

# Tratamento de efluente de uma indústria química através do processo eletrolítico visando a diminuição da toxicidade monitorada pelo bioindicador *Saccharomyces cerevisiae*

Gisela Régis<sup>1</sup>  
Ederio D. Bidoia<sup>1</sup>

Recebido em: 12/03/2001  
Aceito em: 30/10/2001

RÉGIS, Gisela et al. Tratamento de efluente de uma indústria química através do processo eletrolítico visando a diminuição da toxicidade monitorada pelo bioindicador *Saccharomyces cerevisiae*. *Salusvita*, Bauru, v. 20, n. 3, p. 43-51, 2001.

## RESUMO

*O tratamento do efluente de uma indústria produtora de antioxidante e antiozonante para borracha foi realizado através da eletrólise com o intuito de diminuir a toxicidade dos resíduos persistentes e recalcitrantes presentes no efluente. A influência de diversos fatores foi estudada, utilizando-se eletrodos de aço. Os resultados obtidos mostraram a diminuição de toxicidade. Os resultados da toxicidade do efluente bruto indicaram que, com o aumento do tempo de eletrólise, o efluente tornou-se menos tóxico ou mais biodegradável. Para as substâncias antiozonantes, Flexzone 3P e Flexzone 7P, houve um aumento da viabilidade celular após os 10 minutos de eletrólise. Para as substâncias antioxidantes, Aminox e Naugard Q, a eletrólise apresentou pouca influência na toxicidade, pois essas substâncias não se mostraram tóxicas ao *Saccharomyces cerevisiae*. Dessa forma, pode-se concluir que o processo eletrolítico permitiu uma diminuição da concentração de substâncias persistentes no efluente tornando-o mais biocompatível ao meio ambiente.*

**Unitermos:** eletrólise, toxicidade, bioindicador, efluente.

<sup>1</sup> Departamento de Bioquímica e Microbiologia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus de Rio Claro.

Rua 8 (oito), nº 1017  
casa 12 –  
Cidade Jardim  
Cep: 13501-050  
Rio Claro – SP  
Fax: (019) 526-4137  
e-mail:  
giselaregis@yahoo.com  
e-mail:  
giselarh@rc.unesp.br

## INTRODUÇÃO

A necessidade de tratamento dos efluentes é a prevenção da poluição e degradação ambiental. No tratamento de águas residuais, alguns pontos críticos, como a detecção e quantificação de contaminantes, a remoção dos materiais poluentes, o tratamento do resíduo e a prevenção de poluição, necessitam de investigações e pesquisas em processos que permitam melhorar os sistemas de efluentes industriais (Smith, 1972).

As águas residuárias das indústrias químicas, normalmente contêm poluentes aromáticos. Estes poluentes, muitas vezes são resistentes à degradação biológica não podendo ser removidos dos efluentes, diminuindo a eficiência do sistema de tratamento da indústria (Chiang et al., 1997). Neste caso, muitas vezes, é necessária a adição de altas doses de agentes químicos, correndo-se o risco de causar poluições secundárias.

Em diversas situações, a utilização da corrente elétrica em células eletrolíticas, tem sido considerada para a eliminação de poluentes contidos em efluentes, contribuindo para o tratamento de certos poluentes industriais orgânicos, mesmo se reconhecendo a dificuldade de se realizar a oxidação total das espécies orgânicas. Todavia, a eletrooxidação de compostos orgânicos pode ter o objetivo de servir como transformadora de compostos persistentes (baixa biodegradabilidade), facilitando, posteriormente, o tratamento através de sistemas biológicos convencionais. Atualmente, sabe-se que uma simples modificação da estrutura molecular pode reduzir consideravelmente a toxicidade, aumentando a biodegradabilidade de um composto. A molécula persistente contém, em geral, em sua estrutura, anéis aromáticos e sua oxidação a transforma em moléculas mais biodegradáveis ou biocompatíveis (Angelis et al., 1998).

