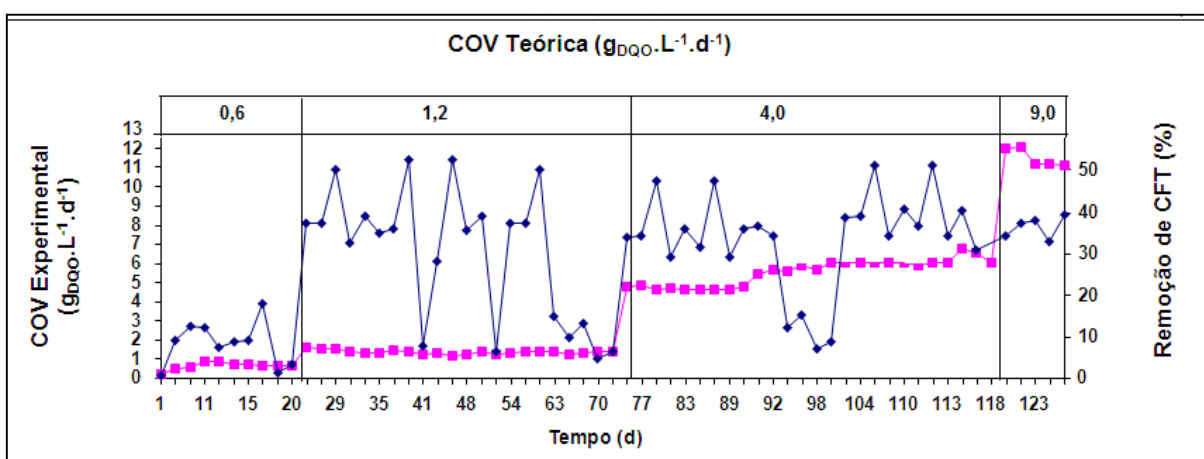


Figura 9 - Remoção de compostos fenólicos totais (CFT) (—●—) e COV (—■—).

Em Nakhli *et al.* (2014) foram obtidos valores de remoção de compostos fenólicos de até 100% para tratamento com MBBR, frente ao efluente salino, para cargas mais baixas, sendo que com o aumento da carga aplicada, as remoções

reduziram-se drasticamente, indicando o papel que o biofilme desempenha na remoção do fenol. Em Villamar *et al.* (2009) encontram-se valores de remoção de compostos fenólicos estiveram de até 18,6% para tratamento com MBBR também para cargas mais baixas. Como em Vanzetto (2012) as remoções foram diminuindo conforme se aumentou a carga orgânica aplicada. Sendo diferente para os valores obtidos para tratamento de efluente Kraft contendo fitoesteróis empregados nesse trabalho.

5.2.3 Análise de remoções

Na Figura 10 são apresentados os resultados do tratamento do efluente Kraft em reator MBBR ao longo do período de operação, conforme suas cargas orgânicas. Observou-se uma tendência de 40% de remoção de DQO e de mais de 91% de remoção de DBO₅. Para remoção de cor, não houve um perfil homogêneo com o aumento da COV, o que já se esperava para um tratamento biológico. Com relação aos compostos fenólicos, houve um aumento observado no perfil de remoção de 8,8% até 36,4% das COV's 0,6 até 9,0 g_{DQO}.L⁻¹.d⁻¹.

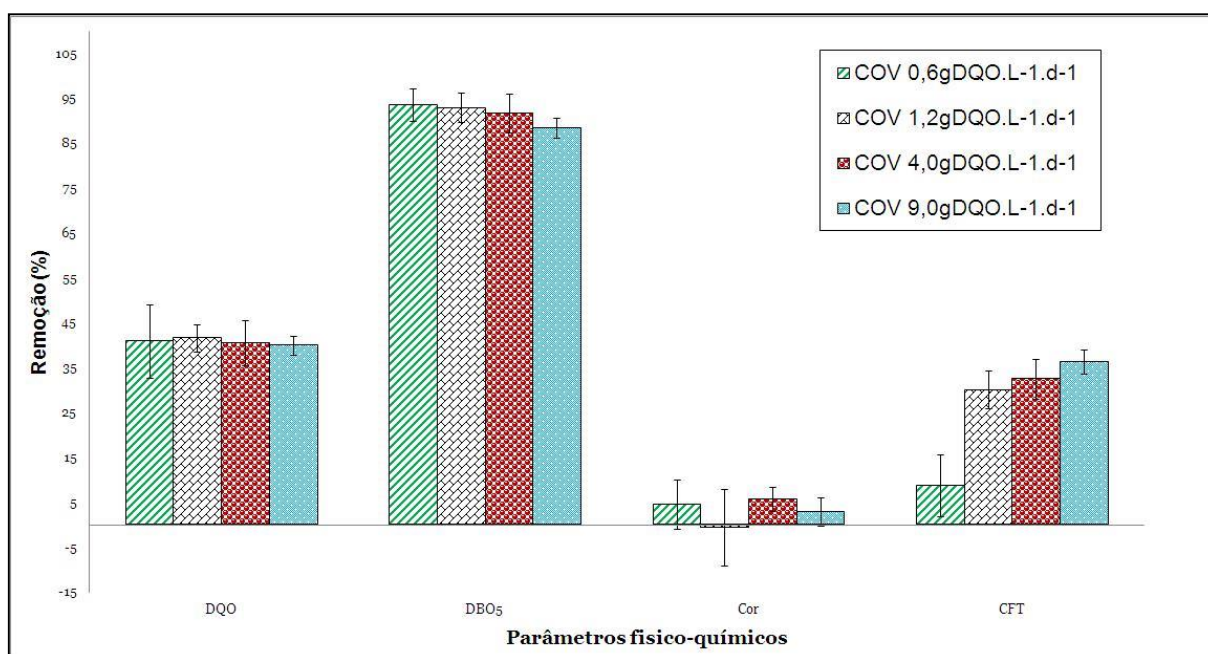


Figura 10 - Remoções obtidas no MBBR tratando efluente de celulose Kraft.

