

Universidade Estadual de Campinas - Unicamp

Faculdade de Engenharia de Alimentos

Departamento de Ciências de Alimentos

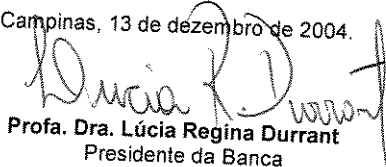
**ESTUDO DO TRATAMENTO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE
INDÚSTRIA DE PROCESSO DE ÓLEOS PELO SISTEMA DE LODO
ATIVADO COM A ADIÇÃO DE MICRORGANISMO PRODUTOR DE
BIOSSURFACTANTE**

PARECER

Este exemplar corresponde à
redação final da tese defendida por
Everly Herr Sobreira, provado
pela Comissão Julgadora em 13 de
dezembro de 2005.

Mestranda: Everly Herr Sobreira

Campinas, 13 de dezembro de 2004.


Profa. Dra. Lúcia Regina Durrant
Presidente da Banca

Orientadora: Profª Lúcia Regina Durrant

Campinas, 31 de outubro de 2004

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTO

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**ESTUDO DO TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE INDÚSTRIA DE
PROCESSO DE ÓLEOS PELO SISTEMA DE LODO ATIVADO COM ADIÇÃO DE
MICRORGANISMO PRODUTOR DE BIOSSURFACTANTE**

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T/UNICAMP
	So12e
V	EX
TOMBO BC/	63191
PROC.	16-0-00086-05
C	☐
D	☒
PREÇO	11,00
DATA	15/04/05
Nº CPD	

Bibid 348421

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

So12e

Sobreira, Everly Herr

Estudo do tratamento de água residuária de indústria de processo de óleos pelo sistema de lodo ativado com adição de microrganismo produtor de biossurfactante / Everly Herr Sobreira. – Campinas, SP: [s.n.], 2004.

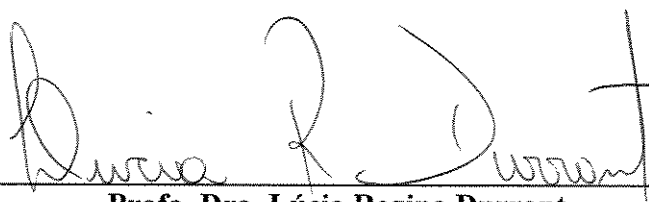
Orientador: Lúcia Regina Durrant

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

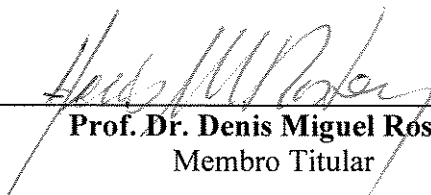
1.Biossurfactante. 2.Lodo ativado. 3.Kocuria rhizophila.
4.Água residuária. I.Durrant, Lúcia Reigna. II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.
III.Título.

cars-fea

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Lúcia Regina Durrant
Orientadora



Prof. Dr. Denis Miguel Roston
Membro Titular



Dr. Alexandre Nunes Ponezzi
Membro Titular

Prof. Dr. Edson Aparecido Abdul Nour
Membro Suplente

O deserto se alegrará, e crescerão flores nas terras secas; cheio de flores, o deserto cantará de alegria. Deus o tornará tão belo como os montes Líbanos, tão fértil como o monte Carmelo e o vale de Sharom. Todos verão a glória do Senhor, verão a grandeza do nosso Deus. Fortaleçam as mãos cansadas, dêem firmeza aos joelhos fracos.

Digam os desanimados: “Não tenham medo; animem-se, pois o nosso Deus está aqui. Ele vem para nos salvar, ele vem para castigar os nossos inimigos”. Então os cegos verão, e os surdos ouvirão; os aleijados pularão e dançarão, e os mudos cantarão de alegria. Pois fontes brotarão no deserto, e rios correrão pelas terras secas. A areia quente do deserto virará um lago, e haverá muitas fontes nas terras secas. Os lugares onde agora vivem os animais do deserto virarão brejos onde crescerão taboas e juncos.

Haverá ali uma estrada que se chama de “Caminho da Santidade”. Nela, não caminharão os impuros, pois ela pertence somente ao povo de Deus. Até todos andarão nela e não se perderão. Nesse caminho, não haverá leões, animais selvagens não passarão por ele; ali andarão somente os salvos. Aqueles a quem o Senhor salvar voltarão para a casa, voltarão cantando para Jerusalém e ali viverão felizes para sempre. A alegria e a felicidade os acompanharão, e não haverá mais tristeza nem choro.

(Isaías 35)

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado a todos que usufruírem dele para seus estudos e pesquisas.

AGRADECIMENTOS

A Deus que nos capacita para desenvolver nosso trabalho.

Ao Prof. Dr. Ranulfo Monte Alegre que ajudou a elaborar este projeto.

Ao meu marido, Hugo, que incentivou nas horas mais difíceis deste projeto e me ensinou a trabalhar melhor com o editor de texto e pelo amor a mim dedicado.

Aos meus pais, José e Lúcia, que nunca mediram esforços para que minha formação fosse possível, sempre me apoiaram em meus sonhos e projetos.

Aos amigos com os quais eu reparti um pedaço da minha história e fizeram o tempo de academia realmente precioso.

Aos colegas de trabalho, em especial ao Maurício Rigo que me ajudou com boas sugestões e com apoio ao meu trabalho.

A Prof. Dra. Lúcia Regina Durrant que possibilitou o meu mestrado em me aceitar como orientada.

Ao Departamento de Ciências de Alimentos que propiciou a ampliação do meu conhecimento e a oportunidade deste mestrado.

A Universidade Estadual de Campinas – Unicamp a qual me deu a formação tanto na graduação quanto na pós-graduação.

A Fapesp que possibilitou que o projeto fosse desenvolvido e o meu sustento neste período.

Ao Abatedouro de Aves Pena Branca que forneceu o Lodo Ativado da qual foi isolada a bactéria utilizada no projeto.

A Ceralit que forneceu o Lodo Ativado e a Água residuária para o desenvolvimento do projeto.

ÍNDICE

SUMÁRIO	1
1 INTRODUÇÃO	3
2 OBJETIVO	4
3 JUSTIFICATIVA	4
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
4.1. BIOSURFACTANTES	5
4.1.1 Introdução	5
4.1.2 Produção de biossurfactantes	7
4.1.2 Aplicações dos biossurfactantes	10
4.1.3 Bactéria produtora de biossurfactante: isolamento e identificação	13
4.1.4 Efeito de ácido e surfactantes no tratamento para a desidratação e estabilização do lodo ativado	14
4.2 LODO ATIVADO	16
4.2.1 Sistema de lodo ativado operado em batelada	16
4.2.2 Biodiversidade em Plantas do Sistema de Lodo Ativado	17
4.2.3 Modelagem de Ecossistemas	18
4.2.4 Produção de espuma	19
4.2.5 Intumescimento filamentoso	21
4.2.6 Formação de floco	23
4.2.7 Propriedades hidrofóbicas e hidrofílicas de substâncias exopoliméricas do lodo ativado	23
5 MATERIAL E MÉTODO	25
5.1 INTRODUÇÃO	25
5.2 ISOLAMENTO E SELEÇÃO DE MICRORGANISMO PRODUTOR DE BIOSURFACTANTE A PARTIR DE ÁGUA RESIDUÁRIA - EXPERIMENTO 1	25
5.2.1 Isolamento de microrganismos a partir de água residuária de abatedouro de aves e de indústria de processamento de óleos assim como do solo desta.	25
5.2.2 Metodologia Analítica	26
5.3 TRATAMENTO DE ÁGUA RESIDUÁRIA ORIGINADA DE INDÚSTRIA DE PROCESSAMENTO DE ÓLEOS POR SISTEMA DE LODOS ATIVADOS EM BATELADA ÚNICA - EXPERIMENTO 2	28
5.4 TRATAMENTO DE ÁGUA RESIDUÁRIA ORIGINADA DE INDÚSTRIA DE PROCESSAMENTO DE ÓLEOS POR SISTEMA DE LODO ATIVADO COM ADIÇÃO DE BACTÉRIA PRODUTORA DE BIOSURFACTANTE - EXPERIMENTO 3	28
5.4.1 Fermentação Primária	28
5.4.2 Fermentação Secundária	28
5.4.3 Estudo do Tratamento	29
5.5 ÁGUA RESIDUÁRIA ORIGINADA DE INDÚSTRIA DE PROCESSAMENTO DE ÓLEOS PRÉ-TRATADA ATRAVÉS DA FERMENTAÇÃO POR BACTÉRIA PRODUTORA DE	

BIOSSURFACTANTE E POSTERIORMENTE TRATADA POR SISTEMA DE LODO ATIVADO - EXPERIMENTO 4.....	29
5.5.1 Metodologia Analítica.....	30
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
6.1 ISOLAMENTO E SELEÇÃO DE MICROORGANISMO PRODUTOR DE BIOSURFACTANTE - EXPERIMENTO 1.....	32
6.1.1 Isolamento dos microrganismos.....	32
6.1.2 Seleção dos microrganismos	32
6.1.3 Análise e Identificação do Microrganismo Denominado LPB14 Isolado de Água Residuária de Abatedouro de aves e Seleccionado pela Produção de Biosurfactante.....	35
6.2 ESTUDO DO TRATAMENTO DE ÁGUA RESIDUÁRIA TRATADA PELO SISTEMA DE LODOS ATIVADOS	38
6.2.1 Tratamento de Água Residuária Originada de Indústria de Processamento de Óleos pelo Processo de Lodos Ativados - Grupo Controle (2)	39
6.2.2 Avaliação da Eficiência do Tratamento da Água Residuária pelo Sistema de Lodos Ativados - Experimento 2.....	47
6.2.3 Estudo do tratamento de água residuária tratada pelo sistema de lodos ativados com a adição da bactéria produtora de biosurfactante <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> do Experimento 3.....	60
6.2.4 Estudo do tratamento de água residuária tratada pelo sistema de lodos ativados com a adição da bactéria produtora de biosurfactante <i>Kokuria rhizophila kovacs</i>	66
6.2.5 Estudo do tratamento de água residuária de indústria de processamento de óleos com adição do sobrenadante da água residuária fermentada pela bactéria produtora de biosurfactante <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> ao sistema de lodo ativado - Experimento 4.....	78
6.2.6 Resultados e discussão entre os Experimentos 2, 3 e 4:	95
7 CONCLUSÃO.....	99
8 SUGESTÕES PARA PRÓXIMAS PESQUISAS	99
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100

ÍNDICE DAS TABELAS

Tabela 1 - Com adição de cultura de bactéria produtora de biossurfactante no tratamento da água residuária de indústria de processamento de óleos por lodo ativado, em 4,0 L de volume total em reator batelada com capacidade para 6,0 L.	29
Tabela 2 - Água residuária de indústria de processamento de óleos fermentada por bactéria produtora de biossurfactante e posteriormente tratada por lodo ativado. Volume total de 4,0 L em reator batelada com capacidade para 6,0 L.	30
Tabela 3 - Atividade emulsificante (AE) em relação à AE de <i>Bacillus</i> sp do produto da fermentação por microorganismos selecionados pela produção de biossurfactante em 24h. Fermentação em meio OYP, VYP e GYP microorganismos isolados a partir de água residuária de abatedouro de aves.	33
Tabela 4 - Atividade emulsificante (AE) em relação à AE de <i>Bacillus</i> sp do produto da fermentação por microorganismos selecionados pela produção de biossurfactante em 24h. Fermentação em meio OYP, VYP e GYP microorganismos isolados a partir de solo de indústria de processamento de óleos.	33
Tabela 5 - Atividade emulsificante (AE) em relação à AE de <i>Bacillus</i> sp do produto da fermentação por microorganismos selecionados pela produção de biossurfactante em 24h. Fermentação em meio OYP, VYP e GYP microorganismos isolados a partir de água residuária de indústria de processamento de óleos.	34
Tabela 6 - Fermentação em água residuária AR1 e AR2 do Experimento 1.	34
Tabela 7 - Valores Medidos da DQO no Período de 24h do Experimento 2.	47
Tabela 8 - Valores dos Coeficientes da Curva Descrita pelo Ln DQO do Experimento 2.	48

Tabela 9 - Razão DQOn/DQOi em Função do Tempo no Experimento 2	52
Tabela 10 - Medidas de Massa Celular Seca (g/L) do Experimento 2	58
Tabela 11 - Valores Medidos do pH no Experimento 2	59
Tabela 12 - Valores Medidos da Concentração de DQO do Experimento 3.....	66
Tabela 13 – Valores da Razão DQOn/DQOi do Experimento 3	67
Tabela 14 - Valores de Massa Celular Seca (g/l) do Experimento 3	77
Tabela 15 - Valores Medidos do pH do Experimento 3	78
Tabela 16 - Valores Medidos das Concentrações da DQO do Experimento 4.....	83
Tabela 17 - Valores dos coeficientes da curva descrita pelo Ln DQO do Experimento 4	84
Tabela 18 - Razão DQOn/DQOi em função do tempo do Experimento 4.....	88
Tabela 19 - Massa Celular Seca – MCS - (g/L) do Experimento 4	88
Tabela 20 - Valores Medidos do pH do Experimento 4	95
Tabela 21 – Eficiência da remoção da DQO pelos experimentos do Grupo A	97
Tabela 22 – Eficiência da remoção da DQO pelos experimentos do Grupo B	97
Tabela 23 – Eficiência da remoção da DQO pelos experimentos do Grupo C	98
Tabela 24– Eficiência da remoção da DQO pelos experimentos do Grupo D	98

ÍNDICE DAS FIGURAS

Figura 1 - Atividade emulsificante de microorganismos em diferentes meios de cultura	35
Figura 2 - Árvore filogenética baseada na análise de seqüências parciais de RNAr 16S da amostra LPB14 e linhagens de <i>Kokuria kristinae</i> , <i>Kokuria palustris</i> , <i>Kokuria rhizophila</i> , <i>Kokuria varians</i> e <i>Arthrobacter globiformis</i> , sendo que esta última foi utilizada como “outgroup”.	37
Figura 3 - Sequenciamento parcial do DNAr 16S da amostra analisada.	38
Figura 4 - Micrografia do lodo ativado antes de ser adicionado ao um experimento, coletado no ponto de recirculação do lodo.	41
Figura 5 - Micrografia do lodo ativado (LA) no tempo igual a 0 h, aumento 40x - experimento 2.D.	42
Figura 6 - Micrografia do lodo ativado (LA) no tempo igual a 0 h, aumento 100x - experimento 2.D.	43
Figura 7 - Micrografia do lodo ativado (LA) no tempo igual a 0h, aumento 400x - experimento 2.D.	44
Figura 8 - Micrografia do lodo ativado (LA) no tempo igual a 2h; experimento 2.D..	45
Figura 9 - Micrografia do lodo ativado (LA) no tempo igual a 24h; experimento 2.D.	46
Figura 10 - Ln DQO em função do tempo do Experimento 2.A -1.	48
Figura 11 - Ln DQO em função do tempo do Experimento 2.B -1.	49
Figura 12 - Ln DQO em função do tempo do Experimento 2.B-3.	49

Figura 13 - Ln DQO em função do tempo do Experimento 2.C-2.	50
Figura 14 - Ln DQO em função do tempo do Experimento 2.C -3.	50
Figura 15 - Ln DQO em função do tempo do Experimento 2.D -1.	51
Figura 16 - Ln DQO em função do tempo do Experimento 2.D -3.	51
Figura 17 - Razão de concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Experimento 2.A-1.	53
Figura 18 - Razão de concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Experimento 2.B-1.	54
Figura 19 - Razão de concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Experimento 2.B-3.	54
Figura 20 - Razão de concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Experimento 2.C-2.	55
Figura 21 - Razão de concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Experimento 2.C-3.	56
Figura 22 - Razão de concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos	

valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Experimento 2.D-1.....	57
Figura 23 - Razão de concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Experimento 2.D-3.....	57
Figura 24 - Micrografias do lodo ativado depois da adição da cultura de <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> , no tempo igual a 0h. A formação do lodo apresenta “núcleos” bastante concentrados e tamanho bastante reduzidos, da ordem de 25 µm. Aumento de 40x. Experimento 3.....	62
Figura 25 - Micrografias do LA depois da adição da cultura de <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> , no tempo igual a 0h. Parece não haver estrutura de floco bem definida quanto ao tamanho, o LA apresenta um aspeto mucilaginoso Aumento de 100x.	63
Figura 26 - Micrografias do lodo ativado depois da adição da cultura de <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> , no tempo igual a 0h. Aumento de 400x.....	64
Figura 27 - Micrografias do lodo ativado depois da adição da cultura de <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> , no tempo igual a 24h.....	65
Figura 28 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 2,5% de bactéria produtora de biossurfactante <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> em 50% de lodo ativado e 47,5% de água residuária. Experimento 3.A-1.....	68
Figura 29 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo. Tratamento com adição de 2,5% de bactéria produtora de biossurfactante <i>Kokuria</i>	

rhizophila kovacs em 50% de lodo ativado e 47,5% de água residuária. Experimento 3.A-2..... 69

Figura 30 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 2,5% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 47,5% de água residuária. Experimento 3.A-3..... 69

Figura 31 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 2,5% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 47,5% de água residuária. Experimento 3.A-4..... 70

Figura 32 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo - Tratamento com adição de 2,0% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 48% de água residuária. Experimento 3.B-1. 71

Figura 33 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo - Tratamento com adição de 2,0% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 48% de água residuária. Experimento 3.B-2. 71

Figura 34 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com

respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 2,0% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 48% de água residuária. Experimento 3.B-3. 72

Figura 35 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 2,75% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 47,25% de água residuária. Experimento 3.C-1..... 73

Figura 36 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 2,75% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 47,25% de água residuária. Experimento 3.C-2..... 73

Figura 37 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 2,75% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 47,25% de água residuária. Experimento 3.C-3..... 74

Figura 38 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 3,0% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 47% de água residuária. Experimento 3.D-1..... 75

Figura 39 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 3,0% de bactéria produtora de biossurfactante <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> em 50% de lodo ativado e 47% de água residuária. Experimento 3.D-2.....	75
Figura 40 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 3,0% de bactéria produtora de biossurfactante <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> em 50% de lodo ativado e 47% de água residuária. Experimento 3.D-3.....	76
Figura 41 - Micrografias do lodo ativado após a adição da água residuária fermentada pela <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> no tempo igual a 0h. Experimento 4.D-1.	80
Figura 42 - Micrografias do lodo ativado depois da adição da água residuária ter sido fermentada pela <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> , no tempo igual a 2h. Experimento 4.D-2.	81
Figura 43 - Micrografias do lodo ativado depois da adição da água residuária ter sido fermentada pela <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> . Experimento 4.D-2.	82
Figura 44 - Ln DQO em função do tempo – Experimento 4.A-1.	84
Figura 45 - Ln DQO em função do tempo – Experimento 4.A-2.	85
Figura 46 - Ln DQO em função do tempo – Experimento 4.B-1.	85
Figura 47 - Ln DQO em função do tempo – Experimento 4.C-2.	86
Figura 48 - Ln DQO em função do tempo – Experimento 4.C-3.	86
Figura 49 - Ln DQO em função do tempo – Experimento 4.D-1.	87

Figura 50 - Ln DQO em função do tempo – Experimento 4.D-3.	87
Figura 51 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com prévia fermentação da água residuária por <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> . Experimento 4.A-1.....	89
Figura 52 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com prévia fermentação da água residuária por <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> . Experimento 4.A-2.....	90
Figura 53 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com prévia fermentação da água residuária por <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> . Experimento 4.B-1.....	91
Figura 54 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com prévia fermentação da água residuária por <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> . Experimento 4.C-2.....	92
Figura 55 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com prévia fermentação da água residuária por <i>Kokuria rhizophila kovacs</i> . Experimento 4.C-3.....	92

Figura 56 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria e processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com prévia fermentação da água residuária por *Kokuria rhizophila kovacs*. Experimento 4.D-1.....93

Figura 57 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria e processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com prévia fermentação da água residuária por *Kokuria rhizophila kovacs*. Experimento 4.D-3.....94

Sumário

O sistema de lodo ativado (SLA) tem como principal aplicação o tratamento de esgotos urbanos, mas também tem sido utilizado no tratamento de água residuária (AR) industrial. O SLA consiste em um ecossistema de microrganismos e animais inferiores selecionados e adaptados à água a ser tratada, tendo uma composição característica de bactérias, leveduras, protozoários e nematóides.

No tratamento por meio de SLA de AR rica em compostos hidrofóbicos introduziu-se uma bactéria isolada de AR de abatedouro de aves selecionada pela produção de biossurfactante, *Kokuria rhizophila kovacs*, para o estudo do aumento da eficiência da remoção de carga poluidora através do aumento da disponibilidade do substrato aos microrganismos do LA. Este aumento de substrato foi obtido por meio da diminuição da tensão superficial devida aos compostos hidrofóbicos. A produção de biossurfactante foi medida através do coeficiente de emulsão em espectrofotômetro a 600nm.

Foram adicionadas alíquotas de 2%, 2,5%, 2,75% e 3% ao LA de AR fermentada pela *K. rhizophila kovacs*, com taxas de remoção de DQO de até 78% em 6h de tratamento em reator de batelada de 4L. Outro estudo simultâneo foi realizado observando a fermentação da AR por meiosw da *K. rhizophila kovacs* e posterior tratamento do sobrenadante pelo SLA, com o percentual de remoção de DQO de até 93% em seis horas de tratamento em reator de batelada de 4L.

Summary

The activated sludge system (ASS) has its main application in the treatment of urban sewage, but it has also been used on industrial wastewater treatment. The ASS consists of an ecosystem of microorganisms and inferior animals selected and adapted to the water to be treated, with a composition characterized by bacteria, yeasts, protozoans and nematodes.

In the treatment by ASS of a wastewater containing high concentration of hydrophobic compounds, it was introduced one bacterium isolated from fowl abattoir wastewater and selected by its biosurfactant production, *Kokuria rhisophila kovacs*, for the study of the increase in the efficiency of pollution load remotion due to increase of substrate availability to the microorganisms. This increment was obtained by reducing the superficial tension due to the solubilization of the hydrophobic compounds. The biosurfactant production was measured by means of the emulsion coefficient in a spectrophotometer at 600nm.

Aliquots of 2%, 2.5%, 2.75% and 3% of wastewater fermented by *K. rhisophila kovacs*, with DQO remotion rates up to 78% after 6h of treatment in 4L batch reactor, was added to the activated sludge another simultaneous study was performed, observing the wastewater fermentation using *K. rhisophila kovacs* and followed by a treatment of the supernatant by ASS, with DQO remotion rates up to 93% during 6h of treatment in a 4L batch reactor.

1 Introdução

O Sistema de Lodos Ativados está consagrado como tratamento de esgotos municipais desde o final do século XIX e também tem sido empregado com eficácia no tratamento de vários efluentes industriais. Por ser um sistema biológico torna-se um sistema complexo e dependente de variáveis biológicas, da engenharia e operacionais.

Os problemas mais comuns enfrentados pelo sistema de lodo ativado estão relacionados com a estrutura do floco, intumescimento, processo de sedimentação e flotação do lodo, assim como a disposição final do seu excesso. A solução destes problemas recai sobre a mudança de parâmetros de engenharia, como o uso de diferentes tipos de reatores; ou no uso de aditivos químicos em determinada etapa do processo que auxiliem a obtenção do resultado desejado.

O estudo da micro-fauna tem apontado para as funções que desempenham certos microrganismos, muitas vezes em situações indesejadas como no intumescimento do lodo.

Estudos do tratamento de efluentes oleosos por lodos ativados são quase inexistentes, pois a ênfase tem sido dada para o tratamento de efluentes com pequena concentração de lipídeos e resíduos hidrocarbonetos. Pouco também é relatado do uso de compostos biológicos ou mesmo da inserção de outro microrganismo, com característica conhecida e desejada no sistema de lodo ativado, mas foram encontrados relatos do uso de enzimas para auxiliar o processo de tratamento do efluente e o estudo sobre biodisponibilidade de nutrientes para o lodo ativado, tocando em parte o objetivo proposto por este trabalho.