A toxicidade de efluentes é avaliada através de bioensaios padronizados com organismos aquáticos usados para indicar as mudanças na qualidade da água. Existem dois tipos de toxicidade a serem avaliados: a toxicidade aguda ou letal e a toxicidade crônica, que mede efeitos letais ou subletais de longo prazo. Koch et al., (1993), após numerosas análises, indicaram as leveduras como um organismo alternativo para os testes de toxicidade aguda frente às drogas e às substâncias químicas ambientais, bem como uma ferramenta nos exames preliminares e sua inclusão na bateria de testes de toxicidade.

As leveduras, organismos eucariotes, são um bom modelo para a avaliação da citotoxicidade. Além disso, são largamente encontradas na natureza, representando um papel importante em vários ecossistemas. Do ponto de vista prático, apresentam vantagens na facilidade do cultivo e manutenção das condições de controle evitando-se, também, os problemas com a variabilidade encontrada em organismos complexos (Soares & Calow, 1993).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é um dos microrganismos mais bem estudados e caracterizados do planeta. Têm sido utilizadas, em variados estudos, como um excelente modelo de eucariótico e para os es-

RÉGIS, Gisela et al. Tratamento de efluente de uma indústria química através do processo eletrolítico visando a diminuição da toxicidade monitorada pelo bioindicador *Saccharomyces cerevisiae*. *Salusvita*, Bauru, v. 20, n. 3, p. 43-51, 2001.

RÉGIS, Gisela et al. Tratamento de efluente de uma indústria química através do processo eletrolítico visando a diminuição da toxicidade monitorada pelo bioindicador *Saccharomyces cerevisiae*. *Salusvita*, Bauru, v. 20, n. 3, p. 43-51, 2001.

tudos das formas e funções das mitocôndrias. Por todos esses fatores, a *Saccharomyces cerevisiae* tem sido largamente utilizada nos setores biotecnológicos como um condutor de clonagem (único ou multicópias), segundo Schreuder et al., (1996).

Este trabalho teve por objetivo reduzir a toxicidade do efluente de uma indústria química produtora de antioxidante e antiozonante para borracha através das transformações moleculares causadas pelo processo eletrolítico. O controle da toxicidade foi monitorado pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que é um bom modelo para a avaliação da citotoxicidade. Além disso, é largamente encontrada na natureza, representando um papel importante em vários ecossistemas. Do ponto de vista prático, apresenta vantagens na facilidade do cultivo e manutenção das condições de controle, evitando-se, também, os problemas com a variabilidade encontrada em organismos complexos, segundo Soares & Calow (1993).

## MATERIAL E MÉTODO:

### 1. Efluente

O efluente eletrolisado foi o de uma indústria química de antioxidante e antiozonante para borracha retirado do efluente bruto, isto é, antes do tratamento biológico convencional. Além deste, foram simulados os efluentes com as aminas aromáticas como n-fenil-n-isopropil-p-fenilendiamina (nome comercial, FLEXZONE 3P), n-fenil-n'-1,3-dimetilbutil-p-fenilendiamina (nome comercial, FLEXZONE 7P) e com os antioxidantes como o 1,2-dihidro-2,2,4-trimetilquinoleína polimerizada (nome comercial, NAUGARD Q) e o AMINOX (nome comercial), sem nomenclatura oficial conhecida, que é o produto da reação da acetona e da difenilamina. A cada eletrólise eram utilizados 40 ml do efluente ou solução com cinco repetições para cada tempo.

### 2 Processo Eletrolítico

O sistema experimental consistiu de uma fonte de corrente contínua (Dawer), modelo FCC-3005D conectado a um conjunto de eletrodos de aço composto de baixa concentração de metais pesados determinada por espectrofotometria de absorção atômica, em porcentagem em massa: alumínio - 0,0560, antimônio - 0,0023, carbono - 0,0655, cério - 0,0001, chumbo - 0,0014, cobre - 0,0111, enxofre - 0,0120, estanho - 0,0385, ferro - 99,5050, fósforo - 0,0097, manganês - 0,2340, molibdênio - 0,0058, níquel - 0,0270, silício - 0,0068, titânio - 0,0005, tungstênio - 0,0089 e vanádio - 0,0004.