Na Tabela 7 são apresentados os valores médios de remoções durante o tratamento por MBBR, junto com seus respectivos valores de TDH. Aplicando o teste Tukey, para um nível de significância de 95%, sobre esses valores, não foram verificadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias de remoções, durante o tratamento biológico, excetuando-se para remoção de cor, onde sistemas de tratamento biológicos são reconhecidamente desfavoráveis para remoção deste parâmetro (XAVIER *et al.*, 2011; FURLEY; LOMBARDI; GOMES, 2015; KAMALI; KHODAPARAST, 2015).

Tabela 7 - Comportamento durante o tratamento por MBBR

Parâmetro					
COV ($\text{g}_{\text{DQO}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	DQO(%)*	DBO ₅ (%)*	Cor(%)*	CFT(%)*	TDH(h)
0,6	41,0 ± 8,1	93,54 ± 3,55	4,6 ± 5,57	8,80 ± 5,42	20
1,2	41,6 ± 3,1	92,93 ± 3,24	0	30,11 ± 16,41	10
4,0	40,6 ± 5,0	91,7 ± 4,25	5,8 ± 2,6	32,50 ± 12,77	5
9,0	40,0 ± 2,04	88,40 ± 2,28	3,00 ± 3,16	36,41 ± 2,69	3

*Porcentagem de remoção

Com isso pôde-se inferir como condição ótima para o tratamento a COV de $9,0 \text{ g}_{\text{DQO}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, com TDH de apenas 3 horas, onde ficou evidenciado que o aumento da carga não afetou o desempenho do reator. Isso corrobora com sua estabilidade frente a diferentes cargas, como visto em Minegatti (2008).

5.2.4 Análise da biomassa aderida e suspensa no reator MBBR

Sobre a biomassa aderida ao meio suporte, esta variou de 6 a $23 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Isto pode ser explicado pela grande quantidade de substâncias poliméricas extracelulares presentes na superfície do suporte (VANZETTO, 2012), demonstrando a eficiência do meio suporte AMB utilizado para o crescimento da fauna microbiana que trata o efluente de celulose Kraft. Quanto à biomassa do reator. Observou-se que a concentração de sólidos em suspensão no efluente do reator foi relativamente baixa, variando de 510 a $1230 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (Figura 11).

A relação SSV/SST para os sólidos suspensos foi próxima de 0,73 ao final do tratamento, indicando que o lodo em suspensão é pouco estabilizado na COV $9,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Esse fator pode indicar o arraste de sólidos nas cargas mais elevadas, e

também que os sólidos em sua maior parte estão realmente presentes nos meios suporte AMB.

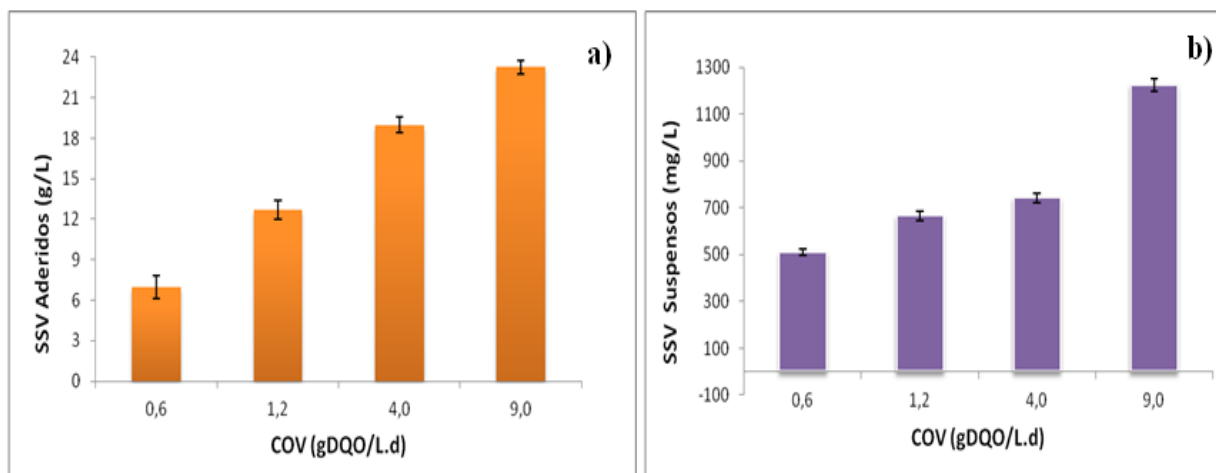


Figura 11 - a) Sólidos Aderidos e b) Suspensos do Reator MBBR.

Na Figura 12 se verifica que a taxa de crescimento da biomassa aderida é maior que da biomassa suspensa, em torno de 18 vezes maior, indicando que a fonte de microorganismos que tratam o efluente está preferencialmente aderida aos meios suporte, como observado por Vanzetto (2012).

5.3 ECOTOXICIDADE

Os testes de ecotoxicidade aguda e crônica foram realizados para todas as cargas orgânicas volumétricas, tanto para Afluente como para Efluente do reator MBBR. Dentre os testes realizados houve efeito agudo apenas para o Afluente da COV 9,0 g_{DQO}·L⁻¹·d⁻¹, (FT = 2). O efeito crônico foi avaliado através de três parâmetros:

1. reprodução;
2. crescimento e
3. longevidade.

Para estes utilizaram-se concentrações inferiores a CE₅₀, variando entre 5% e 40%. Os ensaios crônicos foram validados, pois apresentaram mortalidade de até

20% e o número de neonatos foi superior a 60 nos controles, como mostra a Figura 12.

Dentre os parâmetros avaliados, verificou-se um efeito de hormese, na reprodução, para o Afluente das COV's 4,0 e 9,0 gDQO·L⁻¹·d⁻¹, ou seja, ocorreu um estímulo na reprodução para as concentrações mais baixas, 5%, seguido por um decréscimo nas concentrações mais elevadas (CALABRESE; BALDWIN, 2002; CALABRESE, 2010; KENDIG; LE; BELCHER, 2010).