O uso de surfactantes sintéticos é descrito para auxiliar o processo de disposição final do lodo ativado e o de biossurfactantes mostra-se bastante restrito em tratamento de efluentes industriais, sendo mais explorado na recuperação de ambientes poluídos com resíduos de hidrocarbonetos. É também descrita a aplicação de biossurfactantes na indústria farmacêutica e em também em técnicas moleculares.

2 Objetivo

Com o tratamento de água residuária pelo Sistema de Lodo Ativado (SLA) incrementado com bactéria produtora de biossurfactante pretende obter resultados de melhor eficiência do tratamento.

Objetivo do estudo:

- Isolar e selecionar um microrganismo produtor de biossurfactante a partir de água residuária de abatedouro de aves e indústria de processamento de óleos.
- Estudar a influência do microrganismo selecionado no tratamento da água residuária do processamento de processamento de óleos pelo SLA.
- Estudo do processo de fermentação na produção de biossurfactantes em água residuária.

3 Justificativa

O estudo do isolamento e seleção de microrganismos produtores de biossurfactante e com a adição deste em tratamento de água residuária pelo sistema de lodo ativado pretende-se melhor compreensão dos fatores microbiológicos do lodo e o incremento da eficiência do sistema de lodo ativado na redução da carga poluidora, desta forma poder contribuir com soluções para os problemas ambientais.

4 Revisão Bibliográfica

4.1. Biossurfactantes

4.1.1 Introdução

Nos últimos anos, o interesse por compostos de superfície ativa tem crescido significativamente. Juntamente com a indústria química, médica, botânica e de produtos biológicos apresentaram um crescimento de 568% entre 1972-1982 movimentando cerca de 2,3 bilhões de dólares. O mercado de sabões e detergentes movimentou 12,8 trilhões de dólares em 1990. Espera-se que até o ano 2000 haja um aumento de 35% da produção atual de surfactantes para atender a demanda crescente. Devido a enorme demanda, grandes quantidades de surfactantes sintéticos têm sido depositados no ecossistema através de descargas de resíduos aquosos. Os surfactantes sintéticos são potencialmente perigosos ao meio ambiente, sendo tóxicos para algas, peixes e bactérias em concentração de 1 mg/L. O estudo de biossurfactantes tem despertado muito interesse, porque estes freqüentemente possuem algumas propriedades superiores aos surfactantes sintéticos, o que se refere a menor toxicidade, biodegradabilidade, especificidade e grande variedade de compostos. (FIECHTER, 1992; KOSARIC et.al.,1987).

Foi comparado um surfactante de uso industrial, Marlon A-350, com um biossurfactante isolado de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 55925 (USB-CS1), em termos de propriedades tóxicas e de mutagenicidade em ratos. O USB-CS1 apresentou efeitos tóxicos e mutagênicos desprezíveis, não ocorrendo o mesmo resultado com o Marlon A-350. Este por sua vez ocasionou alterações no quadro clínico e eventuais mortes. Este experimento aponta para uma vantagem do biossurfactante em detrimento do surfactante sintético, por apresentar menor risco clínico e ambiental (FLASZ et.al.,1998)

A maioria dos biossurfactantes é aniônica ou neutra, não havendo registros na literatura de biossurfactantes catiônicos. A classificação dos biossurfactantes é realizada conforme a caracterização do segmento hidrofílico de suas moléculas, como: ácidos graxos, glicolipídeos, lipopeptídeos, fosfolipídeos. Vários biossurfactantes são produzidos por bactérias, fungos e leveduras, em geral, isolados de solos e águas contaminadas com

hidrocarbonetos, sendo os glicolipídeos os mais produzidos. Agentes de superfície ativa são importantes na indústria de petróleo. Inicialmente o foco estava na produção de surfactantes, co-surfactantes e em microrganismos que aumentam a recuperação de óleos (MEOR – Microbial Enhanced Oil Recovery). No entanto, biossurfactantes podem ser utilizados como dispersantes e emulsificantes com características biodegradáveis. Biossurfactantes como o Emulsan, patenteado por Gutnick et. al. em 1983, 1987 apresentam-se como proteínas α e β , extracelulares, associadas a lipopolissacarídeos. O Emulsan atua na fermentação de petróleo, limpando dutos, derramamentos e MEOR (KOSARIC et al., 1987).

Geralmente microrganismos produtores de biossurfactantes necessitam para a biossíntese um hidrocarboneto como fonte de carbono. Exceção faz-se ao *Bacillus subtilis*, que tem demonstrado crescimento em ágar-sangue e produzido biossurfactante “surfactina”. No entanto os biossurfactantes podem ser produzidos a partir de substratos renováveis como óleos vegetais, carboidratos e resíduos industriais. Muitos fatores que influenciam a produção de biossurfactantes são a natureza da fonte de carbono, limitações nutricionais, temperatura, aeração e o tipo de microrganismo utilizado (GERSON & ZAJIC, 1979; GUTNIK & SHABTAI, 1987; KOSARIK et. al., 1987; FIECHTER, 1992.).

Certas cepas de *Bacillus liqueniformis* isoladas de reservatórios de óleo tem sido mostradas como efetivas produtoras de biossurfactante, liquenisina A, estruturalmente similar a um lipopeptídeo de baixa atividade, a surfactina. A surfactina, um pequeno peptídeo produzido por procariotos, encontrado em menores concentrações em eucariotos, é sintetizado não por ribossomos, mas por um complexo multi-enzimático peptídeo sintase. Análises desta peptídeo sintase originadas de bactérias e fungos revelam alto grau de conservação de seqüências de bases, sendo surfactina sintetase utilizada para identificar a cópia do *operon* de liquenisina A sintetase (lchA) proveniente do *Bacillus licheniformis*. (YAKIMOV, M. et al., 1998).

Streptomyces tendae Tu 901/8c produziu um peptídeo extracelular hidrofóbico, denominado estreptofactina. O composto foi isolado em meio ágar-condicionado e caracterizado. Aplicações extracelulares do peptídeo purificado restauraram a forma do micélio aéreo em mutantes defeituosos no desenvolvimento morfológico. A atividade de superfície medida revelou que a estreptofactina diminuiu a tensão superficial de 72,0 para

39,4N/m² e a concentração crítica micelar atingiu o valor de 36mg/L. As propriedades da estreptofactina sugerem uma mudança estrutural no desenvolvimento do micélio aéreo e suporte aéreo das hifas com o abaixamento da tensão superficial dos filmes de água encerrados nas colônias. Estes resultados sugerem um modelo de mecanismo de formação micelar e adaptação às variações ambientais de *Streptomyces tendae*. Existem seis grandes classes de biossurfactantes, a saber: hidroxilação e ligação cruzada de ácidos graxos, glicolipídeos, complexos lipídeo-polissacarídeos, lipoproteínas e lipopeptídeos, fosfolipídeos, superfície celular (propriamente dito). Todos estes biossurfactantes mostraram-se capazes de, em diferentes sistemas e condições, diminuir a tensão superficial de misturas do tipo O/A. A maioria dos biossurfactantes não altera a viscosidade do óleo (KOSARIK *et al.*, 1987).

4.1.2 Produção de biossurfactantes

Atualmente têm-se juntado esforços nas pesquisas para a viabilização da produção de biossurfactantes sendo numerosos os trabalhos descrevem a capacidade de bactérias, leveduras e fungos em degradar hidrocarbonetos. O crescimento de microrganismos que degradam hidrocarbonetos é acompanhado pela emulsificação do substrato devido à produção de lipoproteínas e lipopolissacarídeos extracelulares, que reduzem a tensão superficial do meio de crescimento. Praticamente todos os tipos de hidrocarbonetos gasosos, líquidos e sólidos nas séries alifáticas, aromáticas, olefinicas e naftênicas parecem ser suscetíveis à oxidação por microrganismos (BELSKY *et al.*, 1979; CIRIGLIANO & CARMAN, 1984).

Bactérias marinhas degradadoras de n-alcano, seis linhagens de bactérias heterotróficas foram isoladas. Foram obtidas da água marinha e do sedimento marinho, coletado próximos as ilhas Borkum (Mar do Norte), utilizando-se Mihagol-S 9C14, 15-n-(alcano) como principal fonte de carbono. Estas bactérias gram negativas e aeróbias se utilizam um limitado número de compostos orgânicos, incluindo hidrocarbonetos alifáticos, ácidos graxos voláteis, piruvato e metil-éter. Durante a cultura, utilizando-se o n-alcano como fonte de carbono e energia, todas as linhagens produziram um glicolipídeo com superfície ativa tanto extracelular como ligado a parede celular que reduziu a tensão

superficial da água de 72N/m^2 para 29 N/m^2 . Esta classe de glicolípídeo tem sido produzida somente por estas linhagens. A análise da sequência gênica da porção 16S do ARNr tem mostrado que todos os membros desta linhagem pertencem as Proteobactérias. (YAKIMOV, M. et al., 1998).

Foram isoladas trinta e cinco bactérias do solo coletado próximo a Refinaria de Petróleo de Paulínia - REPLAN para determinar a produção de biossurfactantes. Sendo que cinco destas mostraram alto atividade emulsificante em meios contendo tolueno sendo que esta performance foi observada em diferentes tempos de crescimento (12,24 e 38 horas), e como fonte de carbono foram utilizados óleo de oliva, querosene, tolueno, vaselina e xileno. Das cepas isoladas foram identificados os gêneros *Chromobacterium sp.*, *Staphylococcus sp.* e *Bacillus sp.* e identificados a espécie de *Bacillus polymyxa* e *Planococcus citreus* (CARVALHO, D.F. et al., 1997).

Uma linhagem de *Bacillus subtilis* produz biossurfactantes em meio com 2% de sacarose a 45°C , sendo que a diminuição da tensão superficial do meio passa de $7,8\text{ N/m}^2$ para $2,8\text{ N/m}^2$. A linhagem é capaz de produzir biossurfactantes em altas concentrações de NaCl (4%) assim como com pH variando de 4,5 a 10,5. As propriedades de atividades de superfície são mantidas durante 2h com pH variando de 4,5 a 10,5 e a temperatura variando em até 100°C . A produção máxima de biossurfactantes é alcançada quando são adicionadas uréia ou íons nitrato como fonte de nitrogênio. A aplicação de biossurfactante resultou em 62% de recuperação de óleo em uma coluna, indicando potencial de aplicação em MEOR.

SANG (1997) observou o efeito da glicose e óleo de soja como fonte de carbono no crescimento de leveduras *Torulopsis bombicola* ATCC22214 e produção de lipídeo soforose, um biossurfactante, foi investigado. Em meio contínuo de cultura, a taxa de consumo de glicose aumenta pelo aumento específico de crescimento celular, e a taxa de consumo de óleo de soja é proporcional a produção específica de lipídeo soforose no meio de cultura.

Pseudomonas aeruginosa UW-1 produziu 17-24g/L de ramnolípídeo a partir de óleo vegetal contido num meio de cultura em agitadores por 13 dias. Em meio salino com 6% de óleo de canola havia $2,6 \times 10^{10}$ CFU/ml após 48h, e o máximo de ramnolípídeos de 24,3g/L após 9 dias. Os ramnolípídeo foram separados do meio de cultura com solvente

orgânico (clorofórmio/metanol) e com o uso de cromatografia de camada delgada (CCD). A maior parte dos ramnolipídeos foi identificada como L-ramnosil- β -hidroxidecanoil- β -hidroxidecanoato e L-ramnosil-L-ramnosil- β -hidroxidecanoil- β -hidroxidecanoato por ressonância magnética nuclear (RMN) e espectrometria de massa. Por HPLC determinou-se a taxa de 4:1 de mono e diramnosil, respectivamente, sendo o valor de CMC de 40 μ g/ml, idêntico para ambos. Notou-se, entretanto, na aplicação destes biossurfactantes um abaixamento da tensão superficial para 2,77 e 3,04 N/m² respectivamente (SIM et al., 1998).

Um mutante de *Bacillus licheniformis* por mutagênese randômica tratada com N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina produziu elevado índice de lipopeptídeo biossurfactante. O mutante designado *Bacillus licheniformis* KGL11, é capaz de produzir biossurfactante em concentração de 391 mg por litro, concentração vinte vezes maior que o *Bacillus* selvagem. Análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), espectroscopia de infravermelho e medidas de tensão superficial indicam que o biossurfactante produzido é idêntico ao da cepa selvagem (LIN, S.C. et al., 1998).

Pseudomonas marginalis PD-14B produz lipopolisacarídeos que contém biossurfactante fator-MP formado proporcionalmente à biomassa produzida. A produção de um fator - MP específico através do crescimento celular mostrou-se independente do substrato usado como fonte de carbono e hidrocarbonetos adicionados no meio de cultura. Rifamicina e cloranfenicol não afetaram o acúmulo de surfactantes extracelulares. Inibidores respiratórios (azida e cianeto), um bloqueador da fosforilação oxidativa (cianeto de carbonila m-clorofenilhidrazona) e um condutor iônico (gramicidina -D) suprimem fortemente a acumulação de fator - MP durante a fermentação. Um inibidor da próton-ATPase (diciclohexilcarbodiamida) e um inibidor da glicólise (fluorado) não afetaram a acumulação de fator-MP. Os resultados indicam que o mecanismo de liberação do fator-MP para o meio é realizado por um mecanismo dependente de energia (BURD, G. & WARD, O., 1997).

Após a fermentação, o biossurfactante permanece na fase aquosa, fazendo-se necessário isolá-lo desta fase. Pode-se utilizar centrifugação para separar as células da fase líquida, filtração ou utilização de diálise, seguidas de extrações com solventes (LIMA, 1997; CIRIGLIANO & CARMAN, 1984). SINGH (1990) utilizou água quente para extrair

o biossurfactante da parede celular, demonstrando que a atividade emulsificante não foi perdida com calor, mas idêntica ou maior que a atividade extracelular.

4.1.2 Aplicações dos biossurfactantes

Muitos poluentes são degradados rapidamente em condições de laboratório, no entanto persistem no ambiente. Este fato consiste em um dos maiores fatores limitantes para a biorremediação e o uso e produção comercial de produtos biotecnológicos.

O aumento de interesse pelo potencial de aplicações de biossurfactantes se baseia na sua gama de propriedades funcionais como emulsificação, separação, poder umectante, solubilização, de-emulsificação, inibição da corrosão e redução de viscosidade. Há várias áreas de aplicação onde os biossurfactantes podem substituir os surfactantes sintéticos como na agricultura, indústria de alimentos, limpeza e cosméticos, papelaria, têxtil, farmacêutica, de refino de petróleo e petroquímicas. Na agricultura os surfactantes são necessários para a hidrolização de solos pesados para a obtenção de boa umidade e realizar igual distribuição dos fertilizantes no solo. Biossurfactantes como o 'Emulsan', o único comercializado até o momento, para uso na limpeza de tanques de petróleo, melhoria na extração de petróleo e controle ambiental no caso de derramamento de petróleo, e, outros biossurfactantes foram patenteados, como o produzido por *Candida sp* com grande potencial de uso na indústria têxtil, farmacêutica e cosmética. Os japoneses têm patenteados o uso de *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus* e *Alkaligenes sp.* para produzirem biossurfactantes (KOSARICK et al., 1987; FIECHTER, 1992).

INOUE (1998) isolou do solo a levedura *Torulopsis bombicola* KSM36, na intenção de encontrar microrganismos produtores de glicolipídeos, que a partir de óleo de palma e glicose produziu sofrose lipídeo com rendimento de 0,15g/L. Este glicolipídeo tem compatibilidade com a pele, podendo ser utilizado comercialmente pela indústria cosmética como hidratante para pele.

Em produtos alimentícios o uso de biossurfactantes é mais restrito pelo caráter de toxicidade, sensorial, custo, propriedades funcionais, fornecedores e legislação. O grau de toxicidade é o fator determinante, sendo necessário que o biossurfactante seja

biologicamente degradado de forma não tóxica, não apenas pelo corpo humano como também pelo meio ambiente (KUDO, 1988).

Os compostos de superfície ativa são aplicados na indústria alimentícia no processamento de matéria-prima, quer seja pela sua importância na formação da consistência e textura apropriadas, como para a dispersão de fases. Em padarias e na indústria de carnes alteram as características reológicas da farinha e emulsificam gorduras (FIETCHER, 1992; LIMA, 1997)

Outra aplicação possível para alguns microrganismos produtores de biossurfactantes é a produção de proteínas unicelulares (SPC) para alimentação. Dentre estes microrganismos, podemos citar a levedura *Candida tropicalis* IIP-4, que foi cultivada em meio contendo n-hexadecano como fonte de carbono, produzindo biossurfactantes capazes de emulsionar xileno, tolueno e hexadecano (SINGH, 1990). A produção de proteína unicelular e a atividade de emulsificação por *Saccharomyces lipolytica* a partir da fermentação em óleo diesel (5%) como fonte de carbono, apresentaram bons resultados em pH 5,0, com produção de 39% de proteína celular em fermentador de bancada (SAMPAIO, 1995). A utilização de resíduos aquosos de extração de óleo de oliva pela levedura *Yarrowia lipolytica* (ATCC 20255), produziu 22,5g/L de proteína unicelular, sendo que após 24h de cultivo houve uma redução de 80% da DQO (DE FELICE, 1997).

As propriedades funcionais das proteínas nos alimentos, incluindo as unicelulares (SPC), são hidrofílicas nas quais está envolvida a sorção, absorção, retenção de água e solubilidade. A interação entre as moléculas, como coagulação, geleificação, elasticidade, viscosidade, textura e formação de filmes; assim como possuem propriedades de superfície, dependente da capacidade de formar filmes contínuos, ex. emulsificação, formação de espuma e películas de cobertura, além das propriedades sensoriais, cor, textura e gosto.(SGARBIERI, 1998).

MARTIN (1998) descreve um experimento em que um biossurfactante é adicionado na ração animal com o intuito de melhorar a performance alimentar de aves. Um biossurfactante e uma lipase de alimentos são introduzidos à dieta de galinhas contendo 200 a 400g de arroz em cada quilo de farelo com o objetivo de melhorar a taxa de conversão do alimento. No entanto o resultado mostrou que, neste caso, não houve melhoramento na performance alimentar das aves.

FERRAREZO (1998) isolou duas linhagens de *Bacillus sp* a partir de efluente bruto de indústria de margarina e sabão, sendo denominadas B1 e B9. Estes bacilos se apresentaram melhores entre 111 cepas puras que foram isoladas do mesmo efluente, apresentando altos índices de emulsificação quando cultivadas em meio GYP, ajustado a pH 7,0 em 10 h de cultivo. Estes biossurfactantes foram capazes de emulsionar compostos aromáticos, como xileno, tolueno, e misturas de compostos alifáticos e cíclicos, como querosene e diesel, além de triglicerídeos (óleo de soja). Estes biossurfactantes apresentam pequena diminuição na tensão superficial em meio de cultivo GYP e não apresentaram atividade hemolítica. A linhagem de *Bacillus sp* B1 reduziu a DQO em 58%, após 48h de cultivo e a linhagem de *Bacillus sp* B9 reduziu da DQO em 63,66%, após 96 h no mesmo efluente, indicando grande potencial para tratamento de efluentes e biorremediação.

Apesar de todas as possibilidades de uso dos biossurfactantes, eles têm sido relatados na literatura com maior frequência pela aplicação na indústria petrolífera, para aumentar o rendimento da extração de petróleo, devido à capacidade de reduzir a tensão interfacial entre a água e o óleo com baixa absorção nas rochas dos reservatórios naturais de petróleo e pelo uso em biorremediação, tendo grande vantagem quando comparados aos emulsificantes sintéticos, por serem biodegradáveis e terem baixa toxicidade (KOSARIK, 1987).

Para a indústria farmacêutica VOLLENBROICH et al. (1997) realizou estudo dos potenciais antivirais da surfactina, um biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis*, sendo este um lipopeptídeo cíclico. O estudo da ação da surfactina foi realizado sob amplo espectro de diferentes vírus, como o “Semliki Forest vírus” (SFV), herpes simplex vírus (HSV-1, HSV-2), “suid herpes virus” (SHV-1), “vesicular stomatitis virus” (VSV), “simian immunodeficiency virus” (SIV), “feline calicivirus” (FCV), “murine encephalomyocarditis virus” (EMCV). Sendo que *in vitro* os experimentos mostraram duas fases na inativação da cinética do envelopamento viral, especialmente o herpes e o retrovírus, foram muito mais eficientes que em vírus não envelopados. Os vírus suscetíveis à ação da surfactina foram ativados em 25 μ M em meio contendo 5% “serum” de feto de bezerro (FCS). Em concentrações acima de 80 μ M de surfactina foram reduzidos à $>4.4 \log_{10}$ CCID₅₀/ml de HSV-1 em 15 min e SIV em 60 min. A inativação aumentou linearmente com a temperatura de incubação à um fator 2.4/10°C e logaritmicamente com

a concentração. Uma ruptura na membrana lipídica do vírus e parcialmente do capsídeo foi observada por microscopia eletrônica. Estes dados sugerem ação antiviral, levando à outras investigações como interações físico-químicas do surfactante na membrana ativa com a membrana lipídica do vírus. Deste modo a surfactina poderia ser utilizada para a segurança sobre vírus em produtos biotecnológicos e farmacêuticos.

4.1.3 Bactéria produtora de biosurfactante: isolamento e identificação

As espécies conhecidas do gênero *Kokuria* (STACKEBRANDT et. al., 1995) eram apenas quatro espécies, i.e., *Kokuria rosea* e *Kokuria varians*, *Kokuria kristinae* e *Kokuria erythromyxa*, todas originalmente classificadas como *Micrococcus*. Enquanto as primeiras três espécies têm sido reconhecidas como espécies individuais, a *K. erythromyxa* linhagem UWO 1045 foi primeiramente classificada como '*Sarcina erythromyxa*', depois reconhecida como *Micrococcus roseus* e subseqüentemente descrita como *Deinococcus erythromyxa*, espécie *incertae sedis* (BROOKS & MURRAY, 1981).

Após a análise de DNAr 16S a espécie *Micrococcus* demonstrou ser uma forma individual e pertencente à linhagem descendente da *Arthrobacter-Micrococcus* (STACKEBRANDT et. al., 1980, 1995); um ramo posteriormente descrito como família *Micrococcaceae* (STACKEBRANDT et. al., 1997). Com base na análise de DNAr 16S e a presença de um único parental de propriedades quimiotaxonômicas, as três espécies *Micrococcus* foram transferidas para o novo gênero *Kokuria*. Posteriormente, *Deinococcus erythromyxa* foi adicionado com *K. erythromyxa*, quando informações baseadas nos resultados da análise do DNAr 16S estavam disponíveis. (RAINEY et.al., 1997). Estas espécies são altamente relacionadas com *K. rosea*, às quais foram originalmente associadas.

KOVÁCS, et. al. (1999) relatam duas novas espécies do gênero *Kokuria* isolados da rizosfera da *Typha angustifolia* no rio Danúbio na Hungria. Uma das espécies é a *Kokuruia palustris* sp, outra a *Kokuria rhizophila* sp. Esta recebeu a seguinte descrição: células de microrganismos esféricas, sendo seu diâmetro entre 1,0 e 1,5 µm, Gram positiva e sem motilidade. Não são produtoras de esporos. As colônias observadas em placa de Petri variam de 1,5 a 2,5mm de diâmetro, sendo opacas, moles com extremidades irregulares, cor amarelada, aeróbia, quimiorganotróficas e não apresentam crescimento em temperaturas

superiores a 40°C. Apresentam bom crescimento em pH variando de 5,7 a 7,7. Catalase, benzidina e crescimento em nitrogênio inorgânico positivo. Gelatinase, fosfatase, hidrólise do Tween 80, crescimento em citrato de Simmons positivos. Oxidase, hidrólise de amido, indol, uréase, hidrólise de esculina, arginina diidrolase e reação de fenilalanina deaminase negativas. Fraca reação com H₂S. Não reduz nitrato a nitrito. Produção de ácido a partir de D-glucose, D-frutose, D-manose, e sacarose. Não produz ácido a partir de glicerol, manitol, sorbitol, ribose, D-xilose, L-arabinose, galactose, lactose, maltose, β-gentilbiose, D-turanose, arbutina, salicina, trealose, melezitose. Utilização do adonitol, L-arabinose, S-frutose, L-fucose, D-glucose, turanose, xilitol, metil-40, Tween 80, e N-acetil-D-glucosamina. Não utilização de celobiose, D-trealose, N-acetil-D-galactosamina, meso-inositol, maltose, D-manitol, S-melibiose, sorbitol, inosina, glycerol, ácido L-glutâmico, e L-alanina. Apresenta bom crescimento em até 10% de NaCl. Contém peptídeoglicano L-lisina como ácido diamino diagnóstico. As ligações interpeptídicas consistem em três resíduos de alaninas (variação A3α). As maiores menaquinonas são MK-7(H₂) e MK-8(H₂). Os maiores ácidos graxos são ai-C_{17:0}, ai-C_{15:0} e i-C_{15:0}. Os lipídios polares predominantes são os fosfatidilglicerol e difosfatidilglicerol. A composição de bases do DNA é 69.4 mol% de G+C.