O eletrodo era formado por duas placas de aço separadas de 15 mm, por um parafuso de Nylon<sup>®</sup>.

Durante a eletrólise, o eletrodo foi mergulhado numa cuba eletrolítica, que continha 40 ml do efluente ou solução, sob agitação constante em sistema estacionário (tipo batelada), isto é, após cada tempo de eletrólise, o efluente ou solução eram substituídos. O processo foi repetido cinco vezes para cada tempo de eletrólise. A corrente contínua aplicada foi de 0,5 A e a tensão elétrica variou de 7,0 V a 8,0 V. A tensão elétrica foi registrada durante as eletrólises diretamente na fonte de corrente.

A temperatura foi medida nos efluentes após a eletrólise e ficou em torno de 25°C a 28°C variação numa taxa de 3,6°C h<sup>-1</sup>. O aumento de temperatura observado não causou alteração na viabilidade de microrganismos ou nas propriedades químicas do efluente.

Determinou-se a condutividade do efluente bruto e dos efluentes simulados eletrólizados após cada tempo ficando em torno de 5,7 a 6,0 mS/cm e o pH 5,6 a 6,4. A DBO do efluente bruto era de 205,8 para 95,6 mg/L e a DQO de 12901 para 374,3 mg/L.

Após eletrólise, foram retiradas alíquotas de 10 ml para cada tempo de eletrólise para a realização do teste de toxicidade (repetição de 5 vezes).

### 3. Microrganismo

Para o teste de toxicidade, foi escolhido o microrganismo *Sacharomyces cerevisiae*. As leveduras foram cultivadas a partir da purificação das leveduras contidas em fermento biológico Fleischmann Royal<sup>®</sup> de uso comercial.

O meio de cultura usado para o crescimento e contagem das unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) da levedura *S. cerevisiae* foi o agar extrato de levedura peptona dextrose "YEPD", formulado segundo Lodder (1971).

RÉGIS, Gisela et al. Tratamento de efluente de uma indústria química através do processo eletrolítico visando a diminuição da toxicidade monitorada pelo bioindicador *Saccharomyces cerevisiae*. *Salusvita*, Bauru, v. 20, n. 3, p. 43-51, 2001.

RÉGIS, Gisela et al. Tratamento de efluente de uma indústria química através do processo eletrolítico visando a diminuição da toxicidade monitorada pelo bioindicador *Saccharomyces cerevisiae*. *Salusvita*, Bauru, v. 20, n. 3, p. 43-51, 2001.

#### 4 Purificação das leveduras

A purificação foi realizada através da suspensão e homogeneização de 1 grama de fermento biológico em 200 ml de solução salina 0,85% esterilizada. A partir dessa suspensão fizeram-se diluições e posterior inoculação em placas de Petri, com meio YEPD. As placas foram incubadas a 34°C durante 72 h.

Após esse período, as colônias de leveduras escolhidas foram retiradas e ressuspensas em 10 ml de solução salina 0,85% esterilizada. Aliquotas de 2 ml dessa solução foram colocadas em erlenmeyers que continham 100 ml de meio YEPD líquido. Essa cultura foi mantida no homogeneizador a 150 oscilações/min durante 24 h obtendo-se assim células de leveduras viáveis.

As culturas foram então centrifugadas a 5.000 rpm por 15 min. O sedimento foi lavado em água destilada esterilizada e ressuspensão em 300 mL de água destilada esterilizada. Dessa forma as células estavam prontas para serem inoculadas no efluente eletrolisado.

#### 5. Teste de toxicidade

Para avaliar a toxicidade biológica do efluente bruto, antes e após o processo eletrolítico, foi utilizado o microrganismo *S. cerevisiae* que é um bioindicador de fácil obtenção, resistente a soluções ácidas e que possui parede celular mais resistente que a das bactérias.

A toxicidade foi avaliada através da viabilidade celular do microrganismo *S. cerevisiae* nos efluentes brutos eletrolisados (nos diferentes tempos) e não eletrolisados, e nos efluentes simulados que continham as aminas aromáticas (Flexzone 7P e 3P) e os antioxidantes (Aminox e Naugard Q), eletrolisados nos diferentes tempos e não eletrolisados.