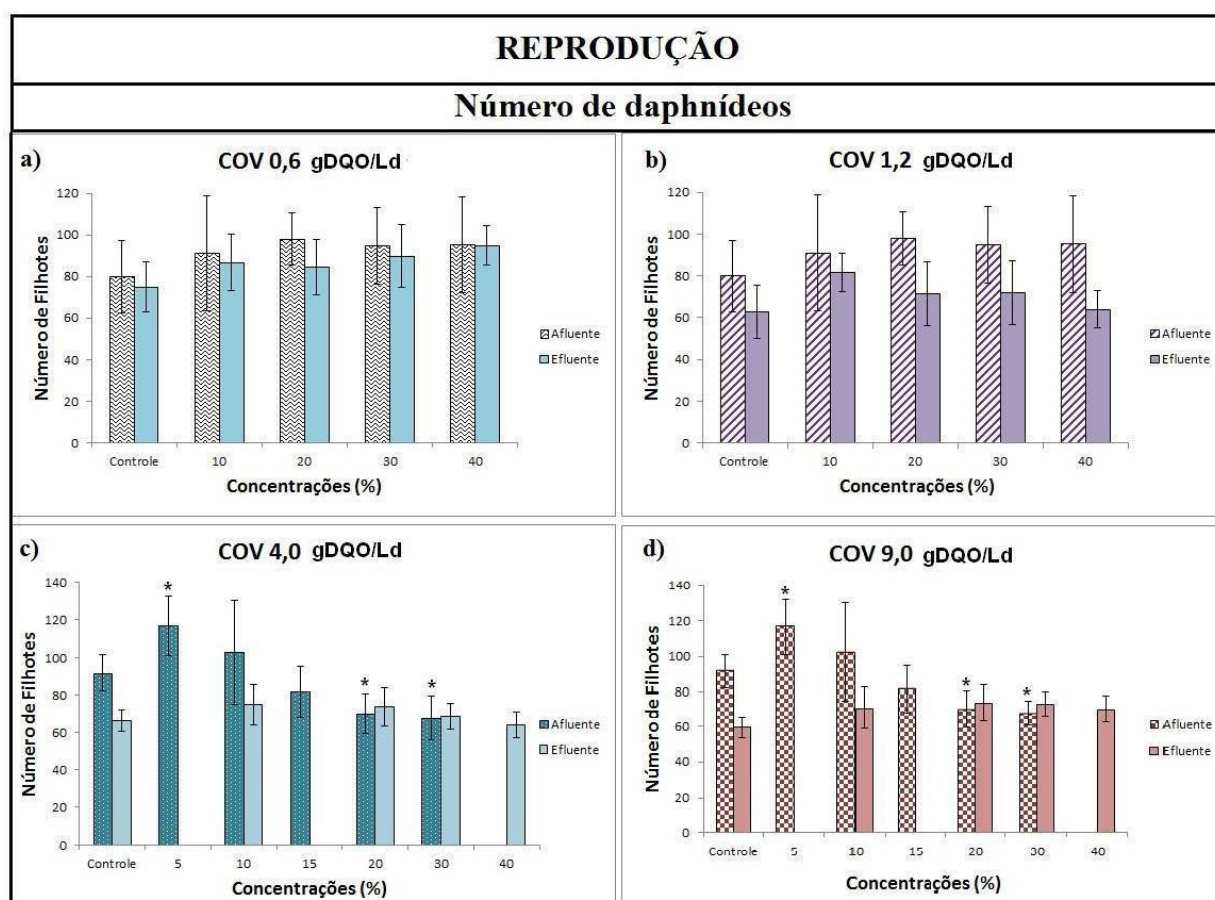


Figura 12 - Média de reprodução de *D. magna* em Afluente e Efluente Kraft em todas as COV's. *p<0,05 com relação aos controles

No Efluente das cargas maiores os efeitos observados anteriormente deixaram de ser observados, não havendo ativação ou inibição na reprodução de *D. magna* comparados com seus respectivos controles, melhorando o tratamento sendo ambos os efeitos significativamente diferentes de seus controles.

Para a reprodução foram aplicados testes estatísticos de acordo com as características paramétricas ou não paramétricas dos dados obtidos durante os testes crônicos (Testes ANOVA, Dunnett, Kruskal-Wallis e Tukey), segundo a

produção de neonatos (Figura 12) permitindo estabelecer os valores de CENO e CEO, apresentados na Tabela 8, junto aos seus valores de FT, para cada estágio do tratamento por MBBR.

Tabela 8 - Valores do Fator de Toxicidade (FT), CENO* e CEO** para reprodução em efluente Kraft tratado por reator MBBR.

Estágio	COV (g _{DQO} ·L ⁻¹ ·d ⁻¹)	Tipo	FT	CENO (%)	CEO (%)
1	0,6	Afluente	1	30	40
		Efluente	1	40	>40
2	1,2	Afluente	1	30	40
		Efluente	1	30	40
3	4,0	Afluente	1	30	5
		Efluente	1	40	>40
4	9,0	Afluente	2	30	5
		Efluente	1	40	>40

Nota: *Concentração de Efeito Não Observado. **Concentração de Efeito Observado. (Todo efeito é considerado negativo).

Com isto, foi possível verificar que os valores de CENO e CEO aumentaram após o tratamento por MBBR, mesmo para cargas mais altas, indicando redução da ecotoxicidade crônica de reprodução em *D. magna*.

O crescimento foi avaliado ao final dos testes de 21 dias, medindo-se os organismos da cabeça até ao final da carapaça. A Figura 13 mostra o resultado do crescimento da *D. magna* exposta a Afluente e Efluente, onde se compara o comprimento médio dos organismos.

Para o Afluente a média de comprimento para os controles foi de $4,68 \pm 0,15$ mm e de $4,65 \pm 0,15$ mm, valores superiores aos descritos em Xavier (2006), onde estes foram inferiores a 3 mm, tanto nos controles como para organismos expostos a efluentes de tratamento por Lodos Ativados e Lagoa aerada em COV's similares as deste trabalho.

Não foi verificado para o Afluente diferenças significativas no crescimento com o controle em todas as cargas aplicadas. O Efluente também não produziu efeitos significativos no crescimento dos organismos expostos, com exceção aos expostos ao Efluente na COV $9,0 \text{ g}_{\text{DQO}}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ na concentração de 40%, apesar dos controles terem crescimentos similares.