4.1.4 Efeito de ácido e surfactantes no tratamento para a desidratação e estabilização do lodo ativado

CHEN, et. al. (2001) estudaram a desidratação de lodo ativado e a utilização de diversos métodos para aumentar a eficiência da desidratação, descrevendo vários métodos para este fim, pois o tratamento dos esgotos municipais são realizados, geralmente, através de processos de lodos ativados, uma vez que a grande massa de lodo pode se constituir num problema de poluição para o meio ambiente. Os elementos formadores do lodo ativado, como as dimensões e estrutura do floco e sua composição química determinam o grau de desidratação no processo de disposição final deste. Condicionantes químicos são utilizados como auxílio para que seja efetuada a desidratação mecânica. Os condicionadores como o óxido de cálcio, cloreto férrico, poliacrilamidas, etc, são utilizados para que haja floculação. A água contida no lodo ativado pode ser reduzida em até 80% quando o

tratamento com estes condicionadores é seguido pela desidratação química. No entanto dois problemas estão associados a estes condicionadores. Primeiro, a dificuldade em reduzir a quantidade de água abaixo de 80%, e o segundo é que o volume de lodo desidratado é claramente aumentado, especialmente quando condicionadores inorgânicos são empregados. Uma razão da dificuldade na desidratação do lodo é a presença de polímeros extracelulares (PEC). Polissacarídeos, proteínas e DNA atuam retendo água e desta forma aumentam a viscosidade do líquido. (PIKE and CURDS, 1971; KAKII et al, 1984; URBAIN et al, 1993).

Para melhorar a eficiência da desidratação, especialmente para fazer com que sejam quebradas mais ligações de água da superfície do lodo ativado que não podem ser alcançadas pelos condicionadores comuns, o método de tratamento enzimático para digerir a PEC tem sido empregado (NELSON et al., 1988; THOMAS et al., 1993) o que é interessante por promove a desidratação do lodo através da redução de PEC. Estudos têm mostrado que alguns surfactantes podem alterar a estrutura celular de microrganismos efetuando um rompimento do material celular ligado à superfície, fazendo com que este seja dissolvido em água. (CHEN et al, 1999a,b). Também foi observado que meio ácido modifica algumas propriedades da superfície dos microrganismos.

Tratando o lodo ativado com ácido sulfúrico apenas ou juntamente com surfactantes, foram descobertos métodos efetivos para aumentar a sua desidratação e estabilização. Estes resultados foram encontrados através do abaixamento dos valores do pH do lodo ativado e centrifugação cuja eficiência foi aumentada através do uso de surfactantes. No entanto, a desidratação por filtração permitiu obter alcance mínimo quando o pH foi abaixado para valores da ordem de 2,5 e o uso de surfactantes beneficiou a desidratação por filtração. O volume de água retirada no lodo desidratado por meio de filtração alcançou até 73,99% com adição de 0,1g de surfactante e pH 2,5 havendo aumento de 2% da água no lodo quando comparado com a desidratação na ausência de surfactante. A velocidade de sedimentação do lodo foi significativamente acelerada pela aplicação de valores de pH 2,5 ou adição de surfactante. Uma razão do ácido sulfúrico e surfactantes aumentarem a desidratação e estabilidade do lodo ativado é a redução de PEC que desta forma torna o lodo ativado mais compacto (CHEN et al, 2001).

4.2 Lodo Ativado

4.2.1 Sistema de lodo ativado operado em batelada

Somente a partir da década de oitenta que o Sistema de Operação em Batelada (SOB) começou a ser mais implantado. Isto se deve à obtenção do aumento do conhecimento deste processo, na utilização de vertedores mais confiáveis, instrumentação mais robusta, uso de microprocessadores. Também este sistema tem sido desenvolvido para realizar a nitrificação, desnitrificação e remoção biológica do fósforo.

O SOB consiste na integração de todas unidades do processamento e operação do sistema de tratamento convencional, a saber: decantador primário, oxidação biológica, decantador secundário, estes são reunidos em um único tanque. Neste, um reator de mistura completa, ocorrem todas as etapas do tratamento. O processamento dá-se em função do tempo.

A massa biológica fica retida no reator durante todos os ciclos, não havendo necessidade de decantadores e elevatórias de recirculação do lodo.

As etapas do tratamento SOB são:

- Enchimento: entrada do lodo bruto ou decantado no reator.
- Reação: aeração ao e mistura da massa líquida.
- Sedimentação: sedimentação e separação dos sólidos em suspensão do efluente tratado.
- Esvaziamento: retirada do efluente tratado do reator.
- Repouso: ajuste de ciclos e remoção do lodo excedente.

O Sucesso da operação do sistema de lodos ativados depende da eficiência na separação sólido – líquido no decantador secundário tendo produzido um efluente clarificado, adensamento do lodo no decantador a uma concentração satisfatória para a recirculação ao reator. Quando o lodo não está bem decantado nem mesmo bem adensado o tratamento fica comprometido. O intumescimento do lodo é um dos problemas mais freqüentes que alteram as duas variáveis acima citadas. O intumescimento do lodo é decorrente da alteração das populações formadoras do floco do lodo ativado.

O floco do lodo ativado é formado por bactérias formadoras de floco, que possuem uma matriz gelatinosa, facilitando a aglomeração de outros microrganismos, desta forma aumentando o tamanho e o peso do floco, facilitando a sua sedimentação. O floco do lodo ativado também é formado por bactérias filamentosas, responsáveis pela estrutura do floco.

Quando há equilíbrio entre bactérias formadoras de floco, há boa decantação e adensamento dos flocos. Quando há predominância de bactérias formadoras de floco, o floco formado é pequeno e fraco, não promovendo adensamento ideal.

Se o predomínio é de microrganismos filamentosos, então os flocos expandem-se ocupando um volume excessivo podendo gerar perda de sólidos, comprometendo a qualidade do efluente final. A esta condição chama-se intumescimento do lodo.

Podem ser causas do intumescimento do lodo baixo volume de oxigênio dissolvido, baixa relação alimento/microrganismo, esgoto afluyente séptico, deficiências de nutrientes e baixos valores de pH. Como prevenção do intumescimento do lodo têm-se buscado conhecer a dinâmica das populações microbianas nos reatores (CURTS et.al., 1998).

4.2.2 Biodiversidade em Plantas do Sistema de Lodo Ativado

TOMAS CURTS e NOEL CRAINE (1998) estudaram a diversidade de bactérias em plantas de lodo ativado através de comparações entre diferentes plantas de tratamento com o intuito de ganhar informações importantes sobre suas diferenças. Estes estudos foram facilitados pelo uso da biologia molecular com tecnologias baseadas no RNAr 16S. Através de eletroforese gel desnaturante (DGGE) determina-se um regime de amostragem ótima para comparação com outros estudos, e, utilizando análises fechadas para mostrar como as plantas podem ser quantitativamente comparadas. Evidenciado o espaço, o período diurno e variação intra-amostral em num determinado número de locais. A análise fechada foi possível para fazer distinção entre as plantas, ainda que outros trabalhos são requeridos para encontrar a base mais apropriada para tais comparações. Foram encontrados organismos provenientes de lodo bruto e misturados com amostras de líquido, aparentemente estes organismos não têm um significado funcional no processo de tratamento, desta maneira intrinca a comparação de planta por planta.

O desenho e a manutenção de cada sistema, a população de bactérias, e suas atividades são determinantes para a eficiência do tratamento. O processo de tratamento de lodo ativado utiliza-se de indefinidas populações de bactérias para tratar uma variedade de resíduos. As condições em um reator são manipuladas para promover a presença e atividade de organismos desejáveis, como oxidantes de amônia, e para diminuir o crescimento de organismos indesejáveis, como bactérias produtoras de espuma. Infelizmente, algumas coisas não são mensuráveis, conseqüentemente, a engenharia das populações de bactérias tem sido dificultada pela natureza incipiente das ferramentas de pesquisa, mesmo com os trabalhos intensivos disponíveis para quantificar e identificar as bactérias: medida de sólidos suspensos, exame da morfologia, e cultura. As limitações tecnológicas e disponibilidade dos métodos têm indubitavelmente contribuído nas dificuldades das áreas-chaves como o controle de espuma, os organismos responsáveis pela remoção de fósforo e a estimativa das taxas de crescimento de bactérias nitrificantes.

No entanto, progressos têm sido feitos recentemente como advento da tecnologia baseada no RNAr 16S, em particular: toda hibridização celular, PCR e eletroforese em gel desnaturante.

Estas técnicas exploram diferenças entre as seqüências dos genes ribossomais de diferentes organismos. Em toda célula hibridizada, bactérias podem ser identificadas e enumeradas usando sondas fluorescentes e sendo especificadas as seqüências dos RNAr.

4.2.3 Modelagem de Ecossistemas

As comunidades ecológicas são altamente complexas. Modelos de dinâmicas populacionais entre duas ou três espécies têm pouca capacidade de prever o comportamento de toda a comunidade. Quanto mais populações estão interagindo maior a complexidade além das interações abióticas. No entanto a única maneira formal de entender os ecossistemas é através destes modelos.

As análises dos ecossistemas concentram-se principalmente nas trocas de energia e matéria entre a comunidade e a parte abiótica. O esforço de descrever o processo que governa a composição destas espécies, a capacidade de produção e estabilidade. Um modelo elementar deste processo é a quantidade, balanço de massa, entradas e saídas, como

o ganho ou perda de nitrogênio em um ecossistema. Esta estabilidade pode ser indicada por significantes mudanças do balanço em número de anos.

Os ecossistemas sobrevivem porque as taxas de produção excedem as de decomposição, estes processos de captura e liberação de energia que dirigem os nutrientes para o sistema. O balanço entre duas fontes de alimentação indica como o sistema responde ao estresse e tem sido utilizado para detecção da poluição ambiental (SCURAS et.al., 1998).

4.2.4 Produção de espuma

A formação de espuma é um dos problemas enfrentados no processo de tratamento de águas residuárias que reduz a eficiência do tratamento da água residuária, diminuindo a qualidade do efluente, podendo representar perigo à saúde pública, dispersar patógenos e ainda gerar aerossóis.

LEMMER et al (1998) aponta três dos principais fatores; a dispersão de bolhas de gás, a presença de compostos hidrofóbicos e a os compostos de superfície ativa. As bolhas formadas são estabilizadas pela superfície ativa das moléculas e de substâncias hidrofóbicas na interface gás-água. Bolhas, dispersas, estão presentes no processo de aeração dos tanques, na zona de denitrificação, oxidação do nitrogênio e óxido nítrico, ou na presença de digestão anaeróbia com e liberação de metano. Compostos hidrofóbicos como graxas, provenientes do tratamento primário ou mesmo organismos com superfície hidrofóbica podem promover a formação de espumas, assim como microrganismos que liberam compostos com superfície ativa quando o meio é deficiente em nutrientes. O impacto de bactérias filamentosas é intensamente investigado, no entanto LEMMER propõem um estudo da contribuição de bactérias não filamentosas na formação de espuma, flotação, hidrofobicidade de parede celular ou emulsificação. Bactérias formadoras de espuma foram pré-selecionadas a partir da absorção e transporte de compostos hidrofóbico.

Isoladas bactérias, não filamentosas, provenientes de espuma hidrofóbica, de planta de tratamento de águas residuárias, por meio de adesão aos hidrocarbonos. Estas bactérias foram caracterizadas taxonomicamente, por preferências à substratos, hidrofobicidade de superfície celular e capacidade de emulsificação. O desenvolvimento destes

microrganismos durante o período de flotação tem sido discutido. *Rhodococci* são selecionados por substratos hidrolisáveis e contribuem para flotação tanto por hidrofobicidade da superfície celular quanto pela atividade emulsificante com longo tempo de residência. Linhagens saprofíticas de *Acinetobacter* também podem ser promotoras de flotação por hidrofobicidade e por produzir agentes emulsificantes sob condições em que o substrato hidrofóbico predomina. Espécies de *Hydrogenophaga* e *Acidovorax* bem como grupos *Cytophaga* e *Flavobacterium* estão propensos a proliferar mesmo diante de baixas cargas orgânicas contribuindo para flotação conduzidas por emulsificação. Outros microrganismos foram identificados, como *Microthrix parvicella*, filamentoso bastante comum na formação de espuma por causa da sua estrutura filamentosa. LEMMER afirma a importância de ser investigada toda a ecologia microbiana envolvida no tratamento de água residuária para que nenhum aspecto seja negligenciado.

O desenvolvimento de microrganismos presentes na espuma do tratamento de águas residuárias lodos ativados. Foram encontrados os gêneros *Gordona* e *Tsukamurella* como bases da morfologia das colônias e contendo a pigmentação marrom achocolatado das espumas encontradas nas plantas de tratamento. A ocorrência destas espumas não são exclusivamente associadas com a presença de actinomicetos produtores de ácidos micólicos, os micolatas, membros do gênero *Nocardia*. O grupo micolata tem muitas propriedades fenotípicas em comum, formam distintas linhas filogenéticas como são classificados os gêneros *Corynebacterium*, *Dietzia*, *Gordona*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Skermania* e *Tsukumurella*. Esta classificação foi realizada primariamente utilizando marcadores químicos, moleculares e morfológicos. A necessidade de identificação e de classificação destes microrganismos é importante para o conhecimento diferenciar a ecologia de microrganismos patológicos ou não do grupo micolata.

A habilidade de formação da espuma está relacionada com a presença de ácidos micólicos presentes em *Rhodococcus rhodochrous* e a superfície celular hidrofóbica. Os resultados observados por STRATON mostraram que a composição do ácido micólico varia de acordo com as condições a que o *R. rhodochrous* está submetido, como pH, força iônica, tempo de cultura, temperatura e fonte de carbono, e que contribui muito pouco com a hidrofobicidade da superfície celular, não sendo, desta forma, o fator responsável pela formação da espuma e sua estabilização. Outros possíveis mecanismos de formação de

espuma relacionados com a superfície celular são sugeridos, e vias de controle e estudos como a adição de zeólitos, bentonite tem dado continuidade a estes estudos. Sabe-se, no entanto que uma forma de controle da produção de espuma está relacionada com a modificação química da superfície celular.

SODDEL et al, (1998) ainda aponta para o metabolismo dos microrganismos que produzem ác. micólico com propriedades metabólicas similares. Estes microrganismos têm a habilidade de utilizar substratos hidrofóbicos em várias faixas de concentração, especialmente ácidos graxos ésteres, misturas de hidrocarbonos, no entanto mostram inabilidade de crescimento em querosene. A natureza hidrofóbica de microrganismos como os *Norcadiaformes* permite o ataque a substratos hidrofóbicos e deste modo competem através de um rápido crescimento com outros microrganismos de fase aquosa no lodo ativado.

4.2.5 Intumescimento filamentoso

Outro problema enfrentado na operação da planta de tratamento de água residuária pelo processo de lodo ativado é o intumescimento do lodo ativado. Ocorre predomínio de células filamentosas em relação às formadoras de floco e ocorre um aumento da concentração celular em relação ao meio líquido. Os filamentos impedem a boa sedimentação do lodo ativado.

O intumescimento filamentoso, um fenômeno comum em tratamento por lodos ativado determinado pela proliferação de microrganismos filamentosos que interferem na propriedade de compactação do lodo. A propriedade de compactação do lodo é necessária para o impacto direto sobre as características do efluente proveniente da unidade de separação de sólidos, e conseqüentemente interferindo na capacidade do tratamento da água residuária. Não obstante, os agravos criados por uma variedade de microrganismos filamentosos freqüentemente implicam em problemas de intumescimento do lodo, isto tem sido um problema de ordem mundial, relativamente pequeno é o conhecimento a cerca de fatores que afetam o crescimento de alguns destes microrganismos. Pesquisas são necessárias para o aprendizado do controle por métodos biológicos. Durante poucos anos o tratamento de água residuária foi facilitado com o uso de fibras sintéticas num esforço de

lutar contra diferentes tipos de microrganismos filamentosos responsáveis pelo intumescimento. O fator do aparecimento e abundante variação nesta população filamentosa não são claros, assim é necessária uma investigação para determinar fatores que afetam seu crescimento. Uma investigação neste sentido foi estudada por Scruggs et al, 1998, composta de quatro estudos, cada um envolvendo o monitoramento da variação do microrganismo filamentoso com relação às mudanças de fatores operacionais como estudo do fluxo contínuo em escala de laboratório, uma exame biológico do sistema em escala real, e dois experimentos em batelada em escala laboratorial em escala modificada. Neste estudo foram determinadas que microrganismos como *Norcadia sp.* sofrem impactos diretos com a variação positiva de concentrações da demanda de oxigênio. Geralmente o intumescimento do lodo está associado com a relação F:M (substrato/ massa microbiana).

Plantas de tratamento de águas residuárias tem tido a nitrificação biológica, a desnitrificação e a remoção de fósforo tem sofrido um aumento de problemas por formação de espumas e intumescimento do lodo ativado.

Estudos da causa do intumescimento do lodo obtiveram resultados apontando para uma das principais causas o crescimento de *Microthrix parvicella* em escala de laboratório. Foi investigado a sua influência em relação à baixa (<0,1 kg/kg.d) e alta (0,2 kg/kg.d) DBO₅ e quanto à sua morfologia. Foi investigado, também, a influencia exercida pela temperatura em 5°C, 12°C e 20°C, sendo que a *M parvicella* apresentou melhor crescimento na presença de baixos valores de DBO₅ e baixos valores de temperatura. Neste caso houve excessivo crescimento deste microrganismo na planta de remoção de nutrientes.

Uma forma de controle através da aplicação de talco (PE8418). Após a adição deste mineral, instantaneamente, o índice volumétrico de lodo variou de 850ml/g para 250ml/g, e após duas semanas de utilização deste talco o índice volumétrico de lodo (IVL) passou a variar entre 125 e 100 ml/g. A taxa de PE 8418/biomassa foi adicionada na proporção de 0,6:1 suficiente para o IVL atingir estes níveis. A velocidade de sedimentação do lodo foi de 1,0 a 1,5 m/h. No entanto, depois das duas primeiras semanas de experimentações houve formação de espuma na água clarificada, partículas livres contribuíram para a formação de bolhas de gás e conseqüente flotação do lodo (SCRUGGS et.al., 1998).

4.2.6 Formação de floco

O lodo ativado tem a forma de crescimento dispersa, as bactérias se aglomeram em forma de floco bacteriano e se estruturam em bactérias filamentosas, que formam o esqueleto filamentoso juntamente com a zoogléia.

Características como tamanho e a porosidade dos flocos do lodo ativado bem como dos componentes formadores das microcolônias determinam a interação do substrato e dos gradientes aceptores de elétrons estabelecidos em microambientes competitivos. Um modelo pode ser estabelecido para explorar a relação entre o crescimento da biomassa, morte e hidrólise; difusão de componentes solúveis e porosidade de microcolônias. Um elemento chave está na distribuição assumida no crescimento de células filhas, a sequência de sua replicação.

No entanto pouco é documentado a variação da porosidade do floco, estes resultados contrastam com os biofilmes observados e podem enfatizar as diferenças entre os mecanismos envolvidos na estrutura do desenvolvimento de microcolônias e seu agregamento em larga escala.

4.2.7 Propriedades hidrofóbicas e hidrofílicas de substâncias exopoliméricas do lodo ativado

Estudos sobre as propriedades de hidrofobicidade e hidrofilicidade das substâncias exopoliméricas do lodo ativado foram realizadas por JORAND et.al. (1998), mostrando que as interações de hidrofobicidade podem ser fundamentais na coesão e outras propriedades do agregado bacteriano, denominado floco. Substâncias exopoliméricas (SEP) formam uma matriz na qual bactérias e outras partículas são envolvidas, no entanto, o conhecimento destas propriedades ainda é limitado. Foi realizada a extração de SEP proveniente de lodo ativado de diferentes origens, sendo fracionados e exploradas as suas propriedades de sorção em resinas não-iônicas e precipitação em meio ácido. O resultado obtido foi através da resina XAD-8 mostrou que ao menos 12% das proteínas podem ser consideradas hidrofóbicas. Já os carboidratos não foram encontrados nas porções hidrofóbicas. As frações precipitadas em pH 2, por outro lado, continha 64% de carboidratos e 76% de

proteínas, o que sugere que a SEP é formada de heteropolímeros, principalmente por carboidratos e proteínas.

Muitos microrganismos e partículas constituintes do floco do lodo ativado são formados por uma matriz de SEP que originalmente é formada por substâncias excretadas pelas células e por água. Através de análises de microscopia eletrônica, pode-se observar que esta matriz é bastante heterogênea, envolvendo completamente as células microbianas (LI e GANCZARCZYK, 1990; JORAND et. al., 1995). A composição de SEP é formada principalmente por proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos (PAVONI et.al., 1972; URBAIN et. al., 1993; JORAND et. al., 1995), semelhantes aos ácidos húmicos (DEWALLE & CHIAN, 1974; FRØLUND et.al., 1996), lipídeos (GOODWIN & FORSTER, 1985) e por heteropolímeros como as glicoproteínas.

Os flocos do lodo ativado apresentam força coesiva maior que a de flocos minerais (LI & GANCZARCZYK, 1986), sendo vários as forças e mecanismos sugeridos neste tipo de coesão: ligações por negatividade das cargas da SEP e/ ou por cátions polivalentes como Ca^{2+} ou Fe^{3+} (STEINER et. al., 1976; KAKII et al., 1984; BRUUS et al., 1992; CACCAVO et. al., 1996) e por interações hidrofóbicas (URBAIN et. al., 1993). Em resumo, interações hidrofóbicas ou efeitos hidrofóbicos mais precisamente, resultam no comportamento das moléculas incapazes de interagir eletrostaticamente ou apresentarem estabilidade através de pontes de hidrogênio com a água e, por esta razão desenham esta conformação de flocos coesos quando imersos em fase aquosa.

As evidências que as interações hidrofóbicas determinam a organização e coesão do agregado bacteriano encontrada no lodo ativada é dada pelas seguintes observações:

- i. Pela presença de células hidrofóbicas no lodo ativado, pela variação da hidrofobicidade na superfície celular no estado fisiológico da célula (JORAND et. al., 1994) e pela concentração de oxigênio dissolvido.
- ii. Pela adesão preferencial de bactérias hidrofóbicas no floco.
- iii. Segundo GANAYE et.al. (1998), foram observadas pronunciadas zonas hidrofóbicas dentro do floco do lodo através de espectroscopia.
- iv. O aumento na floculação quando curtas cadeias álcalis são inseridas em polímeros sintéticos (CHAUSSET, 1989).

5 Material e Método

5.1 Introdução

O estudo do tratamento de água residuária de indústria de processamento de óleos pelo sistema de lodos ativado de recirculação com a adição de microrganismo produtor de biossurfactante foi realizado através de três experimentos simultâneos, que foram: o experimento controle designado pelo numeral 2, o experimento com a adição do microrganismo diretamente no tratamento designado pelo numeral 3 e o experimento realizado com a água residuária fermentada pelo microrganismo produtor de biossurfactante designado pelo numeral 4. O isolamento, seleção e identificação do microrganismo foram designados pelo numeral 1.

5.2 Isolamento e Seleção de Microrganismo Produtor de Biossurfactante a partir de Água Residuária - Experimento 1

5.2.1 Isolamento de microrganismos a partir de água residuária de abatedouro de aves e de indústria de processamento de óleos assim como do solo desta.