Para isso, foram feitas soluções de diferentes concentrações volumétricas com 1,0 ml da suspensão, que continha os microrganismos, para 9,0 ml da solução estudada, em cada tempo de eletrólise. Os tubos foram, então, homogeneizados e incubados a 28°C por 48 h.

Decorrido esse tempo, procedeu-se à contagem das células, coradas com eritrosina B em câmara de Neubauer, determinando-se, assim, a viabilidade celular. A toxicidade em porcentagem foi obtida considerando a viabilidade celular total igual a 100%.

## RESULTADOS

### Toxicidade do Efluente Bruto

Os resultados da toxicidade do efluente bruto indicaram que, com o aumento do tempo de eletrólise, o efluente tornou-se menos tóxico ou mais biodegradável, pois uma maior contagem de células viáveis foi determinada, conforme pode ser observado na FIGURA 1. Após 20 min não foi observado efeito tóxico ao *S. cerevisiae*.

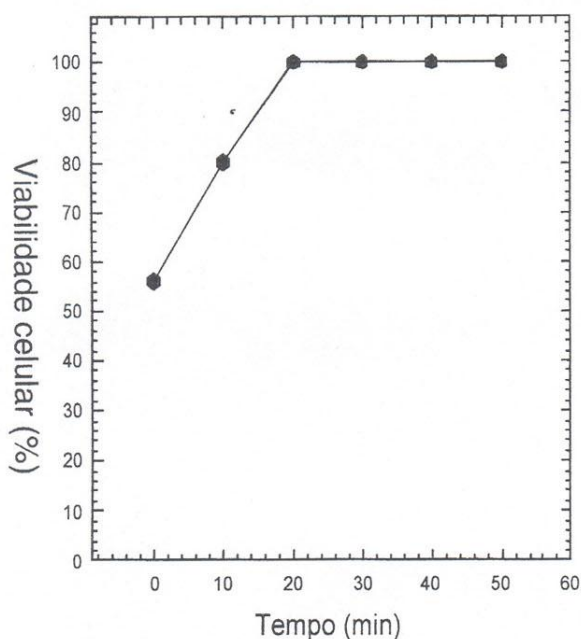


FIGURA 1 – Representação da viabilidade celular para o microrganismo *S. cerevisiae* em função do tempo de eletrólise para o efluente bruto.

### Toxicidade dos Efluentes Simulados

O ensaio de toxicidade permitiu observar o comportamento do processo eletrolítico como forma de diminuir as substâncias tóxicas e persistentes em substâncias mais biodegradáveis.

Para avaliar a toxicidade biológica o *S. cerevisiae* foi inoculado no efluente simulado, que continha amina aromática (Flexzone 3P e Flexzone 7P) e antioxidante (Aminox e Naugard Q) antes e após as eletrólises, nos tempos de 10, 20, 30, 40 e 50 min, determinando-se, assim, sua viabilidade celular.

No caso do Flexzone 3P, a FIGURA 2 mostra que a viabilidade celular aumentou com o tempo de eletrólise. Isto porque as substâncias persistentes na composição do Flexzone 3P utilizadas no preparo do efluente simulado foram se tornando mais biodegradáveis devido à ele-

RÉGIS, Gisela et al. Tratamento de efluente de uma indústria química através do processo eletrolítico visando a diminuição da toxicidade monitorada pelo bioindicador *Saccharomyces cerevisiae*. *Salusvita*, Bauru, v. 20, n. 3, p. 43-51, 2001.

RÉGIS, Gisela et al. Tratamento de efluente de uma indústria química através do processo eletrolítico visando a diminuição da toxicidade monitorada pelo bioindicador *Saccharomyces cerevisiae*. *Salusvita*, Bauru, v. 20, n. 3, p. 43-51, 2001.

trolise e os subprodutos resultantes apresentaram menor toxicidade ao *S. cerevisiae*, ou seja, tornaram-se mais biocompatíveis.