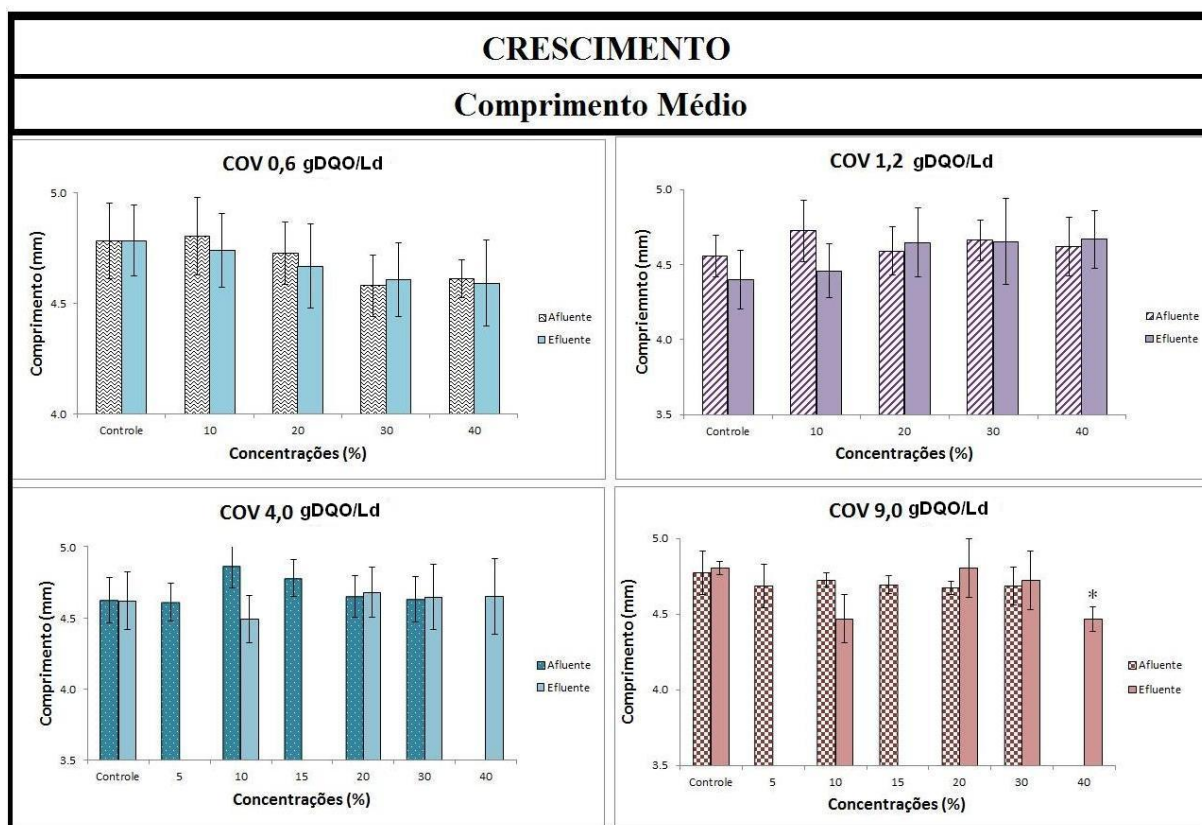


Figura 13 - Média de crescimento de *D. magna* em Afluente e Efluente Kraft em todas as COV's. *Efeito observado sobre o crescimento. * $p < 0,05$ com relação ao controle.

Cabe ressaltar que para as amostras das COV's maiores (4,0 e 9,0 g.L⁻¹.d⁻¹), concentrações de 20% do Efluente apresentaram um comportamento diferente das demais tanto na reprodução (Figura 12) quanto no crescimento dos daphnídeos (Figura 13), os quais aumentam após o tratamento por MBBR, mas não sendo constatadas diferenças significativas. Em Xavier (2006) concentrações de 20% também apresentaram esse comportamento com relação ao número de neonatos expostos a efluentes tratados por Lodos Ativados com COV's similares, sendo que para o crescimento concentrações de 10% mostraram-se estatisticamente diferentes do controle para o mesmo tratamento.

A longevidade é o tempo de vida do organismo no curso do ensaio, sendo que em todos os testes foi alcançado sobrevivência de, no mínimo, 80% dos organismos-teste em 21 dias.

Na Tabela 9 são descritos os valores de mortalidade para cada COV e suas respectivas concentrações aplicadas, onde cada teste crônico realizado teve seu controle.

Tabela 9 - Número de mortes dos organismos-teste nos testes crônicos.*

Concentração (%)	COV ($\text{g}_{\text{DQO}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)							
	0,6		1,2		4,0		9,0	
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
Controle	2	0	2	0	0	1	0	1
5	-**	-	-	-	0	-	0	-
10	0	1	0	1	0	0	0	1
15	-	2	-	-	0	-	0	-
20	1	-	1	1	2	0	2	0
30	2	0	2	0	1	1	1	2
40	1	0	1	1	-	0	-	0

*n=10. ** Concentração não aplicada no teste crônico.

Embora os efeitos de mortandade observados se concentrem nas maiores concentrações, estes são diferentes do observado para o controle especialmente no Afluente das COV 4,0 e 9,0 $\text{g}_{\text{DQO}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ e no Efluente da COV 9,0 $\text{g}_{\text{DQO}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$.

5.4 RELAÇÕES E CORRELAÇÃO DE PEARSON DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E ECOTOXICOLÓGICOS

Com a confirmação da redução dos efeitos de ecotoxicidade agudos e crônicos após tratamento por MBBR uma avaliação entre os parâmetros de ecotoxicidade e físico-químicos foi necessária.

Levando em conta os dados apresentados anteriormente na Tabela 8, onde valores de CEO para as cargas mais altas foram consideravelmente baixos (Afluente com maior ecotoxicidade), uma caracterização do efluente bruto das diferentes amostragens é apresentada a seguir, na Tabela 10.

Verifica-se, na Tabela 10, uma possível relação entre as concentrações de DQO, DBO₅, cor e compostos fenólicos totais (CFT). Onde sua caracterização evidencia a diferença de concentração dos parâmetros das diferentes amostras coletadas.

Tabela 10 – Caracterização do efluente Kraft antes do tratamento por reator MBBR.