Microrganismo: Isolamento e Meio de Cultura

Foram tomadas amostras de água residuária em frascos estéreis e posteriormente diluídas a 1% em placa de Petri em meio GPY (glicose 6%, extrato de levedura, peptona), com o fim de isolar Bactérias produtoras de biossurfactante. As cepas isoladas foram repicadas em tubos de ensaio contendo meio GYP. Os ensaios experimentais para avaliar a capacidade em produzir biossurfactante foram realizados conforme metodologia descrita por FERRAREZO (1998).

Meio de Manutenção

As cepas que apresentaram maior capacidade de produção de biossurfactante foram conservadas em meio GPY em tubos de ensaio a 4°C e repicadas com frequência mínima de 20 dias.

Fermentação Secundária

Novas fermentações foram conduzidas em meio composto da água residuária da indústria de processamento de óleos suplementadas com sais (0,05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,1% KH_2PO_4 ; 0,3% NaNO_3 ; 0,1% extrato de levedura e 0,03% peptona) e utilizadas como inóculo da água residuária bruta sem esterilização, esterilizada e estéril acrescida de sais.

5.2.2 Metodologia Analítica

Determinação de DQO.

A determinação da demanda química de oxigênio (DQO) foi realizada conforme metodologia da ampola descrita em Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (1987).

Atividade de Biossurfactante.

Amostras do caldo de cultura tiveram sua atividade emulsificante determinada por metodologia modificada à descrita por FERRAREZO (1998). Aliquotas de 10ml da fermentação primária e secundária foram retiradas após 24 h e 48h de fermentação. Com 15min de centrifugação a 2.500rpm, foram coletadas em duplicatas 4ml do sobrenadante em tubos rosqueados de 10ml, sendo que uma amostra equivale ao “branco”, e à outra foi adicionado 0,5ml de vaselina líquida. Ambos os tubos foram agitados em agitador de tubos por 1min. Após 30 min de repouso foram medidas absorbâncias em espectrofotômetro a 600nm. (JONHSON et al, 1992; CARVALHO &

DURRANT, 1996; FERRAREZO, 1998). O índice de atividade Emulsificante teve a AE do *Bacillus sp* de cada meio fermentativo como razão.

Determinação de Massa Celular Seca.

Amostras dos caldos em fermentação foram centrifugadas a 22.000rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi separado para determinação de atividade biossurfactante e concentração de DQO, conforme itens *a* e *b*. As células descartadas foram suspensas novamente em água destilada e novamente centrifugadas nas mesmas condições anteriores, por duas vezes. Os tubos de centrifuga serão secos em estufa a vácuo a 65°C até peso constante para determinar a massa celular seca pela diferença de pesos do tubo limpo e com a massa celular seca.

Checação de pureza e análise macro e micro-mórfica

A checagem de pureza de análise macro e micro-mórfica foi realizada por esgotamento em placa com meio GYP, com amostras incubadas por 24 e 48 horas.

Análise filogenética de seqüências parciais de DNA ribossomal 16S

A metodologia consiste na extração de DNA genômico da bactéria, segundo Pitcher et. al. (1989), e amplificação do DNA ribossomal 16S através da metodologia de PCR. O par de "primers" (oligonucleotídeos sintéticos) utilizado foi p271 e p1525r, homólogos a regiões conservadas do gene RNAr 16S de bactérias. Os fragmentos de DNAr 16S amplificados foram a seguir purificados e submetidos diretamente ao seqüenciamento em seqüenciador automático (ALFexpress II, Amersham Pharmacia). Os "primers" internos ao gene para o RNAr 16S utilizados para o seqüenciamento foram o p10f (forward) e o p1100r reverso.

As seqüências parciais de DNAr 16S obtidas foram comparadas com as seqüências de DNAr 16S de organismos representados nas bases de dados RDP (Ribosomal Database Project, Wisconsin, USA); <http://www.cme.msu.edu/RDP/html/index.html>) e Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). As matrizes de distância foram calculadas com o modelo de

Jukes-Cantor (Junkes & Cantor, 1969) e a construção da árvore filogenética a partir das distâncias evolutivas foi feita pelo método de Neighbor-Joining (SAITOU & NEI, 1987).

Obs. Essas análises foram realizadas pela Fundação André Tosello.

5.3 Tratamento de Água Residuária Originada de Indústria de Processamento de Óleos por Sistema de Lodos Ativados em Batelada Única - Experimento 2

Ao grupo controle foi adicionado água residuária ao lodo ativado na proporção de 1:1 em para o tratamento da água residuária pelo sistema de lodo ativado em batelada única. Em frasco Erlenmeyer com capacidade total para 6 L foram adicionados 2 L de água residuária em 2 L de lodo ativado acrescida de sais e pH ajustado em 7,0 resultando em 4 L de volume total em reator com capacidade para 6,0 L. Foram coletadas 10 mL de amostra com frequência de 2h do início e final do tratamento.

5.4 Tratamento de Água Residuária Originada de Indústria de Processamento de Óleos por Sistema de Lodo Ativado com Adição de Bactéria Produtora de Biossurfactante - Experimento 3

5.4.1 Fermentação Primária

A bactéria produtora de biossurfactante foi cultivada em meio GYP (6%) com pH inicial 7,5, a 30°C e agitação de 200 rpm por 24h.

5.4.2 Fermentação Secundária

A fermentação secundária foi feita em água residuária (AR) não estéril, acrescida de 0,4025g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ e 2,31 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, com posterior ajuste do pH para 7,0, mantida sob agitação de 200rpm e 30°C em 24h.

5.4.3 Estudo do Tratamento

O estudo do tratamento foi feito adicionando-se 2%, 2,5%, 2,75% e 3% do volume da fermentação secundária adicionada ao tratamento de água residuária pelo lodo ativado. Para este experimento utilizou-se o numeral 3 (três) como identificador do experimento e de seus resultados. A variação do volume da fermentação secundária adicionada ao tratamento está especificada nos grupos A com 2,5%, grupo B com 2%, grupo C com 2,75% e Grupo D com 3% conforme mostrado no Quadro a seguir.

Tabela 1 - Com adição de cultura de bactéria produtora de biossurfactante no tratamento da água residuária de indústria de processamento de óleos por lodo ativado, em 4,0 L de volume total em reator batelada com capacidade para 6,0 L.

Grupo	Fermentação secundária	Água residuária	Lodo ativado
Grupo A	50 mL	1,950 L	2,0 L
Grupo B	40 mL	1,960 L	2,0 L
Grupo C	55 mL	1,945 L	2,0 L
Grupo D	60mL	1,940 L	2,0 L

Obs: Foram coletadas 10 mL de amostra com frequência de 2h no início e final do tratamento.

Os experimentos 2 e 3 foram realizados no mesmo dia com a água residuária e lodo ativado coletados no mesmo dia. Exceto o Experimento 4 que teve a água residuária coletada 30h antes, porém os tratamentos foram desenvolvidos todos com o lodo ativado coletado no mesmo dia.

5.5 Água Residuária Originada de Indústria de Processamento de Óleos Pré-Tratada Através da Fermentação por Bactéria Produtora de Biossurfactante e Posteriormente Tratada por Sistema de Lodo Ativado - Experimento 4

O estudo do tratamento foi realizado pela fermentação da água residuária com 0,5%, 1%, 1,5% e 2% do inoculo da fermentação primária para a fermentação secundária que depois de centrifugada foi adicionada ao tratamento de água residuária pelo lodo ativado. A

este experimento foi utilizado o numeral 4 (quatro) para identificação dos resultados. A variação do inoculo está representada pelas letras A, B, C e D do experimento 4.

Tabela 2 - Água residuária de indústria de processamento de óleos fermentada por bactéria produtora de biossurfactante e posteriormente tratada por lodo ativado. Volume total de 4,0 L em reator batelada com capacidade para 6,0 L.

Grupo	Inóculo da fermentação secundária realizada com água residuária	Água residuária fermentada	Lodo ativado
Grupo A	0,25 mL	2,0 L	2,0 L
Grupo B	0,50 mL	2,0 L	2,0 L
Grupo C	0,75 mL	2,0 L	2,0 L
Grupo D	1,00 mL	2,0 L	2,0 L

5.5.1 Metodologia Analítica

Determinação da DQO

A metodologia analítica empregada para a determinação da DQO seguiu o Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 17^a. edition, 1987, New York.

Determinação Massa Celular Seca

Para determinação da massa celular seca (MCS), cada amostra foi centrifugada a 5000 rpm, e o precipitado foi lavado com água destilada e novamente centrifugado e seco em estufa a vácuo a 65° C até peso constante.

Determinação do pH

O pH foi verificado por meio de peagâmetro em todas as coletas das amostras do tratamento previamente ajustado para pH 7,5.

Pontos de Coleta da Água Residuária e Lodo Ativado

A amostra de água residuária foi proveniente do ponto de saída do efluente do decantador do tratamento primário da indústria, onde são adicionados floclulantes e Ca(OH)_2 para promover a floclulação e sedimentação dos resíduos sólidos. O lodo ativado foi coletado na linha de reciclo do lodo ativado ao tanque de aeração.

Ca(OH)_2 para promover a floculação e sedimentação dos resíduos sólidos. O lodo ativado foi coletado na linha de reciclo do lodo ativado ao tanque de aeração.

Reator

O estudo do tratamento da água residuária foi realizado em Erlenmayer com capacidade de 6 L, sendo a aeração realizada através de pedras de aeração e a agitação realizada através de ar emitido por mangueira de silicone com grandes bolhas de ar.

Micrografias

As amostras dos experimentos 2, 3 e 4 foram observadas no ato da coleta em microscópio óptico Optech – Optical Biostar B-4, para acompanhamento da evolução da estrutura do lodo ativado no período de tratamento e avaliar as modificações sofridas nos diferentes experimentos. O aumento da lente ocular era de 10 vezes, e das lentes objetivas de 4, 10 e 40 vezes.

6 Resultados e Discussão

6.1 Isolamento e Seleção de Microrganismo Produtor de Biossurfactante - Experimento 1.

6.1.1 Isolamento dos microrganismos

Foram isolados 16 microrganismos da água residuária de abatedouro de aves, 14 microrganismos de água residuária de indústria de beneficiamento de processamento de óleos, e 14 microrganismos provenientes de solo rico em rejeitos oleosos, sendo que o *Bacillus sp* é proveniente de água residuária de indústria de margarina e sabão e tem sido utilizado como padrão para avaliar a atividade emulsificante determinada nas demais cepas (FERRAREZO, 1998).

6.1.2 Seleção dos microrganismos

As fermentações foram avaliadas em períodos de 24h, sendo que fermentações em meio OYP, GYP e VYP, apresentaram as maiores atividades emulsificantes lidas em espectrofotômetro a 600nm. O λ foi determinado após varredura realizada com o sobrenadante emulsionado. Os valores de AE, determinadas em 600nm, obtidos em fermentação estão representados na tabela 3, 4 e 5.

Foram selecionados os 12 microrganismos, estes foram submetidos a fermentação de 24 e 48h em água residuária estéril com adição de nutrientes (AR1, AR2, ARn), água residuária estéril sem adição de nutrientes (ARe) e água residuária bruta (ARb). Os valores da AE nas ARn, ARE e ARb são mostrados na figura 3. A figura-4 representa os valores da AE, obtidas na fermentação em meios AR.1 e AR2, sendo que a tabela 4 apresenta os valores das massas celulares e valores de pH medidos após a fermentação.

Tabela 3 - Atividade emulsificante (AE) em relação à AE de *Bacillus* sp do produto da fermentação por microorganismos selecionados pela produção de biossurfactante em 24h. Fermentação em meio OYP, VYP e GYP microrganismos isolados a partir de água residuária de abatedouro de aves.

Microorganismos Isolados de Abatedouro de Aves	Meios de Fermentação		
	OYP	VYP	GYP
LPB01	1	4,75	0,25
LPB02	4,75	13,125	0,25
LPB03	4,5	0,925	0,75
LPB06	1,25	0,925	0,75
LPB07	0,25	0,0645	1,25
LPB09	5,75	3	0,5
LPB10	0,5	4	0,0625
LPB12	3,5	5,625	0,5
LPB13	2,5	12,125	0,25
LPB14	6,5	6	1,5

Tabela 4 - Atividade emulsificante (AE) em relação à AE de *Bacillus* sp do produto da fermentação por microorganismos selecionados pela produção de biossurfactante em 24h. Fermentação em meio OYP, VYP e GYP microrganismos isolados a partir de solo de indústria de processamento de óleos.

Microrg. Isolados do solo de Ind. de Processo de Óleos	Meios de Fermentação		
	OYP	VYP	GYP
CS01	3,25		
CS02	0		
CS03	0,125		
CS04	0,75	1,3	0,6
CS05	0,25		
CS06	3,75	1,4	0,4
CS07	0,5		
CS08	5,0	1,1	0,35
CS09	0,125		
CS11	0,25	0,7	1,1
CS12	0,125		
CS13	3,925		
CS14	0,5	1,0	0,95

Tabela 5 - Atividade emulsificante (AE) em relação à AE de *Bacillus* sp do produto da fermentação por microorganismos selecionados pela produção de biossurfactante em 24h. Fermentação em meio OYP, VYP e GYP microorganismos isolados a partir de água residuária de indústria de processamento de óleos.

Microrg. Isolados do solo de Ind. de Processo de Óleos	Meios de Fermentação		
	OYP	VYP	GYP
1AM	1,125		0,195
2 BR	0,125	4,625	0,585
3LC	0,425	2,8	0,29
4BR	3,625	4,625	1,125
5APPS	0,5		0,375
6MCC	3,75	7,38	0,28
7ABB	0,65		0,875
8ABR	0,75	1,1	0,325
9	2,75		1,125
10BO	0,25	0,7	0,325
11MVR	1		1,75
13ORP			1,55
14TCR	0,25	1,0	0,05

Tabela 6 - Fermentação em água residuária AR1 e AR2 do Experimento 1.

Microrganismos	AR1		AR2	
	pH final	MCS (g/L)	pH final	MCS (g/L)
LPB-1	8,37	4,43	5,24	0,66
LPB-2	7,85	4,11	5,19	0,66
LPB-3	7,71	2,93	-	-
LPB-6	8,31	3,52	5,19	0,57
LPB-9	7,51	0,12	5,24	0,95
LPB-12	7,73	0,97	5,16	0,238
LPB-14	4,70	0,61	5,22	0,06
Cera solo 04	5,16	0,5	5,34	0,312
Cera solo 06	7,15	3,63	5,21	0,414
Cera solo 08	5,19	0,58	5,19	0,1
Cera 11MVR	4,82	8,75	5,17	5,33
Cera 14TCR	7,95	0,45	5,14	0,21

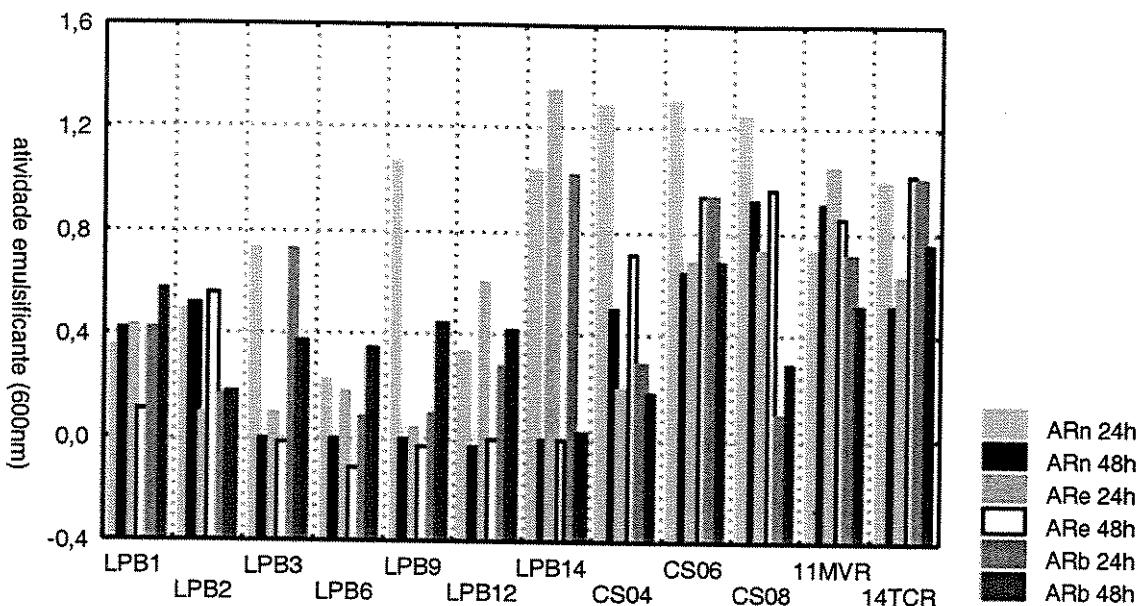


Figura 1 - Atividade emulsificante de microorganismos em diferentes meios de cultura

Os resultados indicam que a produção dos biossurfactantes por um tipo de microorganismo pode ser muito eficiente para óleos, por exemplo, e bastante deficiente para a família dos hidrocarbonetos, ou vice-versa, sugerindo microorganismos específicos para diferentes tipos de fonte de carbono.

A água residuária suplementada com nutrientes apresentou menor produção de biossurfactantes. A variação entre a produção de biossurfactante em água residuária estéril (ARe) e água residuária não estéril (ARb) é pequena, com exceção de LPB3, LPB14 e 11MVR.

6.1.3 Análise e Identificação do Microrganismo Denominado LPB14 Isolado de Água Residuária de Abatedouro de aves e Selecionado pela Produção de Biossurfactante.

Foram isoladas e selecionadas várias cepas de microorganismos pela produção de biossurfactantes, provenientes da água residuária de abatedouro de aves situado no município de Jaguariúna no Estado de São Paulo, de indústria de processamento de óleos e do solo desta mesma indústria situada no município de Campinas do Estado de São Paulo.

Foram isoladas e selecionadas várias cepas de microrganismos pela produção de biossurfactantes, provenientes da água residuária de abatedouro de aves situado no município de Jaguariúna no Estado de São Paulo, de indústria de processamento de óleos e do solo desta mesma indústria situada no município de Campinas do Estado de São Paulo.

Após o isolamento e seleção de microrganismos produtores de biossurfactantes, optou-se em trabalhar com a linhagem que apresentou estar mais bem adaptado às condições de trabalho e melhor AE em água residuária. O microrganismo foi identificado como *Kokuria rhizophila kovacs*. Esta identificação foi realizada pela técnica molecular do DNAr 16S, pela Fundação Tropical “André Tosello” (FTPT). Durante este trabalho poucos foram os registros encontrados na literatura desta espécie, assim como do gênero, contudo a descrição realizada por Kovács da *Kokuria rhizophila sp* vem reforçar alguns dos resultados obtidos em laboratório e realizados pela análise do DNAr 16S.

Análise macro e micromorfológica

Em cultivo em GYP a 30°C por 48h, as colônias apresentaram coloração amarela, forma circular, convexa baixa com margem interna, superfície lisa com pouco brilho e diâmetro de 1 a 2 mm. As células apresentaram-se em forma de cocos pouco alongados com coloração Gram positivo. Foram observados arranjos predominantes em pares, com células isoladas, cadeias curtas e agrupamentos celulares. A coloração Gram mostrou-se contraditória em seus resultados, pois foram obtidos tanto Gram positivo quanto Gram negativo. Neste trabalho considerou-se a coloração Gram negativa conforme descrita na literatura e os últimos resultados obtidos em laboratório.

Identificação

A sequência parcial do DNAr 16S da amostra intitulada LPB14 apresentou entre 97 e 98% de similaridade com seqüências de DNAr 16S de linhagens de *Kokuria rhizophila*. Apresentou também entre 96 e 97% de similaridade com seqüências de DNAr 16S com outras espécies de *Kokuria* como *K. rosea* e *K. varians*. A análise filogenética agrupou a amostra LPB14 juntamente com 2 linhagens de *Kokuria rhizophila*, incluindo a linhagem tipo da espécie (DSM 11926). Portanto, a amostra LPB14 foi identificada como *Kokuria rhizophila kovacs* (Kovács et. al., 1999).

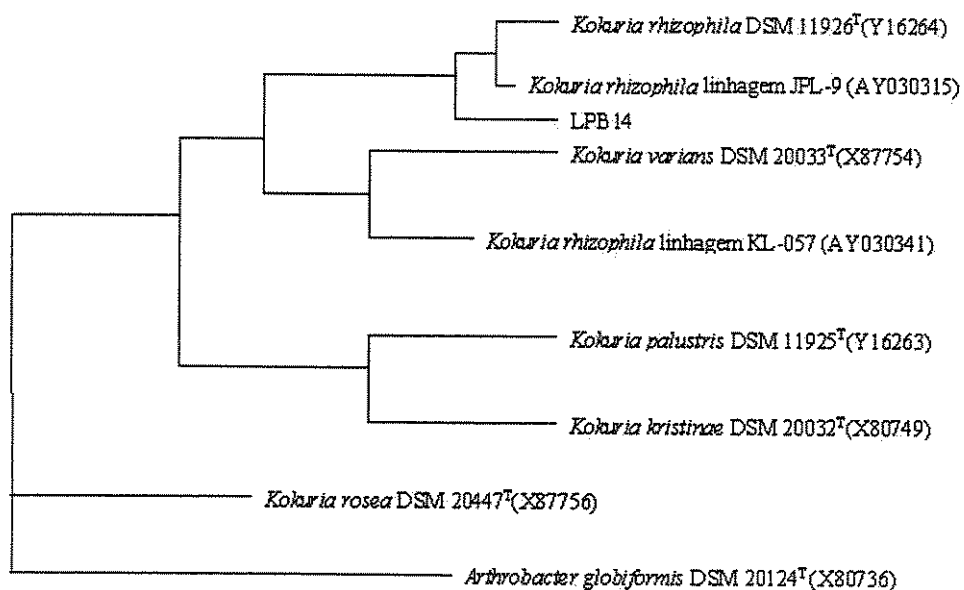


Figura 2 - Árvore filogenética baseada na análise de seqüências parciais de RNAr 16S da amostra LPB14 e linhagens de *Kokuria kristinae*, *Kokuria palustris*, *Kokuria rhizophila*, *Kokuria varians* e *Arthrobacter globiformis*, sendo que esta última foi utilizada como “outgroup”.

Os números entre parênteses correspondem ao acrônimo de acesso na base de dados Genbank, DSM: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH – (Coleção de culturas de microrganismos e células, Braunschweig, Alemanha).

```

>010631-1 a 1050
GCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCTT
GGTGCTTGCACTGGGTGGATGAGTGGCGAACGGGTG
AGTAATACGTGAGTAACCTGCCCTTGACTCTGGGAT
AAGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACTGGATACGACG
GCGCATCGCATGGTGTGTGTGGAAAGGGTTTACT
GGTTTTGGATGGGCTCACGGCTATCAGCTTGTGG
TGGGGTAATGGCTCACCAAGCGACGACCCCTAGCC
GGCCTGAGAGGGTGACCGCCACACTGGGACTGAGA
CACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGA
ATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACG
CCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCT
CTTTCAGCACGGAAGAAGCGAGAGTGACGGTACGTG
CAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG
CGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTA
TTGGGCGTAAAGAGCTGGTAGGCGGTTTGTGCGGTC
TGCTGTGAAAGCCCCGGGGCTTAACCCCCGGGTGTG
CAGTGGGTACGGGCAGACTTGAGTGACAGTAGGGGAG
ACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCCGAGAT
ATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGGTCTCTG
GGCTGTTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGA
GCGAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCATGCCGT
AAACGTTGGGCACTAGGTGTGGGGAACATTCCACGT
TTCCGCGCCGTAGCTAACGCATTATGTGCCCCGCC
TGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCAAAGGAA
TTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGCCGAT
TAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTT
GACATACACCGGACCGGGCCAGAGATGGTCTTTCCC
CCTTGTGGGGCTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTCT
CGTCAGCTCGTGTGAGATGTT

```

Figura 3 - Sequenciamento parcial do DNAr 16S da amostra analisada.