Para a substância Flexzone 7P, os resultados mostraram que houve um grande aumento da toxicidade para o *S. cerevisiae* nos primeiros 10 min. Possivelmente, ocorreu uma transformação da estrutura molecular, de forma que os subprodutos resultantes apresentaram maior toxicidade ao *S. cerevisiae*. Mas, após os 10 min, observou-se um aumento da viabilidade celular mostrando a formação de um outro subproduto, agora menos tóxico e compatível para o microrganismo (FIGURA 2) em tempos maiores de eletrólise.

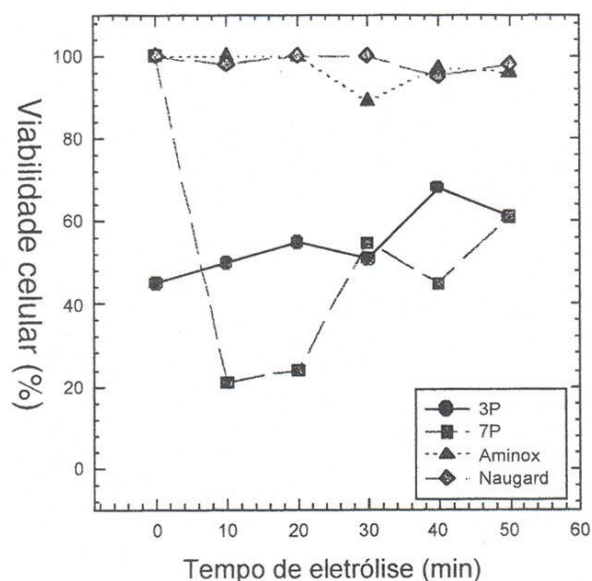


FIGURA 2 – Viabilidade celular para o microrganismo *S. cerevisiae* em função do tempo de eletrólise para as substâncias químicas Flexzone 3P, Flexzone 7P, Aminox e Naugard Q.

A substância Aminox comportou-se de forma similar a Flexzone 7P. Entretanto, o aumento de toxicidade aos 30 min foi muito pequeno e, posteriormente, a toxicidade diminuiu com o aumento do tempo de eletrólise (FIGURA 2).

A substância Naugard Q não apresentou aumento de toxicidade e foi indiferente para o microrganismo *S. cerevisiae* em qualquer tempo de eletrólise (FIGURA 2).

Os resultados de toxicidade para as substâncias antioxidantes Aminox e Naugard Q mostraram que a eletrólise apresenta pouca ou nenhuma influência na diminuição ou aumento da toxicidade, pois essas duas substâncias não se mostraram tóxicas ao *S. cerevisiae*.

## DISCUSSÃO

A viabilidade celular para o efluente bruto aumentou com o tempo de eletrólise, devido ao efluente ter se tornado menos tóxico. Ribeiro et al. (2000) avaliaram a toxicidade dos fungicidas penconazol, cymoxanil e dichlofluamid, utilizando as leveduras *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia anomala*, *Candida utilis*, *Schizosaccharomyces pombe* e *Saccharomyces cerevisiae* como bioindicadores. As leveduras que exibiram uma maior sensibilidade aos fungicidas foi a *C. utilis* e *S. cerevisiae*. Os autores sugerem que as leveduras podem ser aplicadas para a quantificação da toxicidade e exploradas como uma alternativa para os testes complementares aos estudos da toxicidade.

As substâncias persistentes na composição do Flexzone 3P tornaram-se mais biodegradáveis após a eletrólise. Os subprodutos resultantes tornaram-se mais biocompatíveis aos microrganismos. Atualmente, sabe-se que uma simples modificação da estrutura molecular pode reduzir consideravelmente a toxicidade, aumentando a biodegradabilidade de um composto. A molécula persistente contém, em geral, em sua estrutura anéis aromáticos e sua oxidação a transforma em moléculas mais biodegradáveis ou biocompatíveis (Angelis et al., 1998).

Para as substâncias antioxidantes, Aminox e Naugard Q, a eletrólise apresentou pouca ou nenhuma influência na diminuição ou aumento da toxicidade, pois estas duas substâncias praticamente não se mostraram tóxicas ao *S. cerevisiae*.