Parâmetros	COV (g _{DQO} ·L ⁻¹ ·d ⁻¹)			
	0,6	1,2	4,0	9,0
DQO (mg.L ⁻¹)	524 ± 165	569 ± 41,8	1389 ± 123,7	922 ± 62,5
DBO ₅ (mg.L ⁻¹)	296,5 ± 38,7	215,8 ± 20,4	215 ± 17,4	255,8 ± 68,5
CFT (mg.L ⁻¹)	173,8 ± 6,8	252,67 ± 46	274,9 ± 41	307,2 ± 27,6
Cor (UV ₄₄₀)	0,4428 ± 0,017	0,4648 ± 0,025	0,7205 ± 0,092	0,7634 ± 0,015
DBO ₅ /DQO	0,57	0,38	0,15	0,28
FT	1	1	1	2
CEO (%)	40	40	5	5

Na Tabela 10 observa-se que a razão DBO₅/DQO indica que as amostras (Afluente) das COV's 4,0 e 9,0 g_{DQO}·L⁻¹·d⁻¹, apresentam maior recalcitrância, ou seja, maior presença de compostos derivados de lignina, compostos aromáticos e fenólicos, todos de difícil biodegradabilidade, com elevada cor (PERALTA-ZAMORA *et al.*, 1997).

Com isso também se verifica, com relação aos CFT, a diferença de mais de 40% entre os Afluentes das cargas 0,6 e 9,0 g_{DQO}·L⁻¹·d⁻¹, o que corrobora com a toxicidade inicial verificada pelo teste agudo na carga mais alta.

Com relação a Cor, a diferença foi próxima de 62%, indicando a maior concentração de lignina, composto esse também tido como tóxico em altas concentrações (FURLEY; LOMBARDI; GOMES, 2015; KAMALI; KHODAPARAST, 2015).

As amostras (Afluentes) com menor fator de biodegradabilidade (DBO₅/DQO) apresentaram maior efeito de ecotoxicidade em *Daphnia magna*, devido à maior presença de compostos específicos recalcitrantes no efluente de celulose Kraft (PERALTA-ZAMORA *et al.*, 1997; MARIA; LANGE; AMARAL, 2014). Também nestes casos verificam-se seus efeitos nos valores de CENO e CEO obtidos na reprodução.

Com isso, pode-se predizer que a redução de ecotoxicidade poderia ter alcançado valores de CENO e CEO ainda superiores (com menor toxicidade) se o Afluente usado para o tratamento por MBBR fosse mais próximo ao ideal para tratamento biológico (FURLEY, 2009; FURLEY, 2015). Isso condiz com as

características dos sistemas biológicos de tratamento, nos quais a remoção de toxicidade é favorecida pela biodegradabilidade do Afluyente (MINEGATTI, 2006).

A análise da correlação de Pearson, considerando os dados da Tabela 10, apresentou valor de -0,99 para o efeito da DQO do Afluyente na CEO e 0,64 para este parâmetro sobre o fator de toxicidade (FT). Isso indica uma forte relação da matéria orgânica como DQO e os efeitos crônicos do efluente nas *D. magna*. O nível de menor correlação com a toxicidade aguda mostra que a DQO afeta muito mais o desenvolvimento e a reprodução do organismo do que a imobilização destes. No geral se observa que o aumento na concentração de DQO causa uma diminuição nos valores de CEO e um aumento no FT, implicando em incremento nos efeitos tóxicos nos organismos expostos. Esta mesma observação foi feita para os CFT e a CEO (-0,70) e os CFT e o FT (0,59). No caso da cor, esse fator foi de -0,97 com a CEO e 0,55 com o FT. Portanto, a concentração de DQO, CFT e a cor nas amostras utilizadas tem um impacto importante no efeito de toxicidade aguda, mas este é ainda maior na toxicidade crônica avaliada como CEO. Quanto a DBO_5 , a correlação de Pearson se mostrou fraca com valores de 0,19 para interação DBO_5 -CEO e 0,30 para interação DBO_5 -FT, indicando que a matéria orgânica biodegradável impacta muito pouco nos efeitos de toxicidade aguda e crônica.

Apesar da amostra da COV $9,0 \text{ g}_{DQO} \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$ ser a mais tóxica, se mantém como sugestão o emprego da COV $9,0 \text{ g}_{DQO} \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$ no tratamento de efluente de celulose Kraft no reator MBBR, pois seu desempenho na remoção de ecotoxicidade aguda foi satisfatória e na ecotoxicidade crônica foram similares aos obtidos na COV $4,0 \text{ g}_{DQO} \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$.

6 CONCLUSÕES

A eficiência de remoção de matéria orgânica foi melhor para as cargas menores aplicadas alcançando 41,6 % e 93,2 % de remoção média de DQO e DBO₅, respectivamente para COV de 0,6 e 1,2 g_{DQO}·L⁻¹·d⁻¹. Para as maiores COV aplicadas 4,0 e 9,0 g_{DQO}·L⁻¹·d⁻¹ a eficiência de remoção de DQO e DBO₅ foi de 40,3 % e 89,5 % em média, respectivamente, não apresentando diferenças com as COV's mais baixas.

O maior valor de remoção de cor foi de 4,6 %, obtido na menor COV aplicada, 0,6 g_{DQO}·L⁻¹·d⁻¹. A eficiência de remoção dos compostos fenólicos foi melhor para as cargas mais altas, sendo que as remoções foram crescentes, partindo de 8,8 % na COV 0,6 g_{DQO}·L⁻¹·d⁻¹ até 36,4 % para a COV 9,0 g_{DQO}·L⁻¹·d⁻¹.

Após o tratamento por MBBR o Efluente não apresentou efeito de ecotoxicidade aguda. Com relação aos efeitos crônicos, os ensaios permitiram determinar CEO de mais de 30 % no Efluente tratado.

Efeitos inibidores não foram identificados para concentrações de até 20 % do Efluente. Para o Afluente das cargas mais altas, no entanto, se observou um efeito de hormese, no qual em concentrações de 5% do Afluente houve um aumento na reprodução, que foi significativamente diferente do controle ($p < 0,05$).

Para o crescimento foi constatado um efeito para o Efluente referente à COV 9,0 g_{DQO}·L⁻¹·d⁻¹, na qual ocorreu uma redução no tamanho dos daphnídeos expostos quando comparado ao controle, que pode se relacionar ao aumento da cor no Efluente e conseqüentemente dos compostos lignínicos, aromáticos.