6.2 Estudo do tratamento de água residuária tratada pelo sistema de lodos ativados

Durante a fase de experimentos optou-se por realizar os experimentos A,B,C e D de forma aleatória, pois as variações da água residuária e da qualidade do lodo tinham grande amplitude, o que dificultou e inviabilizou muito dos experimentos e resultados. Desta forma as seqüências dos grupos A, B, C e D não estão apresentadas em ordem cronológicas, mas os grupos são correspondentes nos experimentos 2, 3 e 4. Sendo o sistema de lodos ativados (SLA) um sistema biológico, as variações ambientais interferem diretamente no equilíbrio do ecossistema formado pelo SLA. Houve modificações na estrutura e composição do lodo ativado (LA) foi evidente tanto macroscopicamente como microscopicamente, modificações da microfauna e arranjo no período em que foram

desenvolvidos os experimentos. Um dos fatores que influenciou os resultados foi a variação da DQO da água residuária proveniente do tratamento primário. A variação da DQO desde 3000 até 12000 ou mais. E estas variações ocorriam conforme a matéria prima que estava sendo processada no período.

Outro fator que influenciou diretamente a composição e estabilidade do lodo ativado foi o período de racionamento de energia estabelecido pelo governo durante a fase de experimentação. A indústria manteve apenas 50% dos aeradores em funcionamento, isto gerou redução das espécies dos microrganismos chegando a morte do lodo ativado em alguns sítios da lagoa de aeração. A coloração do lodo variou de caramelo, negro e acinzentado e formação de mau cheiro. Desta forma os resultados não apresentaram um padrão de comportamento nos valores e nas curvas traçadas.

6.2.1 Tratamento de Água Residuária Originada de Indústria de Processamento de Óleos pelo Processo de Lodos Ativados - Grupo Controle (2)

Aspecto Macroscópico do Lodo Ativado

O aspecto do LA variou a cada dia, de acordo com o efluente recebido e o grau de agitação e aeração efetuado na lagoa de aeração. Durante o procedimento dos experimentos o tratamento não apresentou formação de espuma, nem mesmo o LA decantou num período de 24h. O tratamento da AR desenvolvido em reator de escala laboratorial o lodo mostrou-se homogêneo.

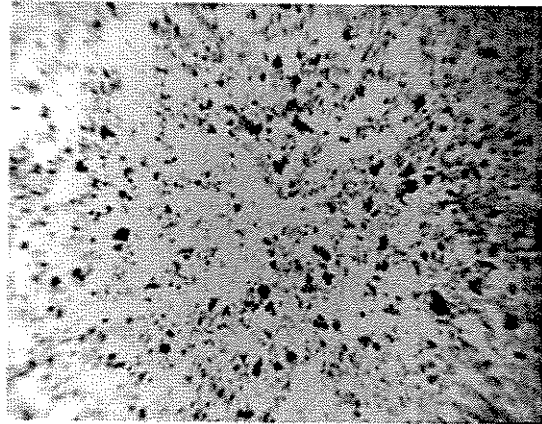
Aspecto Microscópico do Sistema de Lodo Ativado

Através de microscopia óptica foi observada a estrutura do LA à medida que o tratamento decorria. Foram analisados em três aumentos, sendo que o menor aumento revelou arranjo dos flocos do lodo. Já os dois maiores aumentos (100x e 400x) mostravam a estrutura do lodo, podendo ser observados filamentos, substância com viscosidade e arranjos do LA.

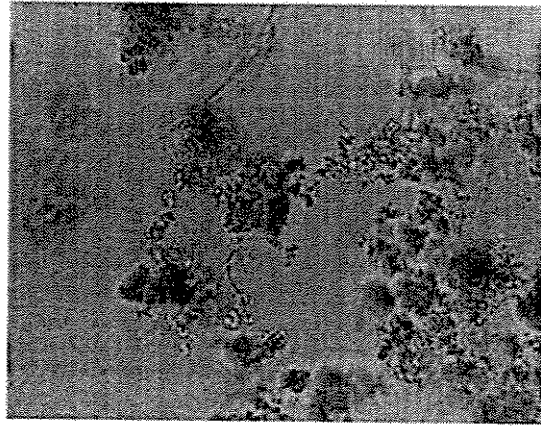
A figura 8 mostra o lodo como foi coletado no ponto de recirculação na estação de tratamento, i.e., na sua forma concentrada. Pôde-se observar a distribuição dos flocos bastante esparsa, sem que houvesse formação de aglomerados dos flocos, cujo tamanho estimado variou de 100 a 1500 μm .

As figuras 9, 10 e 11 são micrografias do lodo no tempo igual a 0h dos experimentos do grupo D, estas imagens mostram diferenças entre a estrutura do LA em dias diferentes. Os experimentos 3 e 4 mostram a influência da bactéria adicionada e do efluente fermentado sobre o LA.

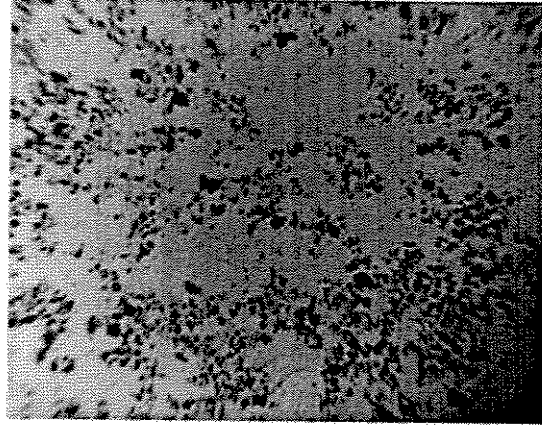
Após 2 h do início do tratamento foram observadas poucas variações sofridas no LA, conforme fig. 12, no entanto, após 24h as mudanças sofridas pelo LA, na estrutura e no tamanho do floco foram bastante significativas e evidentes como mostrado na figura 13. O período de melhor eficiência do tratamento foi avaliado em 6 h. No entanto para o experimento foi observado por 24h para ser avaliado o desenvolvimento do LA nos experimentos.



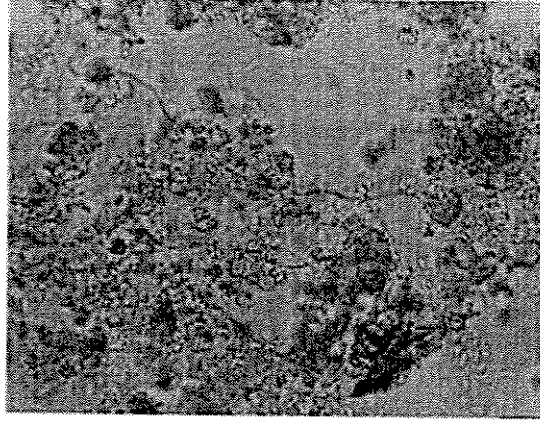
*D-1. Aumento 40x.
LA apresenta agregados
esparsos e distribuídos de forma
homogênea;*



*D-1. Aumento 100x.
LA com flocos esparsos há
presença de filamentos;*

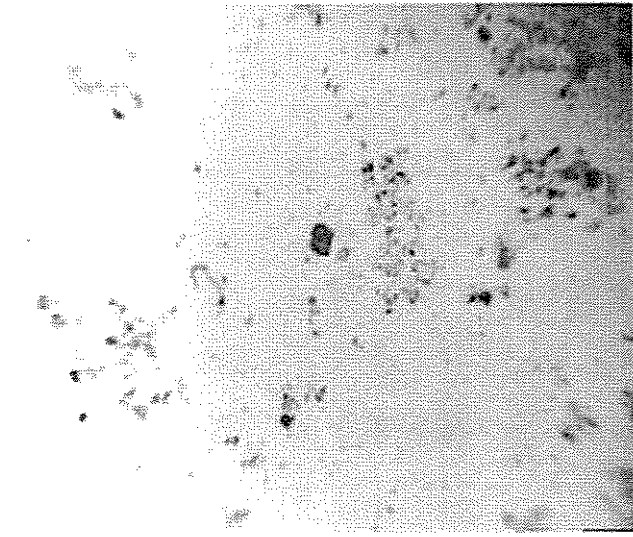


*D-2. Aumento 40x.
LA homogêneo; apresenta flocos
pouco definidos,*

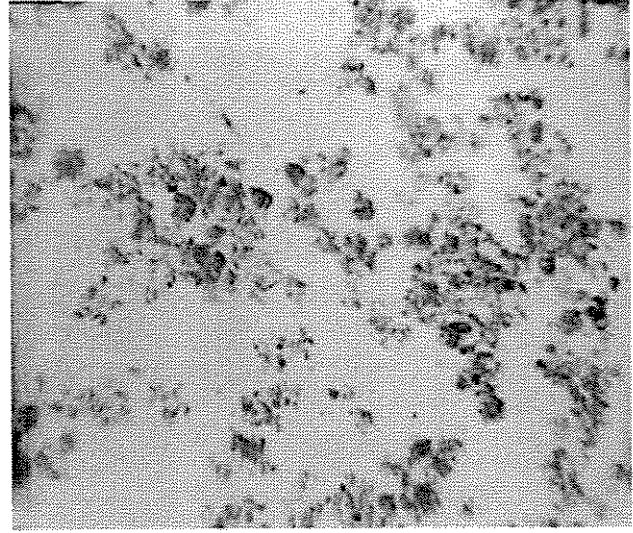


*D-2. Aumento 100x.
LA com flocos coesos e com
presença de filamentos e de
ciliado;*

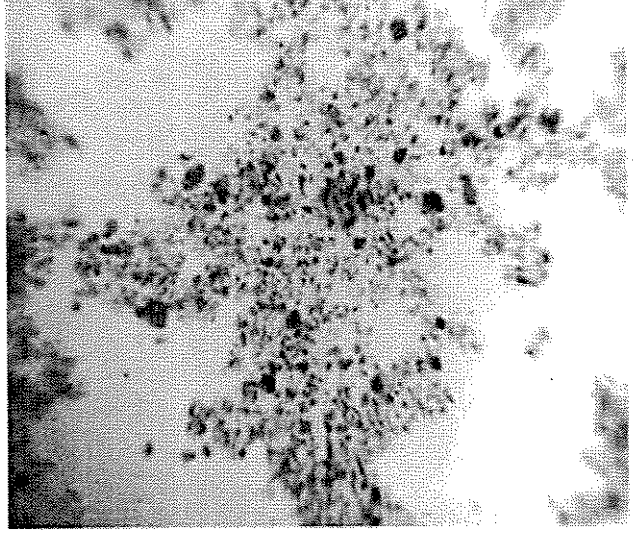
Figura 4 - Micrografia do lodo ativado antes de ser adicionado ao um experimento, coletado no ponto de recirculação do lodo.



2.D-1. LA não apresenta formação de floco. Aparente morte do LA;

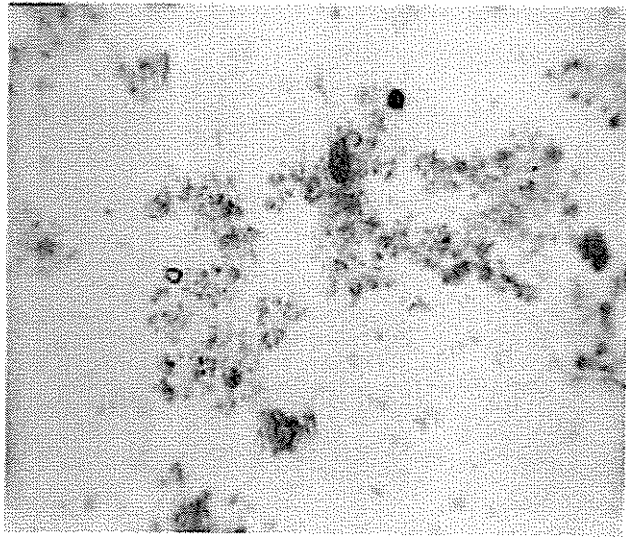


2.D-2. LA apresenta floco pouco coeso, dispersos de forma heterogênea;

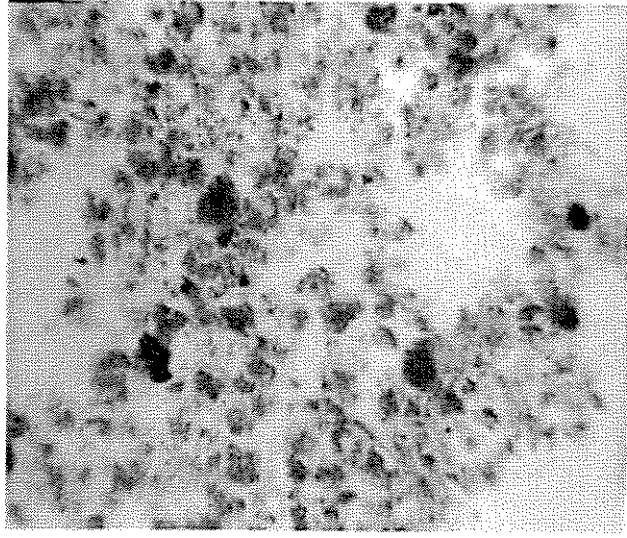


2.D-3. LA apresenta floco sem presença de estrutura filamentosa aparente;

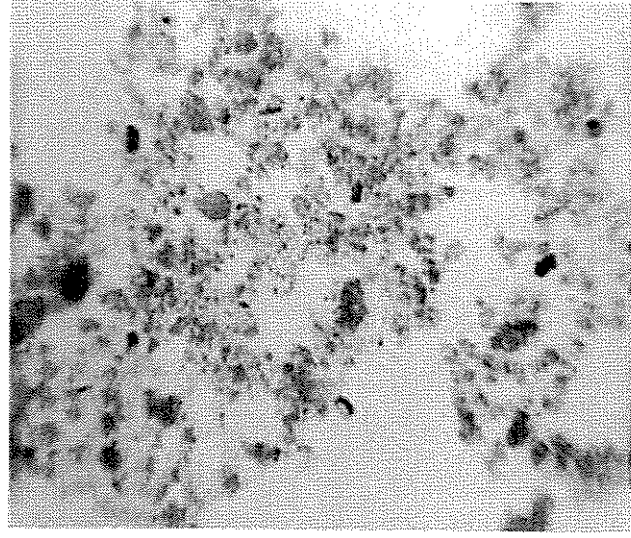
Figura 5 - Micrografia do lodo ativado (LA) no tempo igual a 0 h, aumento 40x - experimento 2.D.



2.D-1. LA apresenta o floco pouco coeso, não apresentando estruturas filamentosas;

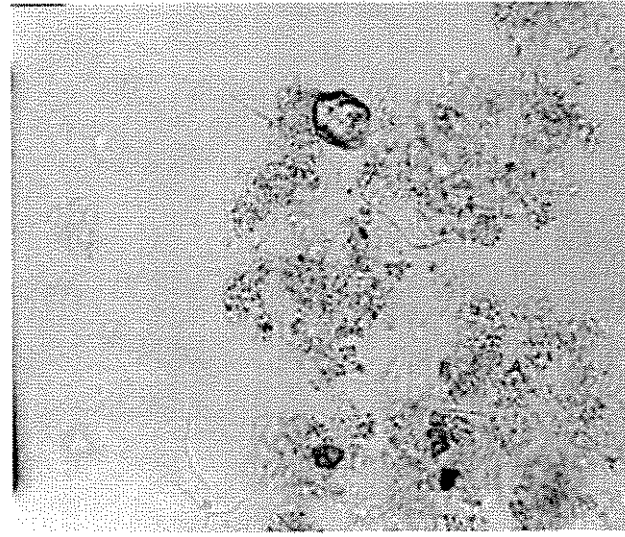


2.D-2. LA com estruturas filamentosas não aparente;

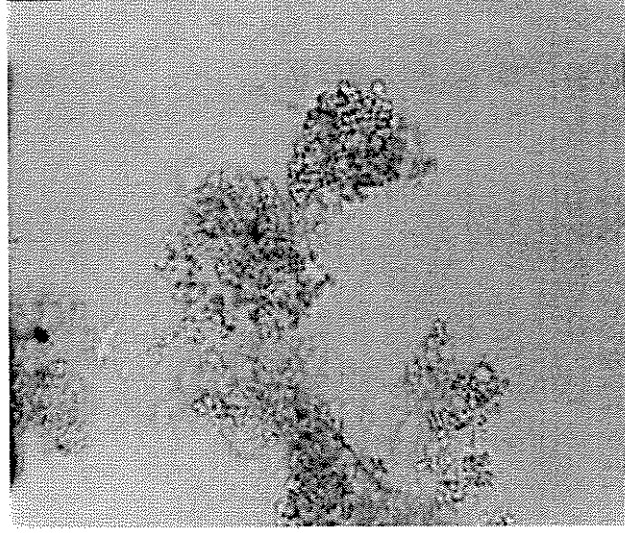


2.D-3. LA apresenta floco com estruturas filamentosas não aparente;

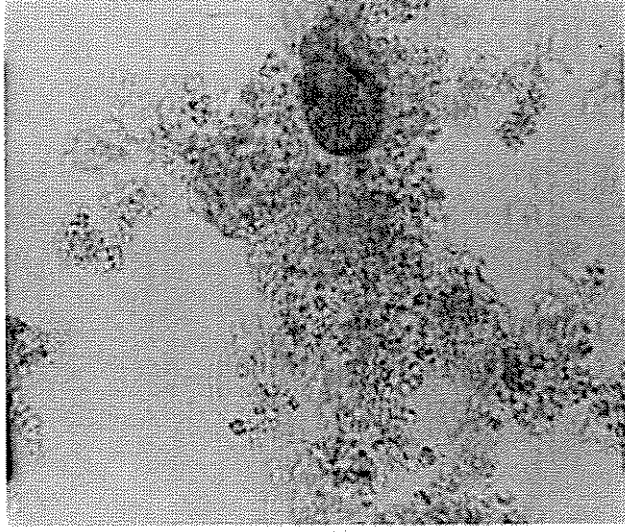
Figura 6 - Micrografia do lodo ativado (LA) no tempo igual a 0 h, aumento 100x - experimento 2.D.



2.D-1. LA apresenta o floco pouco coeso, com discretas estruturas filamentosas presentes;

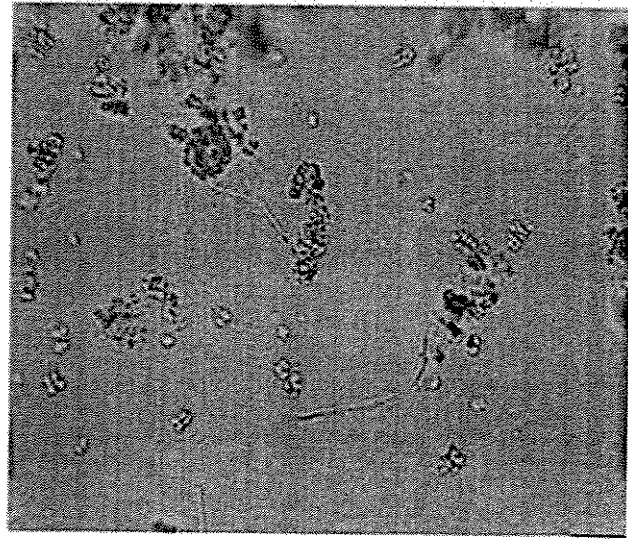


2.D-2. La com floco coeso e bastante agregado, dispersos de forma heterogênea, não apresentando estrutura filamentososa; pode-se observar substância mucilaginosa compondo o floco;

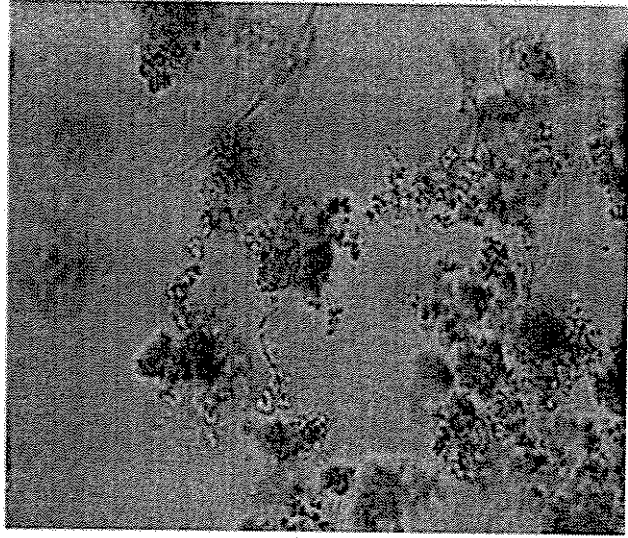


2.D-3. LA apresenta floco coeso e de distribuição heterogênea. Com presença de estrutura filamentososa discreta;

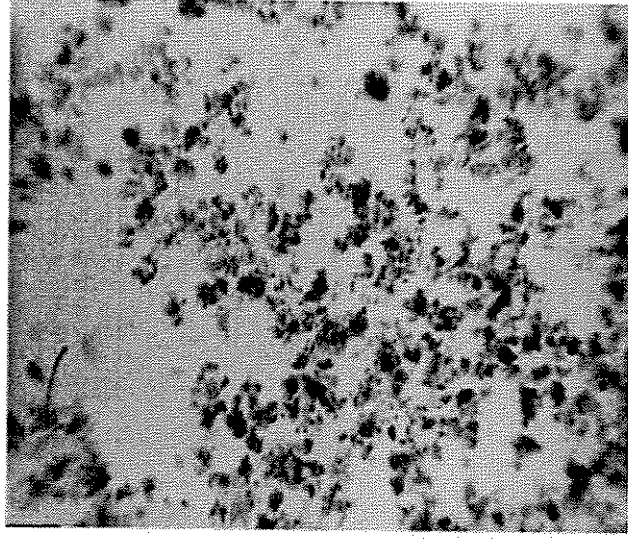
Figura 7 - Micrografia do lodo ativado (LA) no tempo igual a 0h, aumento 400x - experimento 2.D.



2.D-1 LA apresenta morte celular, presença discreta de estrutura filamentosa; aumento 400x.

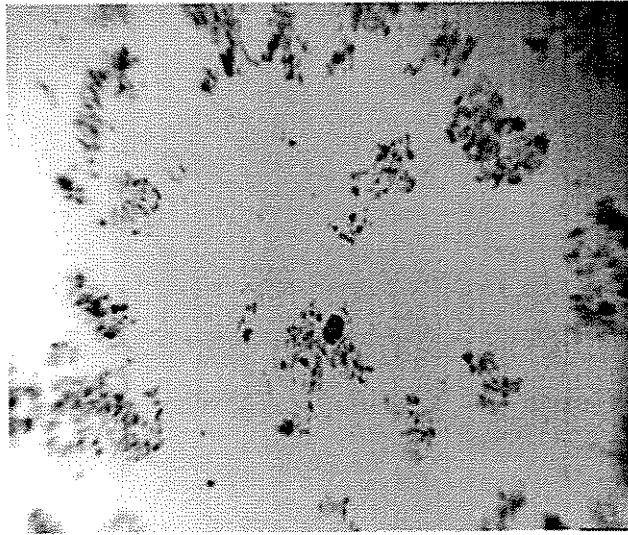


2.D-2. LA apresenta floco pouco coesos, apresentando discretas estruturas filamentosas; aumento 400x.

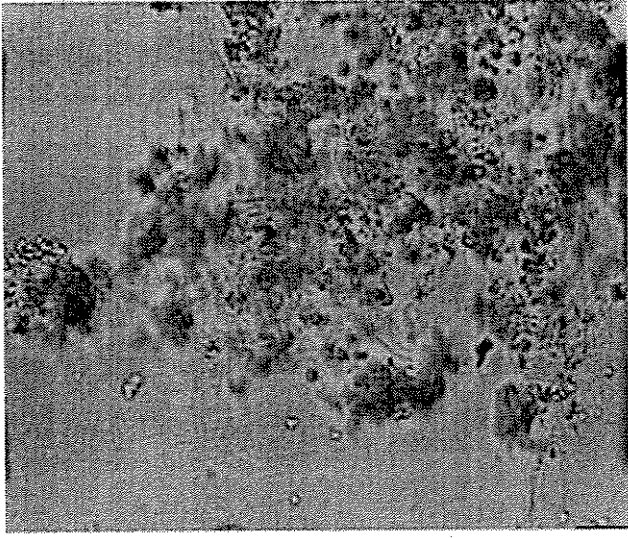


2.D-3. LA apresenta flocos desagregados, sem estruturas filamentosas aparente; aumento 100x.