O Flexzone 7P, após 10 min de eletrólise, mostrou-se tóxico para os microrganismos, no entanto, esta toxicidade foi diminuindo com o aumento do tempo de eletrólise.

Pode-se concluir que o processo eletrolítico é um método eficaz no tratamento de efluentes, pois acelera a biodegradabilidade, provavelmente transformando as substâncias persistentes, presentes em águas residuárias de indústria produtora de antioxidante para borracha, em substâncias menos tóxicas, e, portanto, mais biocompatíveis ao meio ambiente. Moraes (2000) também observou esses efeitos do processo eletrolítico em efluente de refinaria de petróleo e os seus resultados levam as mesmas conclusões de que o tratamento eletrolítico reduz significativamente a toxicidade de alguns efluentes.

## AGRADECIMENTOS

Trabalho desenvolvido com o auxílio da CAPES.

RÉGIS, Gisela et al. Tratamento de efluente de uma indústria química através do processo eletrolítico visando a diminuição da toxicidade monitorada pelo bioindicador *Saccharomyces cerevisiae*. *Salusvita*, Bauru, v. 20, n. 3, p. 43-51, 2001.



RÉGIS, Gisela et al. Tratamento de efluente de uma indústria química através do processo eletrolítico visando a diminuição da toxicidade monitorada pelo bioindicador *Saccharomyces cerevisiae*. *Salusvita*, Bauru, v. 20, n. 3, p. 43-51, 2001.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ANGELIS, D. F.; CORSO, C. R.; MORAES, P. B.; DOMINGOS, R. N.; ROCHA -FILHO, R.C.; BIDOIA, E. D. – Eletrólise de Resíduos Poluídos – I Efluente de uma indústria liofilizadora de condimentos. *Química Nova*, v. 21, n. 1, p. 20-24, 1998.
- 2 CHIANG, L. C.; CHANG, J. E.; TSENG, S. C. Electrochemical oxidation pretreatment of refractory organic pollutants. *Water Science Tech.* v. 36, n. 1-2, p. 123-30, 1997.
- 3 KOCH, H. P.; HOFENEDER, M.; BOHNE, B. The yeast tests: an alternative method for the testing of acute toxicity of drug substances and environmental chemicals. *Methods Find Clin. Pharmacology*, v. 15, p. 141-52, 1993.
- 4 LODDER, J. *The Yeast: A Taxonomic Study*. Dublin: North Holland Publishing, 1971. 1385 p.
- 5 MORAES, P. B. *Aplicação do Processo Eletrolítico em Efluente de Refinaria de Petróleo e Efluente Simulado Utilizando Eletrodos de Ti/RuO<sub>2</sub> e Eletrodo de Ferro Fundido*. Rio Claro, 2000. 95 p. Dissertação (Mestrado em Geociências) – Instituto de Geociências, Universidade Estadual Paulista, 2000.
- 6 RIBEIRO, I. C.; VERRÍSSIMO, I.; MONIZ, L.; CARDOSO, H.; SOUSA, M. J.; SOARES, A.M. V. M.; LEÃO, C. Yeasts as a model for assessing the toxicity of the fungicides Penconazol, Cymoxanil and Dichlofluanid. *Chemosphere*, v. 41, p. 1637-42, 2000.
- 7 SCHREUDER, M. P.; MOOREN, T. A.; TOSCHKA, H. Y.; VERRIPS, C. T.; KLIS, F. M. “Immobilizing proteins on the surface of yeast cells. *Trends in Biotechnology*, v. 14, p. 115-20, 1996.
- 8 SMITH, E. C. Waste water treatment through electrochemistry. *Applications of New Concepts of Physical-Chemical Wastewater Treatment*, p. 325-34, September 18-22, 1972.
- 9 SOARES, A. M. V. M.; CALOW, P. Seeking standardization in ecotoxicology. In: SOARES, A.M.V.M.; CALOW, P. *Progress in Standardization of Aquatic Toxicity Tests*. Londres: Lewis, 1993.