As amostras (Afluentes) com menor fator de biodegradabilidade (DBO₅/DQO) apresentaram maior efeito de ecotoxicidade em *Daphnia magna*, devido à maior presença de compostos específicos recalcitrantes no efluente de celulose Kraft. Observou-se que a matéria orgânica recalcitrante (DQO, CFT e cor) tem maior impacto nos efeitos de reprodução e crescimento, que nos efeitos de toxicidade aguda. Após o tratamento por MBBR a baixa remoção observada para estes compostos recalcitrantes implicou na observação de efeito crônico no crescimento dos daphnídeos, sendo os efeitos na reprodução removidos por tratamento biológico.

Portanto se confirma a COV $9,0 \text{ g}_{\text{DQO}}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ como condição ótima para o tratamento de efluente de celulose Kraft por reator de leito móvel – MBBR, sendo importante atentar para a qualidade do Afluente que esta sendo tratado e a presença dos compostos fenólicos totais e seus níveis de remoção.

No presente trabalho foram obtidos importantes níveis de remoções de matéria orgânica, compostos específicos, cor e toxicidade em efluentes de celulose Kraft tratado por MBBR, o qual se mostrou estável durante as etapas de operação.

REFERÊNCIAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 12.713: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia spp.* (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, p. 16, 2009.

ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. *Standard guide for conducting life-cycle toxicity tests with Daphnia (Crustacea, Daphnidae)*, 1988.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION in Standard Methods for the Examination of Water And Wastewater, 19^o ed., nº 211. Washington: American Public Health Association, 2005.

ARAÚJO, A. L. P.; TAVARES, C. R. G.; COSSICH, E. S. Lodo Ativado sequencial na indústria de papel e celulose. **Revista Hydro**, nº 48, p. 42-45, 2010.

ARENZON, A.; PEREIRA NETO, T. J., GERBER, W. **Manual sobre toxicidade de efluentes industriais**. Porto Alegre: CEP SENAI de artes gráficas Henrique d'Ávila Bertaso, 2008.

AVSAR E.; DEMIRER G. N. Cleaner production opportunity assessment study in SEKA Balikesir pulp and paper mill. **Journal of Cleaner Production**; Issue 16, p. 422–431, 2008

AYGUN, A.; NAS, B.; BERKTAY, A. Influence of high organic loading rates on COD removal and sludge production in moving bed biofilm reactor. **Environmental Engineering Science**, Volume 25, Issue 9, p. 1311-1316, 2008.

BACHMANN, D. L.. Benchmarking ambiental na indústria de celulose e papel. **Revista: O Papel**, Volume 70, nº 6, p. 57-61, 2009.

BORKAR, R. P.; GULHANE, M. L.; KOTANGALE, A. J. Moving bed biofilm reactor – a new perspective in wastewater treatment. **Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**. Vol. 6, p. 15 – 21, 2012.

BOTROUS, A. E. F.; DAHAB, M. F.; MIHÁLTZ, P. Nitrification of highstrength ammonium wastewater by a fluidized-bed reactor. **Water Science and Technology**, vol. 49, n. 5-6, pp. 65-71, 2004

BRASIL – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n° 357/2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências., do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. 2005.

_____ Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n° 430/2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução n° 357, de 17 de março de 2005., do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. 2011.

BRENTANO, D. M.; LOBO, E. A. Biomonitoramento de caráter ecotoxicológico no Vale do Rio Pardo, RJ, Brasil. **Revista Tecnológica**, Volume 7(2), p. 85-95, 2003.

BUYUKKAMACI, N.,; KOKEN, E. Economic evaluation of alternative wastewater treatment plant options for pulp and paper industry. **Science of the Total Environment**, vol. 408, p. 6070–6078, 2010.

CALABRESE, E. J. Hormesis is central to toxicology, pharmacology and risk assessment. **Human and Experimental Toxicology**. vol. 29, p. 249–261, 2010.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Hormesis and high-risk groups. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Vol. 35, p. 414-428, 2002.

CHEN, S.; SUN, D.; CHUNG, J. Treatment of pesticide wastewater by moving bed biofilm reactor combined with fenton-coagulation pretreatment, **Journal of Hazardous Materials**, vol. 144, p. 577–584, 2007.

CHENG, K. C.; DEMIRCI, A.; CATCHMARK, J. M. Advances in biofilm reactors for production of value-added products, **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 87, p. 445-456, 2010.

COSTA, C. R.; OLIVI P; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, vol. 31, n°. 7, p. 1820-1830, 2008.

DEL GRANDE, M. H.. **Racionalização do Uso de água na Indústria de Celulose: O Caso Bahia Pulp**. Mestrado Profissional em Gerenciamento e Tecnologias Ambientais no Processo Produtivo. Escola Politécnica. Universidade Federal da Bahia – UFBA, 2004.

DIAS, I. do N.. **MBBR acoplado a filtro lento de areia e a osmose inversa para tratamento de efluente da indústria de petróleo visando reuso**. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química - UFRJ, Rio de Janeiro – RJ, 2011.

DIEZ, M. C.; CASTILLO, G.; AGUILAR, L.; VIDAL, G.; MORA, M. L. Operational factors and nutrient effects on activated sludge treatment of *Pinus radiata* Kraft mill wastewater. **Bioresource Technology**, vol. 83, p. 131 – 138, 2002.

DORNFELD, C. B. **Utilização de análises limnológicas, bioensaios de toxicidade e macroinvertebrados bentônicos para o diagnóstico ambiental do reservatório de Salto Grande (Americana, SP)**. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

FIELD, J. A.; LETTINGA, G. The methanogenic toxicity and anaerobic biodegradability of a hydrolysable tannin. **Water Research**, vol. 21, p. 367 – 374, 1987.

FUJII, F. Y.. **Análise comparativa entre o processo de lodo ativado e o reator de biofilme de leito móvel na remoção de nitrogênio de esgoto sanitário**. Dissertação de Mestrado em Engenharia – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo – São Paulo – SP, 2011.

FURLEY, T. H. Identificação da causa da toxicidade de efluentes de fábricas de celulose e papel da América Latina. Artigo Técnico. **Revista: O Papel**, p. 34 - 42, 2009.

FURLEY, T. H.; LOMBARDI, J. B.; GOMES, A. S. de S. Principais fontes de Impactos da ecotoxicidade de efluentes de celulose e papel. **Revista: O Papel**. vol. 76, nº 3, p.52, 2015.

GAUTO, M.; ROSA, G. **Química Industrial**. Porto Alegre: Ed. Bookman, 2013.