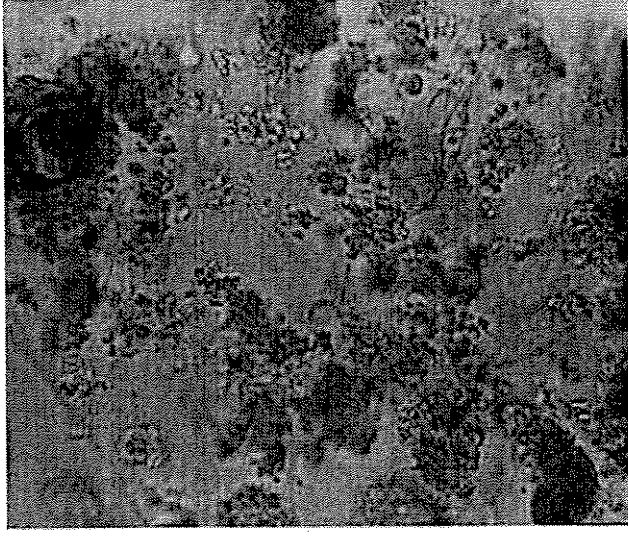
Figura 8 - Micrografia do lodo ativado (LA) no tempo igual a 2h; experimento 2.D.



2.D-1. Aparente morte do LA, não apresenta estrutura filamentosa; aumento 40x;



2.D-2. LA apresentando floco coeso, estrutura heterogênea, apresenta presentes discretas estruturas filamentosas; aumento 400x.



2.D-3. LA apresenta floco coeso; estão presentes discretas estruturas filamentosas; aumento 400x.

Figura 9 - Micrografia do lodo ativado (LA) no tempo igual a 24h; experimento 2.D.

6.2.2 Avaliação da Eficiência do Tratamento da Água Residuária pelo Sistema de Lodos Ativados - Experimento 2

Medidas e análise da concentração da DQO

As variações dos valores da concentração da DQO apresentaram grandes amplitudes nos diferentes experimentos dentro do mesmo grupo, de tal forma que não se pôde traçar um perfil de comportamento através de seus valores absolutos. No entanto pode-se determinar a constante de velocidade de remoção da DQO (k) dado pelo coeficiente angular das curvas de $\ln DQO$ em função do tempo, conforme mostra a tabela 8 e figuras 10 a 16. Com os dados dos experimentos 2.A-2, 2.A-3, 2.A-4, 2.B-2 e 2.C-1 não foi possível determinar o valor da constante de remoção da DQO dadas as condições do LA na planta industrial, que entrou em processo de autólise, o que causou aumento do valor da DQO. Os experimentos 2.A-1, 2.B-3, 2.C-3 e 2.D-3 apresentaram os maiores valores da constante de velocidade da remoção da DQO (tabela 8). O comportamento da variação da DQO assumido por cada um dos grupos, A, B, C e D, pode ser observado nos gráficos da figura 17 a 23. Nota-se que apenas os experimentos do Grupo C descreveram curvas da variação da DQO semelhantes entre si. Enquanto os Grupos A, B e D não apresentaram essa semelhança.

Tabela 7 - Valores Medidos da DQO no Período de 24h do Experimento 2

Tempo (h)	0	2	4	6	20	22	24
Experimento							
2.A-1	2399	1333	1511	886	800	257	267
2.A- 2	1600	960	1920	1280	1600	1440	1335
2.A-3	1120	805	960	1600	2080	1458	1285
2.A-4	2400	2080	2880	3200	2560	2720	2193
2.B-1	1380	650	920	740	610	670	480
2.B-2	1760	2080	2400	3040	3840	1440	1180
2.B-3	3467	3467	2934	800	267	-	-
2.C-1	1030	870	820	830	750	840	150
2.C-2	2400	1867	800	770	1334	1257	800
2.C-3	1480	1640	1580	1220	1001	500	210
2.D-1	1290	1310	1030	1000	610	480	210
2.D-2	9.696	9696	9373	9696	9373	9373	9050
2.D-3	2600	2020	1540	1490	1340	810	110

Tabela 8 - Valores dos Coeficientes da Curva Descrita pelo Ln DQO do Experimento

2

Experimento	a	b	R ²
2.A-1	-0,087	+ 7,5438	0,9584
2.B-1	-0,0384	+ 7,1207	0,9436
2.B-3	-0,1363	+ 8,3538	0,9834
2.C-2	-0,0251	+ 7,6879	0,926
2.C-3	-0,0551	+ 7,4524	0,9537
2.D-1	-0,0425	+ 7,1782	0,9707
2.D-2	-0,0017	+ 9,181	0,9901
2.D-3	-0,0971	+ 7,8213	0,9247

Obs: Sendo a = k, constante da velocidade de remoção da DQO por hora⁻¹

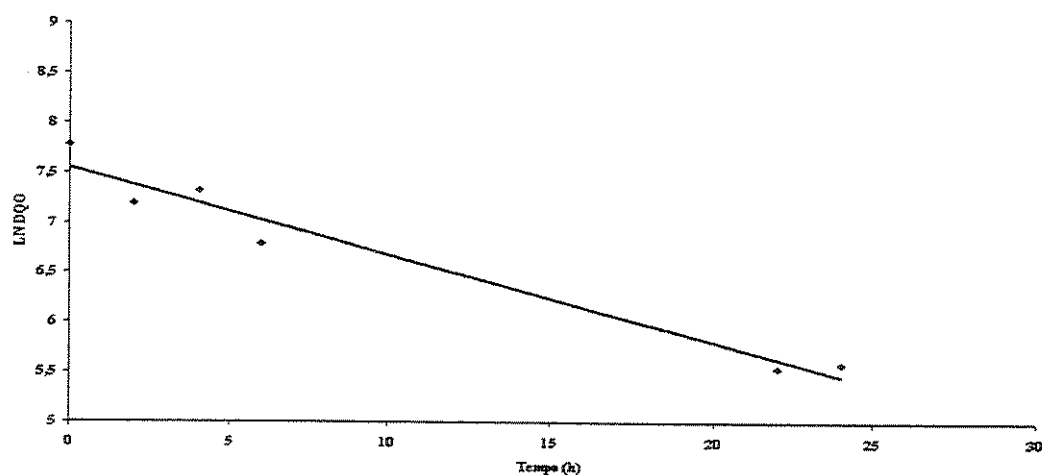


Figura 10 - Ln DQO em função do tempo do Experimento 2.A -1.

k = -0,087, R² = 0,9584.

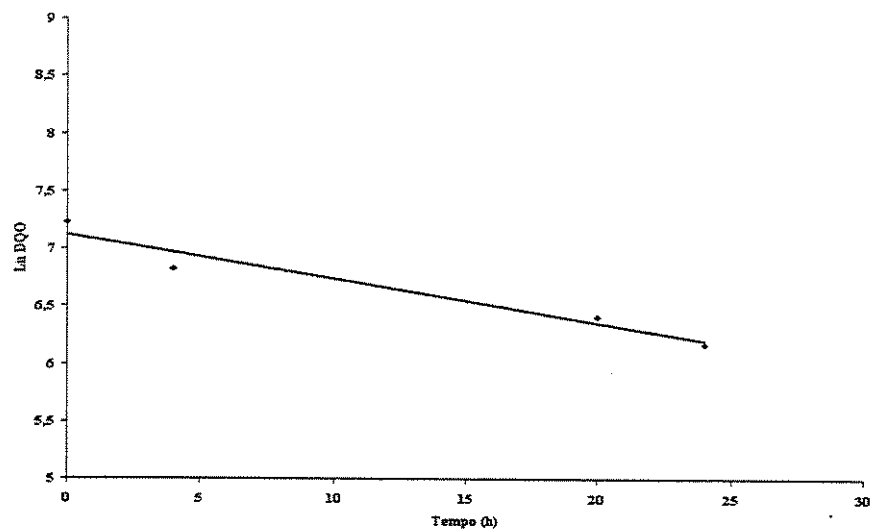


Figura 11 - Ln DQO em função do tempo do Experimento 2.B-1.

$k=0,0384$, $R^2 = 0,9436$

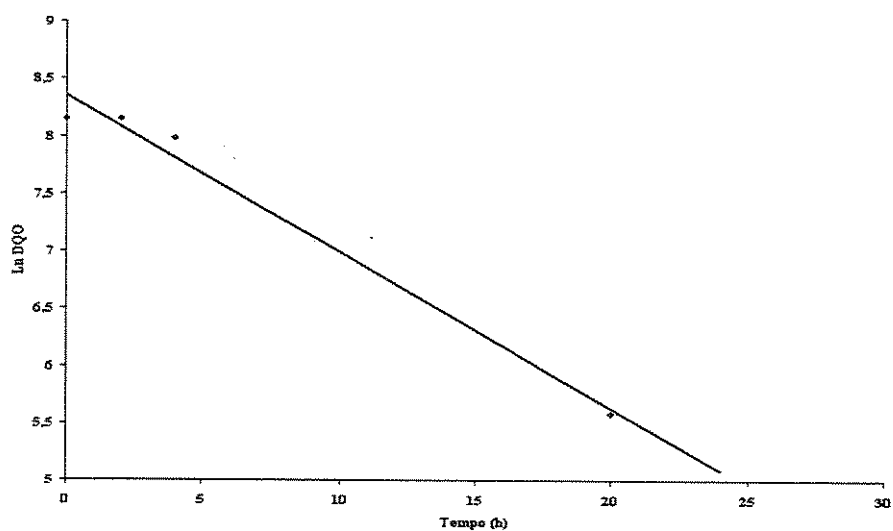


Figura 12 - Ln DQO em função do tempo do Experimento 2.B-3.

$k= -0,1363$, $R^2 = 0,9834$.

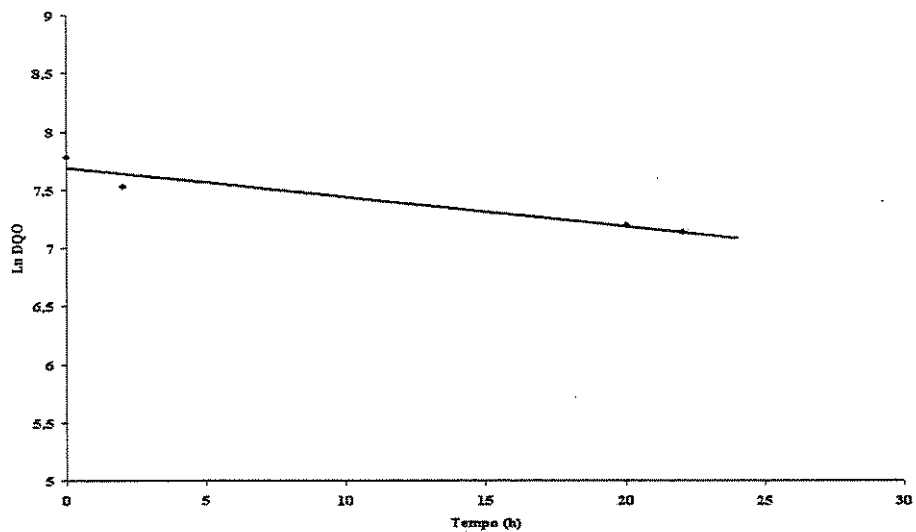


Figura 13 - Ln DQO em função do tempo do Experimento 2.C-2.

$k = -0,0251$, $R^2 = 0,926$.

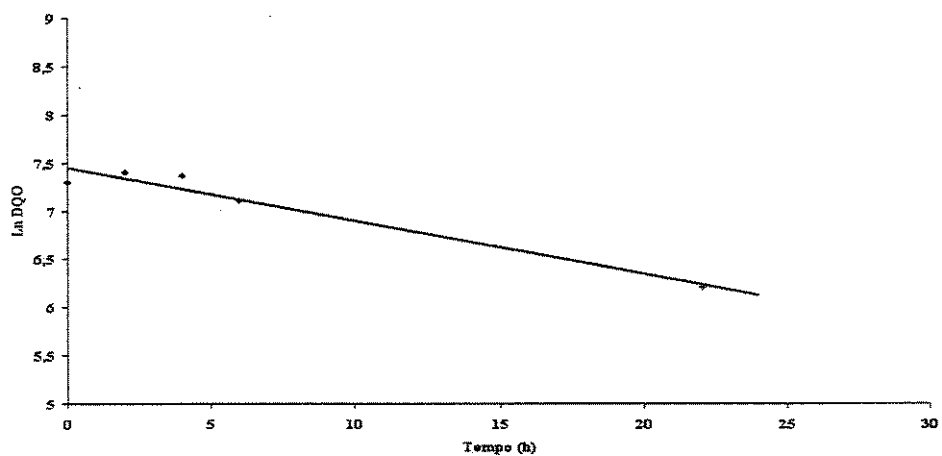


Figura 14 - Ln DQO em função do tempo do Experimento 2.C-3.

$k = -0,0551$, $R^2 = 0,9537$.

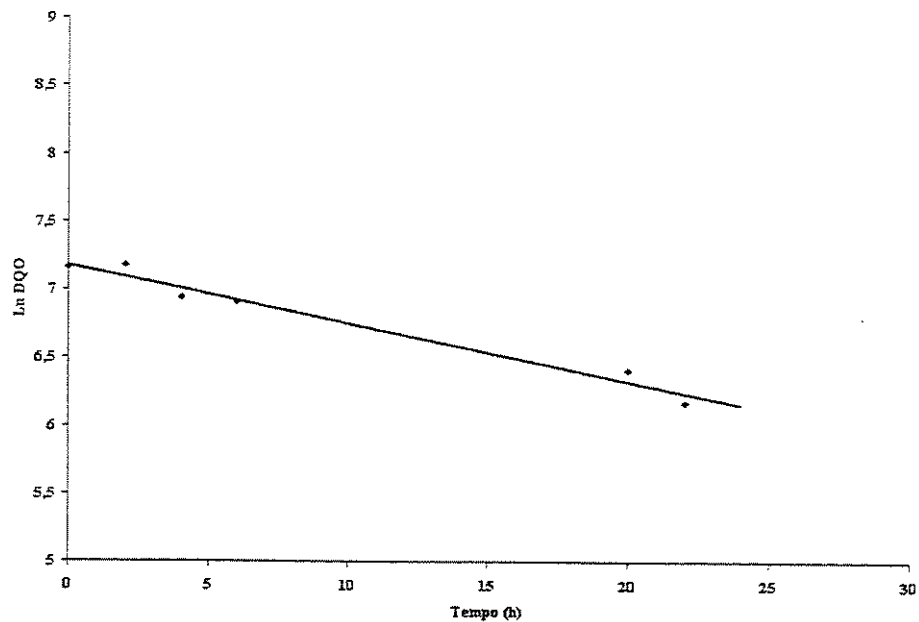


Figura 15 - Ln DQO em função do tempo do Experimento 2.D -1.
 $k = -0,0425$, $R^2 = 0,9707$.

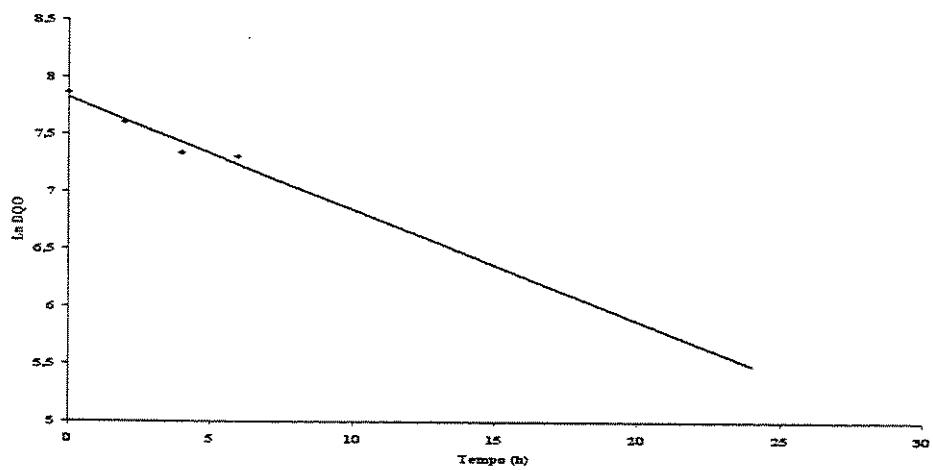


Figura 16 - Ln DQO em função do tempo do Experimento 2.D -3.
 $k = -0,0971$, $R^2 = 0,9247$.

Tabela 9 - Razão DQOn/DQOi em Função do Tempo no Experimento 2

Tempo (h)	0	2	4	6	20	22	24
Experimento							
2.A-1	1	0,556	0,630	0,369	0,333	0,107	0,111
2.B-1	1	0,471	0,667	0,536	0,442	0,486	0,348
2.B-3	1	1,000	0,846	0,231	0,333	-	-
2.C-2	1	0,778	0,333	0,321	0,555	0,524	0,333
2.C-3	1	1,181	1,068	0,824	0,676	0,338	0,142
2.D-1	1	0,985	0,799	0,775	0,473	0,372	0,163
2.D-2	1	0,967	0,967	1,000	0,967	0,967	0,933
2.D-3	1	0,777	0,592	0,573	0,515	0,312	0,042

O desempenho de remoção da DQO pelo sistema de LA é apresentado na tabela 9 e representado através dos gráficos das figuras 17 a 23 considerando o tempo de 6 horas e os experimentos observados anteriormente. No experimento 2.A-1 inicialmente, 2h, o tratamento teve 44% de remoção da carga poluidora, sendo que houve um pequeno aumento desta em 4h de tratamento, pois neste período a remoção foi de 37% em relação a DQO inicial. Neste período a MCS teve o valor diminuído em 2,77%, assim como o pH. Em 6h de tratamento a eficiência da diminuição da DQO foi de 63% e a MCS teve redução em 65,64%. No grupo A houve redução efetiva da MCS apenas a partir de 4h de tratamento. Entre 0 e 4h a MCS teve aumento ou se manteve próxima ao valor inicial em 2.A-1 e 2.A-4.

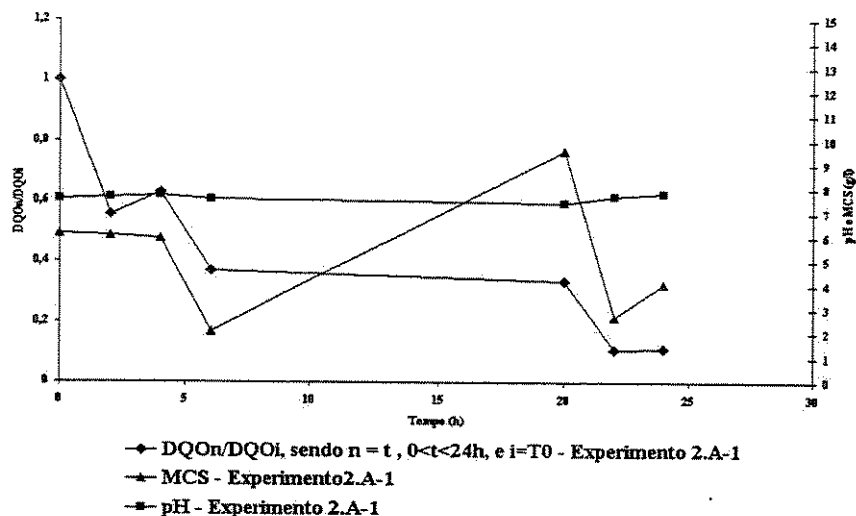


Figura 17 - Razão de concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Experimento 2.A-1.

Em 2.B-1 os valores da remoção da DQO foram de 53%, 33% e 46% nos tempos de 2, 4 e 6h respectivamente, e a MCS teve um aumento de 51% em 2 h de tratamento, reduzindo em 43,44% do valor inicial em 6h. Este aumento da MCS pressupõe que se deve a um crescimento do lodo. Em 2.B-3 nas primeiras duas horas do tratamento não houve alteração da DQO, no entanto 15% da remoção da carga poluidora foram atingidos em 4h e 77% em 6h de tratamento, no entanto houve um aumento significativo da MCS nas primeiras duas horas do tratamento, de 259%, sendo que em 6h a massa havia sido reduzida, mas ainda estava muito acima do valor inicial, 114,6%. No entanto em 2.B-2 não houve aumento da MCS.

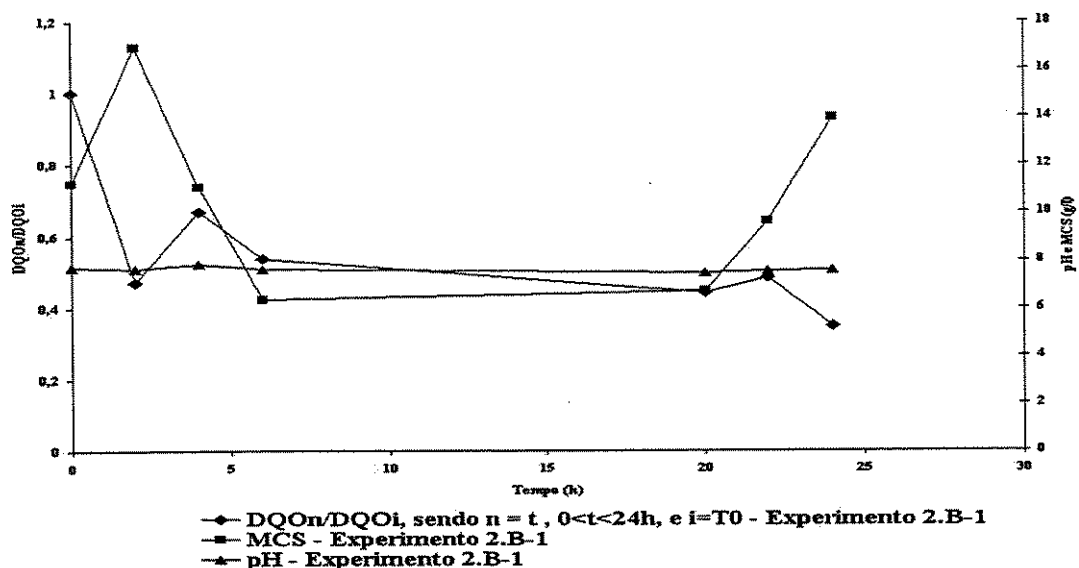


Figura 18 - Razão de concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Experimento 2.B-1.

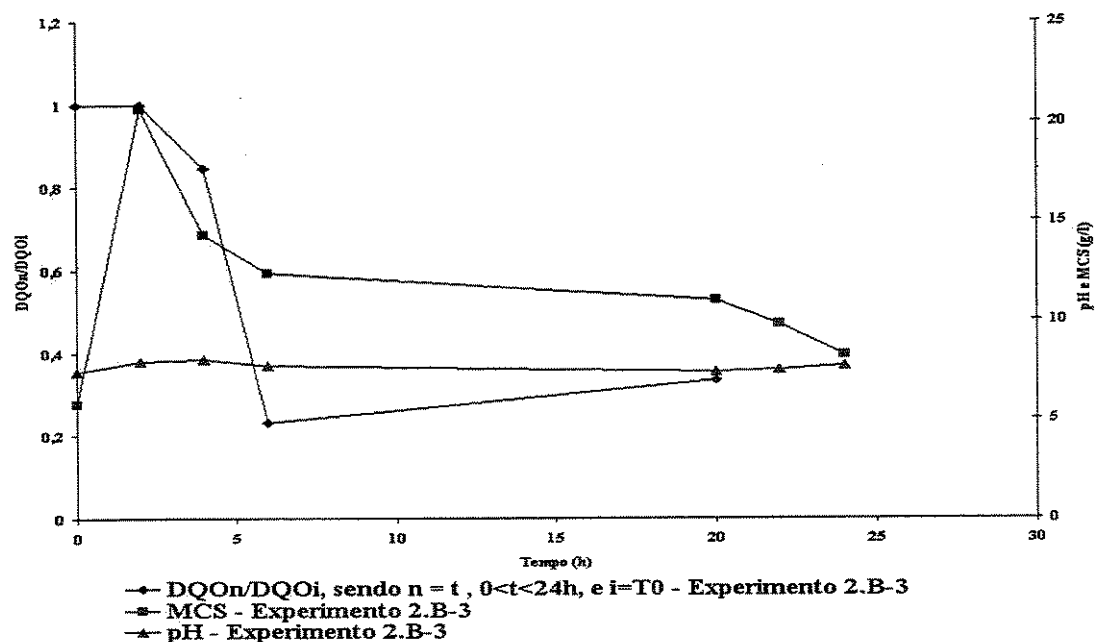


Figura 19 - Razão de concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Experimento 2.B-3.