GRÖTZNER, M. B. **Tratamentos de efluente de processo de polpa quimiotermomecânica CTMP**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, UTFPR – Curitiba - PR, 2014.

IBÁ a – Indústria Brasileira de Árvores – Dados e Estatísticas. <<http://www.bracelpa.org.br/pt/dados-e-estatisticas>> - Acessado em 28 de Junho de 2015.

IBÁ b – Indústria Brasileira de Árvores – Histórico do Desempenho do Setor. <<http://www.bracelpa.org.br/pt/biblioteca-iba/historico-do-desempenho-do-setor> > - Acessado em 28 de Junho de 2015.

IBÁ 2014 - <http://www.bracelpa.org.br/shared/iba_2014_pt.pdf> Acessado em 19 de Setembro de 2015

JAHREN, S. J.; RINTALA, J. A.; ØDEGAARD, H. Aerobic moving bed biofilm reactor treating thermomechanical pulping whitewater under thermophilic conditions. **Water Research**, vol. 36, p. 1067–1075, 2002.

KAMALI, M.; KHODAPARAST, Z.. Review on recent developments on pulp and paper mill wastewater treatment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. Vol. 114, p. 326–342, 2015.

KENDIG, E. L.; LE, H. H.; BELCHER, S. M. Defining Hormesis: Evaluation of a Complex Concentration Response Phenomenon. **International Journal of Toxicology**. vol. 29, p. 235-246, 2010.

KHANSORTHONG S.; HUNSOM M. Remediation of wastewater from pulp and paper mill industry by the electrochemical technique. **Chemical Engineering Journal**, vol. 151, p. 228–234–3, 2009.

KNIE, J.L.W.; LOPES, E.W.B. **Testes Ecotoxicológicos** – Métodos, Técnicas e Aplicações. Florianópolis: FATMA/ GTZ, p. 289, 2004.

KREETACHAT, T.; DAMRONGSRI, M.; PUNSUWON, V.; VAITHANOMSAT, P.; CHIEMCHASRI, C.; CHOMSURIN, C. Effects of ozonation process on lignin-derived compounds in pulp and paper mill effluents. **Journal of Hazardous Materials**, vol. 142, p. 250–257, 2007.

LARREA, L., FORSTER, C.F, MELÉ, D. Changes in lignin during diffused air activated sludge treatment of kraft effluents. **Water Research**, v. (9), 1073–1080,1989.

MARIA, M. A.; LANGE, L. C.; AMARAL, M. Avaliação da toxicidade de efluentes de branqueamento de pasta celulósica pré e pós-degradação biológica. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**. vol.19, n.4, p. 417-422, 2014.

MINEGATTI, D. V. O. De. Caracterização dos parâmetros de controle e avaliação de desempenho de um reator biológico com leito móvel (MBBR). **XII, COPPE/UFRJ**, MSc., Engenharia Civil, p. 91, 2008.

MUNA ALI; SREEKRISHNAN, T.R. Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: a review. **Advances in Environmental Research**. p. 175 – 196, 2001.

NAKHLI, S. A. A., AHMADIZADEH, K. , FERESHTEHNEJAD, M., ROSTAMI, M. H., SAFARI, M., BORGHEI, S. M.. Biological removal of phenol from saline wastewater using a moving bed biofilm reactor containing acclimated mixed consortia. **Springerplus**, p. 7, 2014.

ØDEGAARD, H. Innovations in wastewater treatment: the moving bed biofilm process. **Water Science & Technology**, vol. 53, p. 17–33, 2006.

OECD – Organization for Economic Co-operation and Development (OECD/OCD). Test nº 211 – *Guidelines for the testing of chemicals – Daphnia magna Reproductions*, 2012.

ORREGO, R.; GUCHARDI, J.; KRAUSE, R.; HOLDWAY, D. Estrogenic and anti-estrogenic effects of wood extractives present in pulp and paper mill effluents on rainbow trout. **Aquatic Toxicology**, vol. 99, p. 160–167, 2010.

PARANÁ – Conselho Estadual do Meio Ambiente. Resolução 081/2010. Dispõe sobre Critérios e Padrões de ecotoxicidade para o Controle de Efluentes Líquidos lançados em águas superficiais no Estado do Paraná. Curitiba, 2010.

PARK, H. O.; OH, S.; BADE, R.; SIK, S. W.. Application of A2O moving-bed biofilm reactors for textile dyeing wastewater treatment, **Korean Journal Chemical Engineering**, vol. 27, p. 893-899, 2010.

PERALTA-ZAMORA, P.; ESPÓSITO, E.; REYES, J.; DURÁN, N. Remediação de efluentes derivados da indústria de papel e celulose. Tratamento biológico e fotocatalítico. **Química Nova**. vol. 20, p. 186, 1997.

RAND, G. M. **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment**. 2ª edition. North Palm Beach, Florida: Taylor e Francis. p. 1125, 1995.

REIS, G. G.. **Influência da carga orgânica no desempenho de reatores de leito móvel com biofilme (MBBR)**. Dissertação de mestrado. Departamento de Engenharia Química – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007.

REZENDE, N. R. de. **Tratamento de efluentes da indústria de polpa kraft branqueada: lodos ativados versus reator de biofilme e leito móvel**. Dissertação de Mestrado em Engenharia Civil - UFV, Viçosa – MG, 2011.

RODGERS, M.; ZHAN, Xin-Min. Moving-medium biofilm reactors, **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, vol. 2, p. 213-224, 2003.

RONCO, A.; BÁEZ, M. C. D.; GRANADOS, Y. P. Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas - Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones; MORALES, G. C., ed.; **Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo: Cap. 1**, Ottawa, 2004.

RUSTEN, B.; EIKEBROKK, B.; ULGENES, Y.; LYGREN, E. Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors, **Aquacultura Engineering**, vol. 34, p. 322–331, 2006.

SAAR, J. H. **Biotestes para efluentes industriais – Ameaça ou solução?**. Umwelt – Assessoria Ambiental. Artigo Técnico, 2002.

SALVETTI, R.; AZZELLINO, A.; CANZIANI, R.; BONOMO, L. Effects of temperature on tertiary nitrification in moving-bed biofilm reactors. **Water Research**, vol. 40, p. 2981–2993, 2006.