No experimento 2.C-2 também houve aumento da MCS, no entanto de 14,4% e 37,78% as primeiras 4 h do tratamento. Em 2h, no experimento 2.C-2, a diminuição da DQO foi de 22%, depois houve certa estabilidade com valores 67% e 68% da remoção da DQO nos períodos de 4 e 6h respectivamente sendo que o lodo foi reduzido em quase 100% de 4h para 6h e 37,8% do valor inicial da MCS. Já o experimento 2.C-3 apresentou aumento inicial da DQO tanto em 2h como em 4h do tratamento com 18% e 7% respectivamente, e apenas redução dos valores de MCS, em 43,78; 39,5 e 69,25 % nos períodos de 2, 4 e 6h de tratamento. A redução do valor da DQO ocorre em 6h de tratamento com 18% de diminuição em relação ao valor inicial. A MCS apresentou redução significativa apenas após 4h de tratamento.

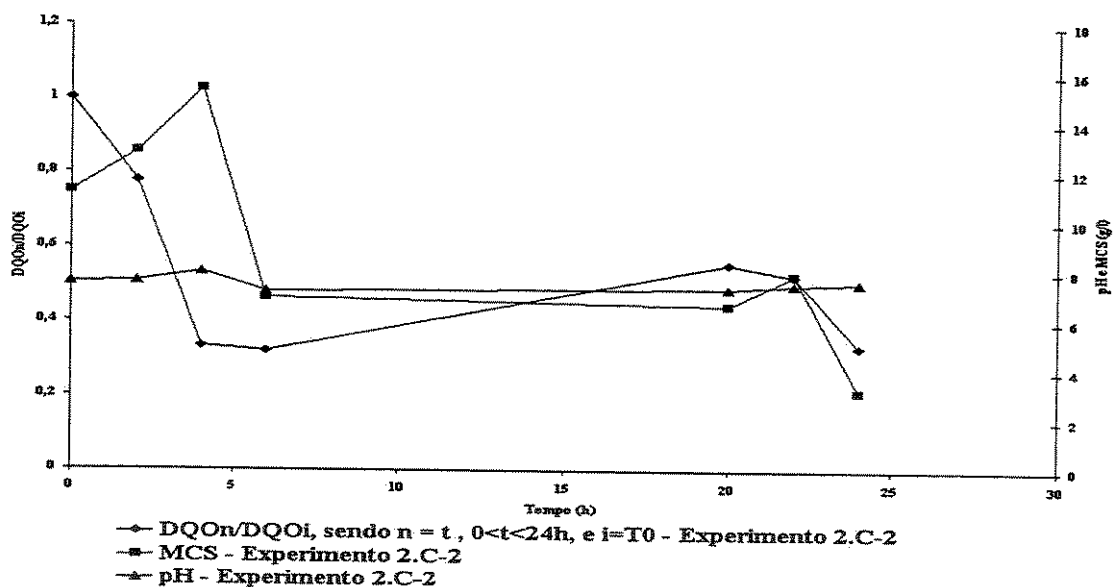


Figura 20 - Razão de concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Experimento 2.C-2.

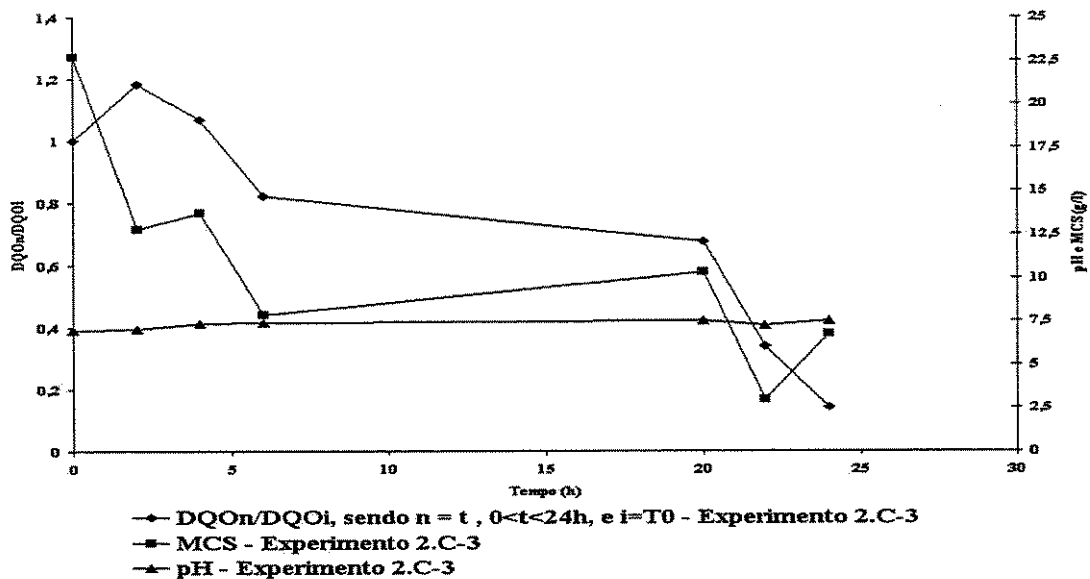


Figura 21 - Razão de concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Experimento 2.C-3.

O experimento 2.D-1 apresentou 2% de diminuição do valor da DQO em 2 h e um pequeno aumento na MCS, 16,8%. Em 4h foram 20% de diminuição do valor da DQO e 23% em 6h com 26,8% de diminuição do valor inicial da MCS. A diminuição da carga poluidora no experimento 2.D-2 foi de 3% em 2 e 4h, voltando ao valor inicial após 6h de tratamento. Após 2h de tratamento do experimento 2.D-3 houve 22% de remoção da DQO, em 4h de tratamento com 16,13% de redução da MCS. Em 6h a MCS foi reduzida em 16,77% e a remoção da DQO foi de 43% em 6h de tratamento. Neste grupo houve redução dos valores de MCS após 2 h de tratamento com aumento após 4 h, mas não maiores que os valores iniciais.

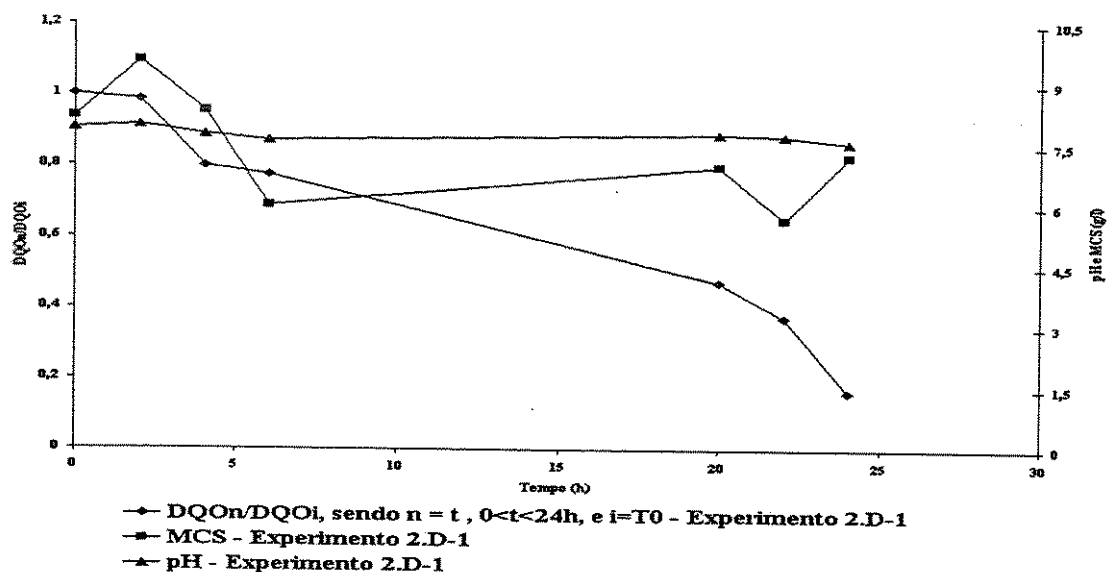


Figura 22 - Razão de concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Experimento 2.D-1.

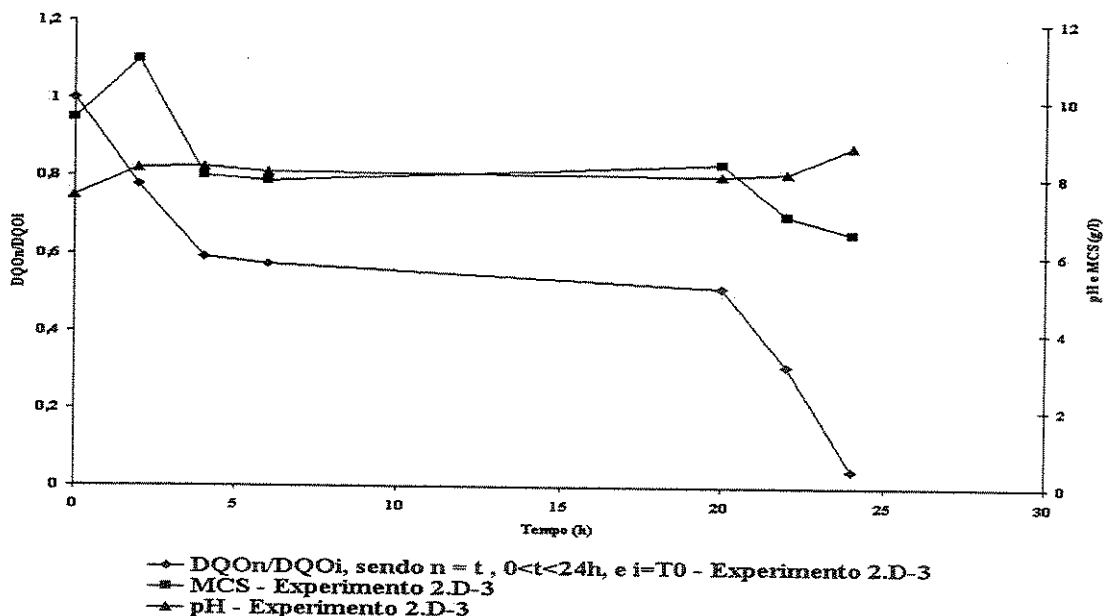


Figura 23 - Razão de concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Experimento 2.D-3.

O tratamento dos grupos controle que apresentaram valores de remoção da DQO igual ou acima de 50% em seis horas de tratamento foram 2.B-3 com 77%, 2.C-2 com 68% e 2.A-1 com 63%. A curva dos experimentos descrita pelas variações da DQO, dada através da razão DQO_n/DQO_i , do pH e da MCS em função do tempo do tratamento estão representadas nos gráficos das figuras 25 a 31. Nestas figuras pode-se observar que a variação do pH é mínima, obedecendo a um comportamento linear, porém as variações da massa celular seca, assim como da DQO não obedecem a um padrão, tendo variações positivas e negativas no decorrer do tratamento.

Medidas e análise da MCS

A variação da massa do LA, medido através da massa celular seca é observada através dos gráficos da Figura 2.9. O crescimento médio nas 2 horas iniciais do tratamento foi de 5%, sendo que após quatro horas foi observado aumento da massa celular seca dos experimentos 2.A e 2.C em média de 10%. No tempo igual a 6h, houve decréscimo em todos os experimentos com variações médias entre 10% a 40% de massa celular seca, já nos tempos 20, 22 e 24h houve aumento da massa celular seca em todos os experimentos conforme tabela 7.

Tabela 10 - Medidas de Massa Celular Seca (g/L) do Experimento 2

Tempo (h)	0	2	4	6	20	22	24
Experimento							
2.A-1	6,14	6,06	5,97	2,11	9,59	2,68	4,07
2.A-2	11,46	13,37	15,68	13,81	12,56	10,69	9,83
2.A-3	12,1	14,26	16,53	12,08	10,99	14,51	15,18
2.A-4	19,44	18,82	19,38	12,75	13,25	11,63	13,33
2.B-1	11,21	16,93	11,06	6,34	6,71	9,6	13,98
2.B-2	6,46	5,64	5,47	5,98	5,44	5,913	6,54
2.B-3	5,74	20,63	14,28	12,32	10,96	9,579	8,22
2.C-1	6,02	5,32	6,32	5,96	5,19	5,12	6,42
2.C-2	11,22	12,84	15,38	6,98	6,64	7,89	3,18
2.C-3	22,7	12,76	13,73	7,84	10,3	2,95	6,73
2.D-1	8,21	9,59	8,34	6,01	6,98	5,68	7,23
2.D-2	1,795	0,92	0,01	1,99	4,48	0,168	2,5
2.D-3	9,48	11,01	8,02	7,89	8,35	7,01	6,56

Medidas e análise do pH

No Experimento Controle, i.e, no Experimento 2 os valores medidos do pH no decorrer do tratamento tiveram pouca variação, permanecendo valores próximos a neutralidade (tabela 8), indicando que o tratamento pelo LA não alterou significativamente o pH da água residuária tratada (figuras de 26 a 31).

Tabela 11 -Valores Medidos do pH no Experimento 2

Tempo	0	2	4	6	20	22	24
Experimento							
2.A-1	7,56	7,64	7,72	7,58	7,41	7,69	7,82
2.A-2	7,41	7,32	7,66	7,15	7,57	7,35	7,56
2.A-3	7,66	7,94	7,86	7,54	7,21	7,24	7,68
2.A-4	7,18	7,22	7,86	7,51	7,47	7,53	7,71
2.B-1	7,71	7,63	7,83	7,64	7,48	7,53	7,59
2.B-2	7,7	7,77	7,72	7,49	7,51	7,54	7,49
2.B-3	7,4	7,9	7,98	7,68	7,37	7,49	7,68
2.C-1	7,89	7,83	7,74	7,54	7,58	7,55	7,37
2.C-2	7,58	7,62	7,99	7,24	7,36	7,51	7,59
2.C-3	6,96	7	7,36	7,41	7,49	7,26	7,52
2.D-1	7,92	7,99	7,77	7,62	7,78	7,74	7,59
2.D-2	7,61	7,89	7,62	7,45	7,38	7,54	7,69
2.D-3	7,5	8,22	8,24	8,11	8,03	8,1	8,8
2.E-1	7,2	7,19	7,23	7,42	7,46	7,24	7,52
2.E-2	7,5	8,03	7,86	7,69	7,4	7,37	7,6
2.E-3	6,13	5,5	5,96	6,21	6,78	7,49	7,59
2.E-4	5,9	5,48	5,49	5,53	6,24	7,48	7,84

6.2.3 Estudo do tratamento de água residuária tratada pelo sistema de lodos ativados com a adição da bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* do Experimento 3

Aspecto Macroscópico do Sistema de Lodo Ativado

Conforme foi visto anteriormente no capítulo que descreve características do LA, visualmente o lodo possui um aspecto homogêneo, com coloração marrom claro, e possui viscosidade considerada normal. No experimento conduzido com a adição de *Kokuria rizofila kovács* foi observado, a olho nu, grande mudança no aspecto do lodo imediatamente após a adição da cultura desta bactéria no sistema de tratamento. O LA imediatamente apresentava-se coalescido, sem formação de espuma nem mesmo sedimentação. Os flocos aumentavam de tamanho, e permaneciam em suspensão e dispersos na água residuária.

A forma homogênea apresentada anteriormente foi alterada, se tornaram distintas duas fases, uma constituída de flocos e outra uma fase com maior concentração de água residuária. e células menores não ligadas a matriz do floco, que apresentaram crescimento à medida que o tempo de tratamento ia transcorrendo. Através de observação por microscopia ótica foram observadas variações na estrutura do floco.

Os resultados da adição da cultura de *Kokuria rhizophila kovacs* ao LA no período de tratamento da água residuária fez despertar outros interesses a serem posteriormente investigados, pois no ato da adição da cultura, instantaneamente o lodo sofreu agregação, tornando o seu aspecto coalescido.

Aspecto Microscópico do Sistema de Lodo Ativado

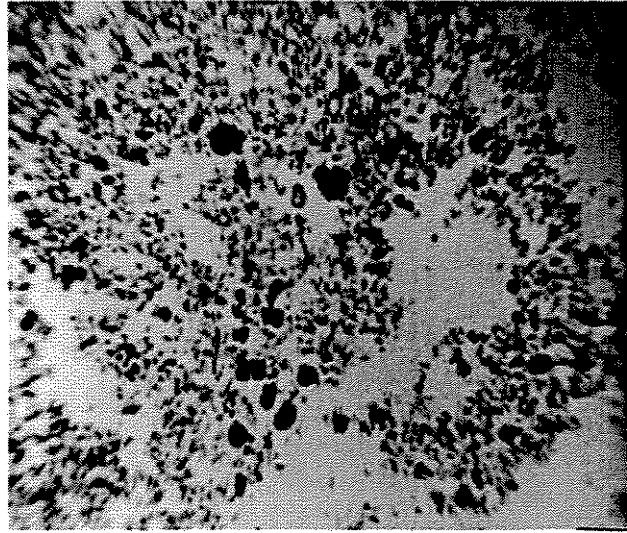
Segundo foi visto anteriormente, JORAND et al. (1998) relataram estudo sobre as interações hidrofóbicas no sistema de LA e a conseqüente formação de flocos, formado por uma matriz polimérica e bactérias que se associam a ela.

No estudo realizado com a água residuária de indústria de processamento de processamento de óleos tratados pelo sistema de lodos ativados em batelada no período de 6h, foi observado a mudança na estrutura dos flocos do LA, quando foi adicionado ao LA

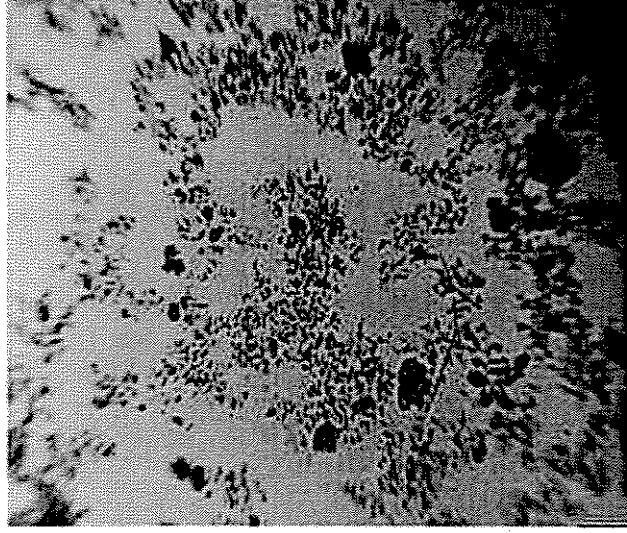
60ml da cultura de *Kokuria rizofila kovacs*. Apesar da modificação observada macroscopicamente, as micrografias não permitem fazer indagações além da agregação do LA no tempo 0h. Por outro lado, no tempo igual a 2h o lodo é totalmente característico no experimento 3, com flocos menores e mais coesos, além de apresentarem maior concentração e espalhamento mais homogêneo e em 24h foram observados diminuição do LA, sugerindo morte do LA.

No aumento menor do microscópio observa-se de forma bastante definida a variação do lodo quanto a sua concentração, em alguns casos mostrando o declínio da cultura do LA talvez gerada pela adição de cultura de *Koduria sp*. Pode-se também observar maiores distanciamentos entre os flocos. Esta estrutura observada através do aumento panorâmico remete aos resultados observados macroscopicamente no reator, onde foi observada a coalescência do LA.

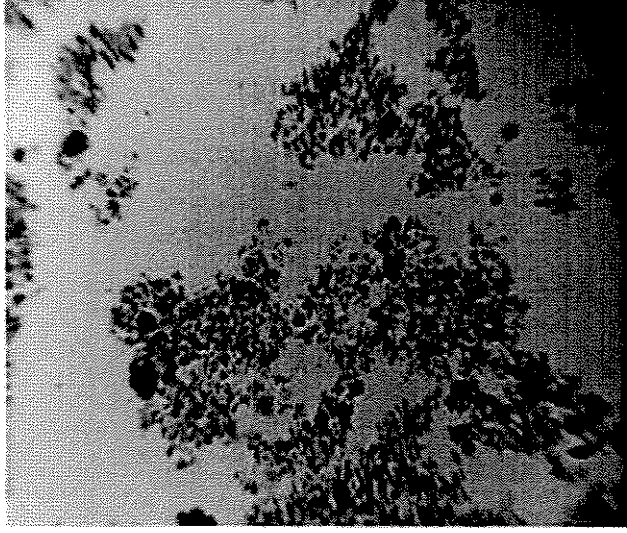
A figura 36 mostra o lodo antes e depois da adição da cultura. A diferença entre as fotos do Experimento 2 e Experimento 3 pode ser atribuída a algum fator produzido pela bactéria que produziu variação na formação dos flocos do LA. Também se nota menor viscosidade presente no lodo após a adição da *Kokuria rhizophila kovacs*, conduzindo a hipótese de alteração nas substâncias exopoliméricas (SEP).



3.D-1. LA antes da adição da cultura de *Kokuria rhizophila kovacs*, apresenta-se de forma bastante concentrada e homogênea, apresentando os flocos bastante agregados.

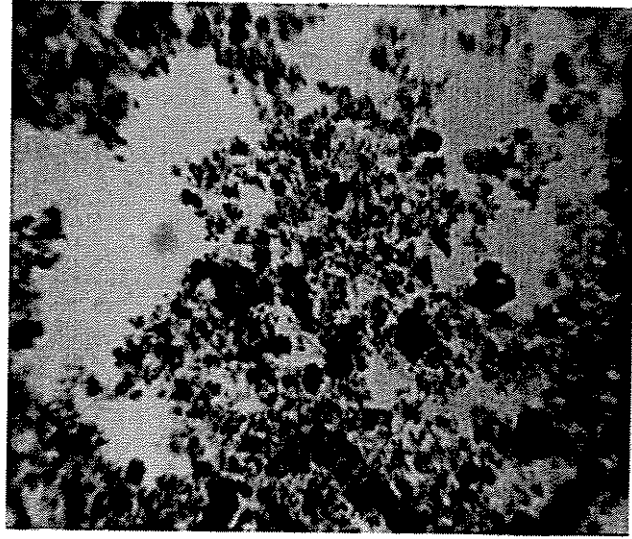


3.D-2. Esta micrografia evidencia a *Kokuria rhizophila kovacs*, após a descontinuidade sofrida pelo LA após a descontinuidade sofrida no lodo após a adição da cultura de *Kokuria rhizophila kovacs*.

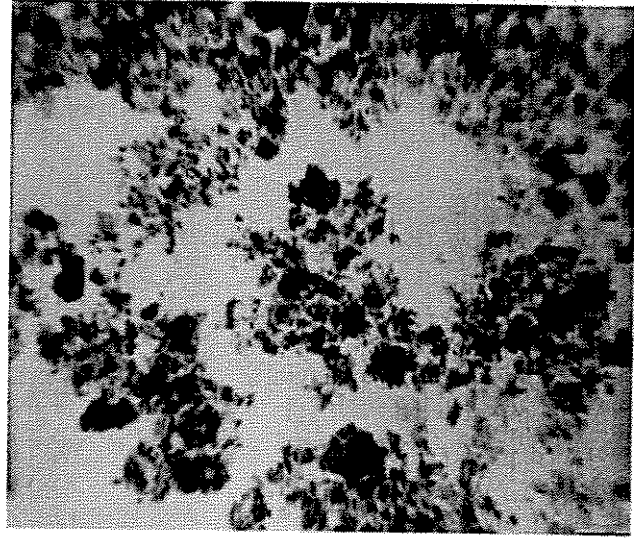


3.D-3. Esta micrografia evidencia a *Kokuria rhizophila kovacs*, após a descontinuidade sofrida no lodo após a adição da cultura de *Kokuria rhizophila kovacs*.