SCHNEIDER, E. E. **Avaliação de um reator de leito móvel com biofilme para tratamento de efluente da indústria do petróleo, com posterior ozonização acoplada a carvão ativado granular com biofilme**. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.

SIERRA-ALVAREZ, R.; HARBRECHT, J.; KORTEKAAS, S.; LETTINGA, G. The continuous anaerobic treatment of pulping wastewater. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, vol. 70, p. 119 – 127, 1990.

SILVA, F. de A. S. e; AZEVEDO, C. A. V. de. A New Version of The Assisat-Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE. Orlando-USA: Anais. Orlando: American Society of Agricultural and Biological Engineers. p.393-396, 2006.

SILVA, F. de A. S. e. The ASSISTAT Software: statistical assistance. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 6, Cancun. Anais. Cancun: American Society of Agricultural Engineers. p. 294-298, 1996.

SILVA, F. de A. S. e; AZEVEDO, C. A. V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. vol. 4, nº 1, p.71-78, 2002.

SILVA, F. de A. S. e; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In:WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

TESTE TUKEY – UFSCar, Ciências Agrárias. Departamento de Tecnologia Agroindustrial e Socioeconomia Rural. < <http://www.cca.ufscar.br/servicos/teste-de-tukey/> > Acessado em 14 de Novembro de 2014.

TUOMELA, M.; VIKMAN, M.; HATAKKA, A.; ITÄVAARA, M. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. **Bioresource Technology**, vol. 72, p. 169 – 183, 2000.

U.S. EPA – United States Environment Protection Agency. *Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms* – 821-R-02-012. Washinton, DC, 2002.

VAN RAANDEL, A.; VAN DER LUBBE, J. **Handbook of biological wastewater treatment: design and optimization of activated sludge systems**. 2.th. Londres: IWA Publishing, 2012.

VANZETTO, S. C. **Estudos de viabilidade de tratamento de efluente de indústria de celulose kraft por reator biológico com leito móvel (MBBR)**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, UTFPR – Curitiba – PR, 2012.

VILLAMAR C. A.; JARPA M.; DECAP J.; VIDAL G. Aerobic moving bed bioreactor performance: a comparative study of removal efficiencies of Kraft mill effluents from *Pinus radiata* and *Eucalyptus globulus* as raw material. **Water Science & Technology**. v. 59, Issue 3, p. 507-514, 2009.

WATER ENVIRONMENT FEDERATION. **Biofilm reactors: WEF manual of practice** nº 35. Alexandria: Mcgraw Hill, 608 p., 2011.

XAVIER, C. R. **Influencia de la tecnología de tratamiento en la eliminación de fitoesteroides contenidos en efluentes de celulosa kraft y en la toxicidad de estos compuestos en organismos acuáticos**. Tese de Doutorado, Centro de Ciências Ambientais – EULA – Chile, Universidade de Concepción – Chile, 2006.

XAVIER, C.R.; OÑATE, E.; MONDACA, A. M.; CAMPOS, L. J., VIDAL, G. Genotoxic effects of kraft pulp mill effluents treated by biological aerobic systems. **Interciencia**, vol. 36, p. 412 – 416, 2011.

ZILLI, R. P. **Influência do tempo de retenção hidráulica e da velocidade superficial do ar no desempenho de um reator de leito móvel com biofilme (MBBR)**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química – UFSC – Florianópolis – SC, 2013.

ANEXO A

Quadro 2: Soluções utilizadas no meio de cultivo da *Daphnia magna*

Solução	Reagente	Quantidade (mg)	Preparo
1	CaCl ₂ .2H ₂ O	73500	Dissolver e diluir a 1000 mL com água processada
2	MgSO ₄ .7H ₂ O	123300	Dissolver e diluir a 1000 mL com água processada
3	KCl	5800	Dissolver e diluir a 1000 mL com água processada
4	NaHCO ₃	64800	Dissolver e diluir a 1000 mL com água processada
5	MnCl ₂ .4H ₂ O	7210	Dissolver e diluir a 1000 mL com água processada
	LiCl	6120	
	RbCl	1420	
	SrCl ₂ .6H ₂ O	3040	
	CuCl ₂ .2H ₂ O	335	
	ZnCl ₂	260	
6	CoCl ₂ .6H ₂ O	200	Dissolver e diluir a 1000 mL com água processada
	NaNO ₃	548	
	H ₃ BO ₃	5719	
	NaBr	32	
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	126	
	NH ₄ VO ₃	1,15	
7	Na ₂ SeO ₃	4,38	Dissolver e diluir a 1000 mL com água processada, deixando em agitação até o clareamento da solução
	NaSiO ₃	21465	
8	Na ₂ EDTA.7H ₂ O	500 mg	Dissolver e diluir a 1000 mL com água processada. Preparar as soluções separadamente, cada uma em 500 mL de água processada. Misturar as duas soluções e autoclavar imediatamente a 121 °C por 15 min
	FeSO ₄ .7H ₂ O	199,1 mg	
9	KH ₂ PO ₄	286 mg	Dissolver e diluir a 1000 mL com água processada
	K ₂ HPO ₄	368 mg	
	Hidrocloreto de tiamina	750 mg	
10	Cianocobalamina (vitamina B12)	10 mg	Dissolver e diluir a 1000 mL com água processada. Congelar em volume adequado para uso
	D (+) Biotina	7,5 mg	

Adaptado de Knie e Lopes (2004) e NBR 12713 (ABNT, 2009)

ANEXO B**Quadro 3:** Composição da água de diluição

Reagente	Quantidade
Solução 1 do meio de cultivo da <i>Daphnia magna</i>	3,2 mL para 1000 mL de solução
Solução 2 do meio de cultivo da <i>Daphnia magna</i>	0,8 mL para 1000 mL de solução
Solução 3 do meio de cultivo da <i>Daphnia magna</i>	0,8 mL para 1000 mL de solução
Solução 4 do meio de cultivo da <i>Daphnia magna</i>	0,8 mL para 1000 mL de solução

ANEXO C**Quadro 3:** Carta controle de sensibilidade para dicromato de potássio dos lotes de cultivo de *D. magna*

Lote	Média de CE₅₀ (mg.L⁻¹)	Desvio Padrão
8	0,70	0,18
19	0,88	0,17
10	1,06	0,15