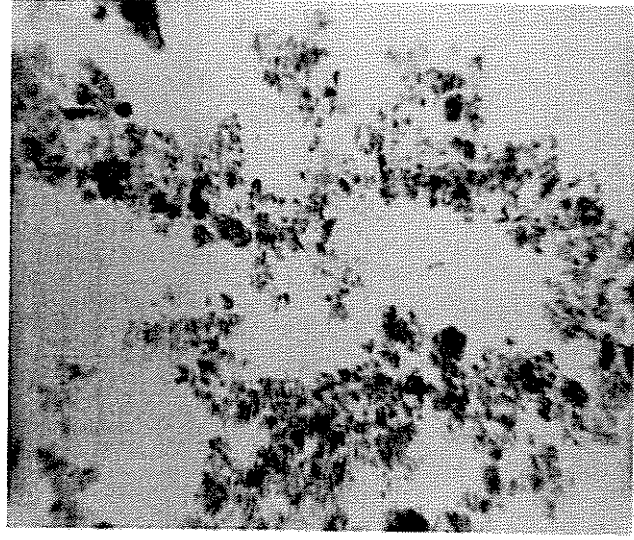
Figura 24 - Micrografias do lodo ativado depois da adição da cultura de *Kokuria rhizophila kovacs*, no tempo igual a 0h. A formação do lodo apresenta “núcleos” bastante concentrados e tamanho bastante reduzidos, da ordem de 25 μm . Aumento de 40x. Experimento 3



3.D-1.LA disposto em forma bastante aglutinada.

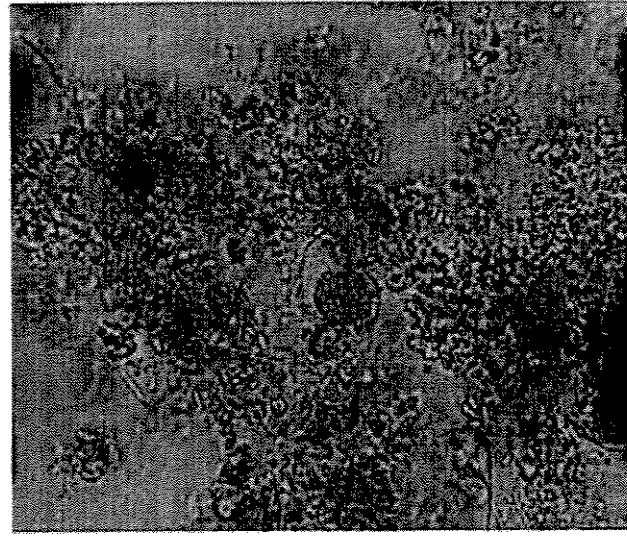


3.D-2. LA disposto em forma aglutinada.

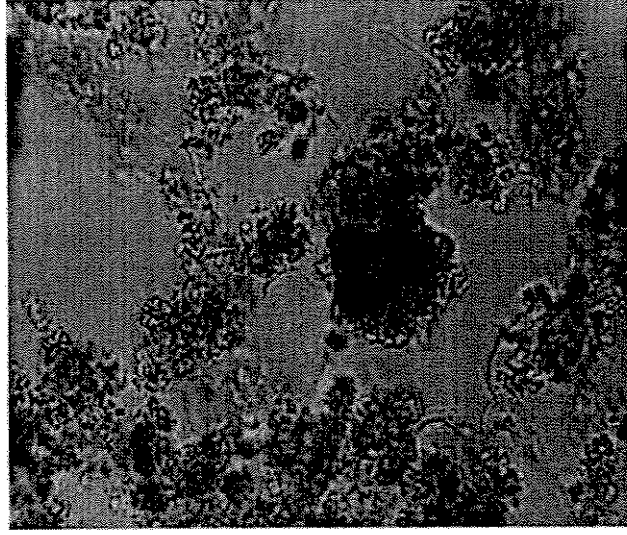


3.D-3 LA disposto de forma aglutinada, apresenta-se de forma pouco concentrada que os lodo observado nos experimentos anteriores;

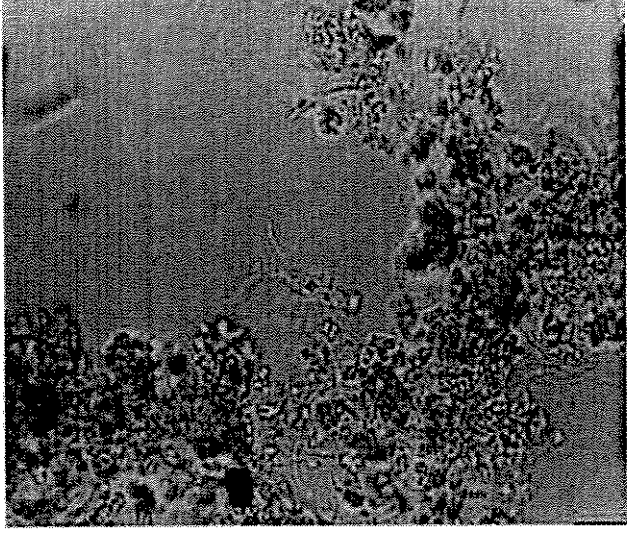
Figura 25 - Micrografias do LA depois da adição da cultura de *Kokuria rhizophila kovacs*, no tempo igual a 0h. Parece não haver estrutura de floco bem definida quanto ao tamanho, o LA apresenta um aspecto mucilaginoso Aumento de 100x.



Experimento 3.D-1. Pode-se observar um agregado do lodo, sem que haja a formação de um floco, ou o floco no entanto os flocos não possuem um padrão de tamanho e estrutura. Existem discretas formações filamentosas com composição bastante heterogênea.

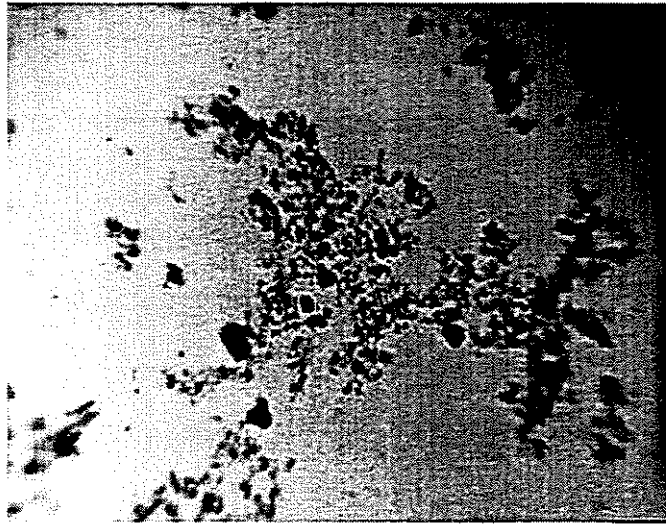


Experimento 3.D-2. Nesta micrografia o lodo parece estar estruturado em flocos, floco não é definido, sendo que se apresenta de forma contínua, amorfos e bastante dispersos, isto é, não se encontram agregados. Possui discreta formação filamentosa, e parece ter a constituição bastante heterogênea.

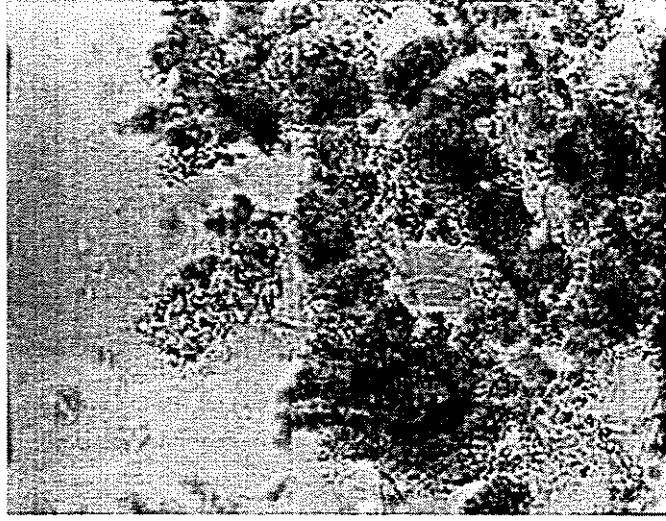


Experimento 3.D-3. O formato do floco não é definido, sendo que se apresenta de forma contínua, amorfos e bastante dispersos, isto é, não se encontram agregados. Possui discreta formação filamentosa, e parece ter a constituição bastante heterogênea.

Figura 26 - Micrografias do lodo ativado depois da adição da cultura de *Kokuria rhizophila kovacs*, no tempo igual a 0h. Aumento de 400x.



Experimento 3.D-1 LA bastante esparsa. Morte do lodo ativado. Aumento 40x.



Experimento 3.D-2. Lodo apresenta-se de forma coesa, composição heterogênea. Aumento 40x.

Figura 27 - Micrografias do lodo ativado depois da adição da cultura de *Kokuria rhizophila kovacs*, no tempo igual a 24h.

6.2.4 Estudo do tratamento de água residuária tratada pelo sistema de lodos ativados com a adição da bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs*

Medidas e análise da DQO

As variações dos valores de concentração de DQO apresentaram grandes amplitudes nos diferentes experimentos dentro do mesmo grupo, como visto anteriormente, conforme mostra a Tabela 12.

Tabela 12 - Valores Medidos da Concentração de DQO do Experimento 3

Tempo (h)	0	2	4	6	20	22	24
Experimento							
3.A-1	7733	6133	6267	6400	5880	3467	4800
3.A-2	1600	640	480	1654	1440	800	1120
3.A-3	3245	640	485	1120	1760	1600	2560
3.A-4	2080	1760	2240	1120	3200	2240	2080
3.B-1	1475	730	1130	760	1180	660	440
3.B-2	1600	2080	2400	1120	2880	1280	1120
3.B-3	5067	3467	3467	1867	800		
3.C-1	1500	1880	320	320	254	220	280
3.C-2	1667	833	467	650	233	250	267
3.C-3	1440	1200	1190	1070	1007	820	980
3.D-1	3000	960	1020	810	710	870	130
3.D-2	8.080	10019	9373	9696	7757	7110	8403
3.D-3	1790	1720	1420	1430	1310	600	110

Através do Ln DQO não se pôde determinar a constante de velocidade de remoção da DQO (k), dada pelos coeficientes angulares das equações de retas traçadas pelo Ln em função do tempo, pois estes tratamentos não apresentaram cinética de primeira ordem. O modelo de cinética de primeira ordem para remoção de DQO não mostrou bom ajuste, indicando que este modelo não é adequado, provavelmente ocorrendo por altas concentrações de DQO ou por efeito da adição da cultura de *Kokuria rhizophila kovacs*.

A análise do desempenho de remoção da DQO pelo sistema de LA entre os experimentos foi realizada pela razão da DQOn, isto é, nos períodos igual a 0, 2, 4, 6, 20, 22 e 24 h, pelo valor da DQO inicial (DQOi), conforme apresentados na Tabela 10; apesar do tratamento total ter ocorrido em 24h, conforme a Figura 41 a 45 o tratamento mostrou ter melhor eficiência de remoção das concentrações de DQO ocorreu no tempo de 6h, mas do decorrer do tratamento foram intermitentes ganhos e perdas de DQO, e no período de 20h a 24h do tratamento foram observadas perda da massa do LA e modificações da composição e estrutura do LA através das micrografias.

Tabela 13 – Valores da Razão DQOn/DQOi do Experimento 3

Tempo (h)	0	2	4	6	20	22	24
Experimento							
3.A-1	1	1,261	0,810	0,828	0,760	0,448	0,62
3.A-2	1	0,4	0,75	0,345	0,871	0,556	1,4
3.A-3	1	0,197	0,149	0,345	0,542	0,493	0,789
3.B-1	1	0,495	0,766	0,515	0,8	0,448	0,298
3.B-3	1	0,684	0,684	0,368	0,158		
3.C-1	1	1,253	0,213	0,213	0,169	0,147	0,1867
3.C-2	1	0,500	0,2800	0,390	0,1400	0,150	0,160
3.C-3	1	0,833	0,826	0,743	0,699	0,569	0,681
3.D-1	1	0,32	0,34	0,27	0,237	0,29	
3.D-2	1	1,24	1,16	1,2	0,96	0,88	1,04
3.D-3	1	0,961	0,793	0,799	0,732	0,335	0,062

As figuras 45 a 59 mostram o comportamento relativo a redução da DQO no período dos experimentos e a eficiência do tratamento através das medidas obtidas da DQOn/DQOi presentes na Tabela 10.

Os experimentos do Grupo A, inoculados com 50ml da cultura de *Kokuria rhizophila kovacs* tiveram a variação da concentração de DQO apresentando grande amplitude. Nas primeiras 2 h de tratamento foram observadas as seguintes percentagens de remoção da carga poluidora: No experimento 3.A-1 houve aumento da carga poluidora em 20% nas primeiras 2h, com aumento da MCS de 14,74 %; em 4h a DQO apresentou maior valor, foram 25% de aumento em relação a DQO inicial e em 6h a diminuição da DQO foi de 17% havendo redução da MCS para 3,35% do valor inicial. No experimento 3.A-2 a

A análise do desempenho de remoção da DQO pelo sistema de LA entre os experimentos foi realizada pela razão da DQOn, isto é, nos períodos igual a 0, 2, 4, 6, 20, 22 e 24 h, pelo valor da DQO inicial (DQOi), conforme apresentados na Tabela 13; apesar do tratamento total ter ocorrido em 24h, conforme a Figura 28 a 40 o tratamento mostrou ter melhor eficiência de remoção das concentrações de DQO ocorreu no tempo de 6h, mas do decorrer do tratamento foram intermitentes ganhos e perdas de DQO, e no período de 20h a 24h do tratamento foram observadas perda da massa do LA e modificações da composição e estrutura do LA através das micrografias.

Tabela 13 – Valores da Razão DQOn/DQOi do Experimento 3

Tempo (h)	0	2	4	6	20	22	24
Experimento							
3.A-1	1	1,261	0,810	0,828	0,760	0,448	0,62
3.A-2	1	0,4	0,75	0,345	0,871	0,556	1,4
3.A-3	1	0,197	0,149	0,345	0,542	0,493	0,789
3.B-1	1	0,495	0,766	0,515	0,8	0,448	0,298
3.B-3	1	0,684	0,684	0,368	0,158		
3.C-1	1	1,253	0,213	0,213	0,169	0,147	0,1867
3.C-2	1	0,500	0,2800	0,390	0,1400	0,150	0,160
3.C-3	1	0,833	0,826	0,743	0,699	0,569	0,681
3.D-1	1	0,32	0,34	0,27	0,237	0,29	
3.D-2	1	1,24	1,16	1,2	0,96	0,88	1,04
3.D-3	1	0,961	0,793	0,799	0,732	0,335	0,062

As figuras 28 a 40 mostram o comportamento relativo a redução da DQO no período dos experimentos e a eficiência do tratamento através das medidas obtidas da DQOn/DQOi presentes na Tabela 13.

Os experimentos do Grupo A, inoculados com 50ml da cultura de *Kokuria rhizophila kovacs* tiveram a variação da concentração de DQO apresentando grande amplitude. Nas primeiras 2 h de tratamento foram observadas as seguintes percentagens de remoção da carga poluidora: No experimento 3.A-1 houve aumento da carga poluidora em 20% nas primeiras 2h, com aumento da MCS de 14,74 %; em 4h a DQO apresentou maior valor, foram 25% de aumento em relação a DQO inicial e em 6h a diminuição da DQO foi de 17% havendo redução da MCS para 3,35% do valor inicial. No experimento 3.A-2 a

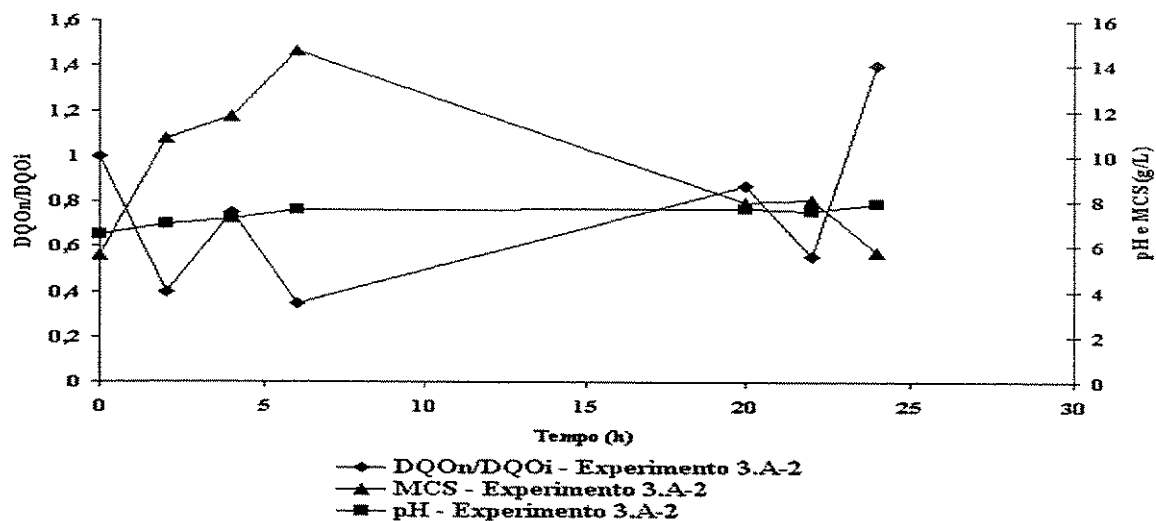


Figura 29 - Razão da concentração de DQ_{On}/DQ_{Oi} de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo. Tratamento com adição de 2,5% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 47,5% de água residuária. Experimento 3.A-2.

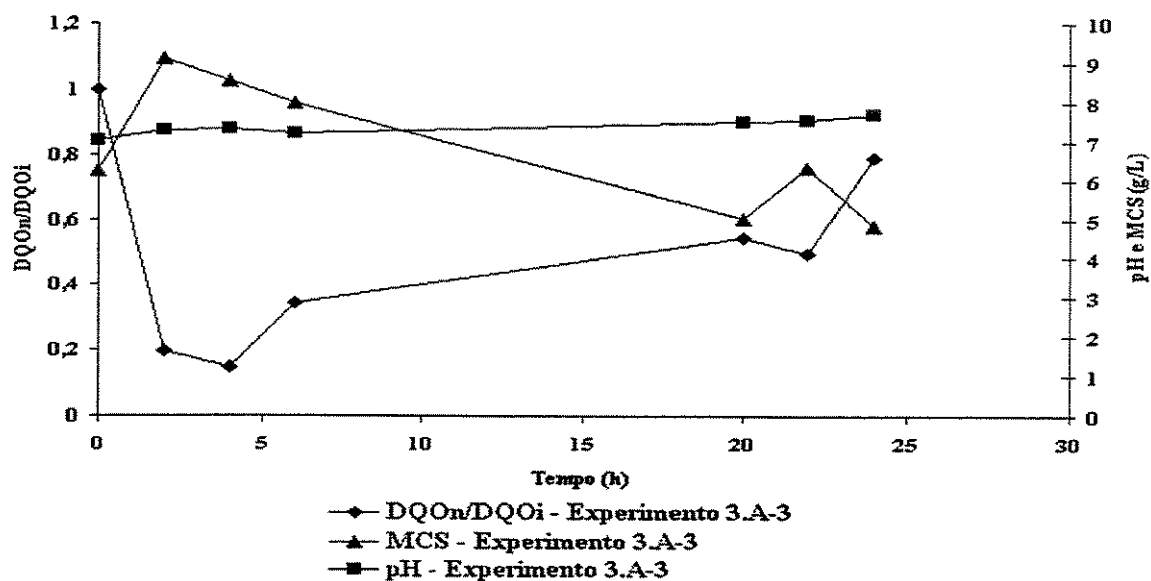


Figura 30 - Razão da concentração de DQ_{On}/DQ_{Oi} de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 2,5% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria*

rhizophila kovacs em 50% de lodo ativado e 47,5% de água residuária. Experimento 3.A-3.

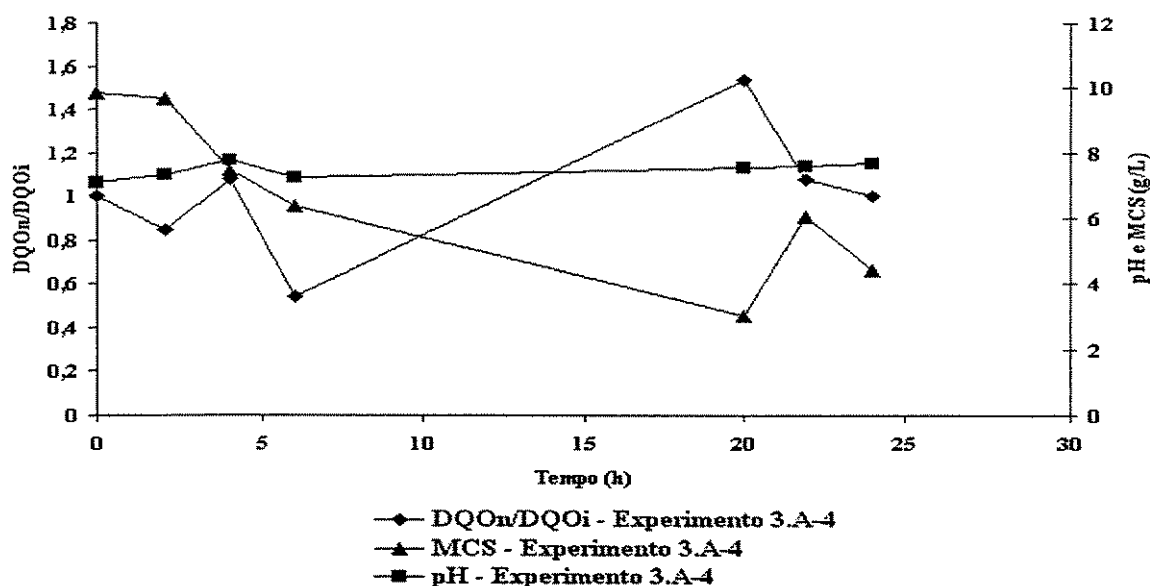


Figura 31 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 2,5% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 47,5% de água residuária. Experimento 3.A-4.

Os experimentos do Grupo B foram inoculados com 40ml da cultura de *Kokuria rhizophila kovacs* e apresentaram diminuição dos valores de concentração de DQO no experimento 3.B-1 de 50%, 23% e 48% nos tempos de 2, 4 e 6h de tratamento, apresentando grande aumento da MCS, sendo de 92,5%, 110,8% e 163,8% respectivamente, sugerindo também o aumento do microrganismo adicionado, a *Kokuria sp* e a morte de outros microrganismos próprios do LA.

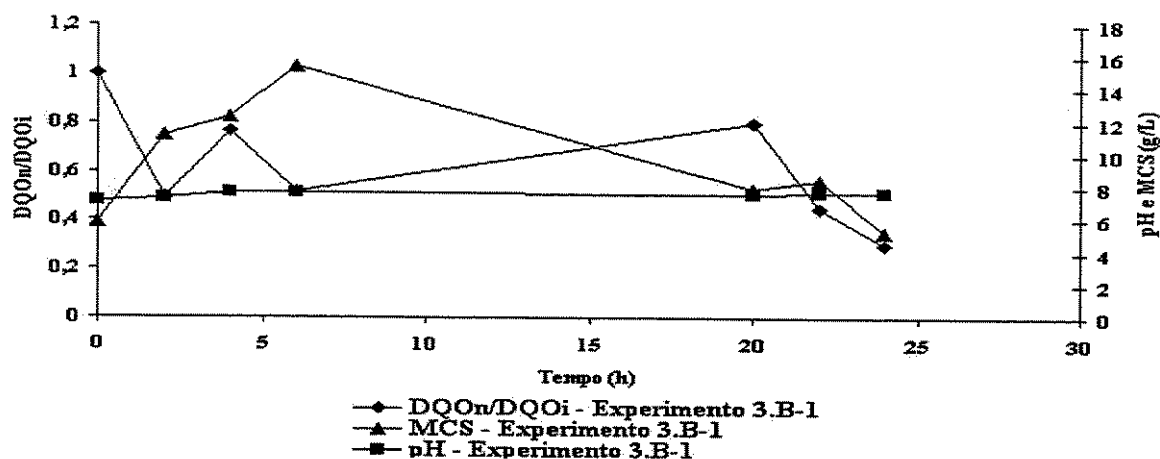


Figura 32 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo - Tratamento com adição de 2,0% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 48% de água residuária. Experimento 3.B-1.

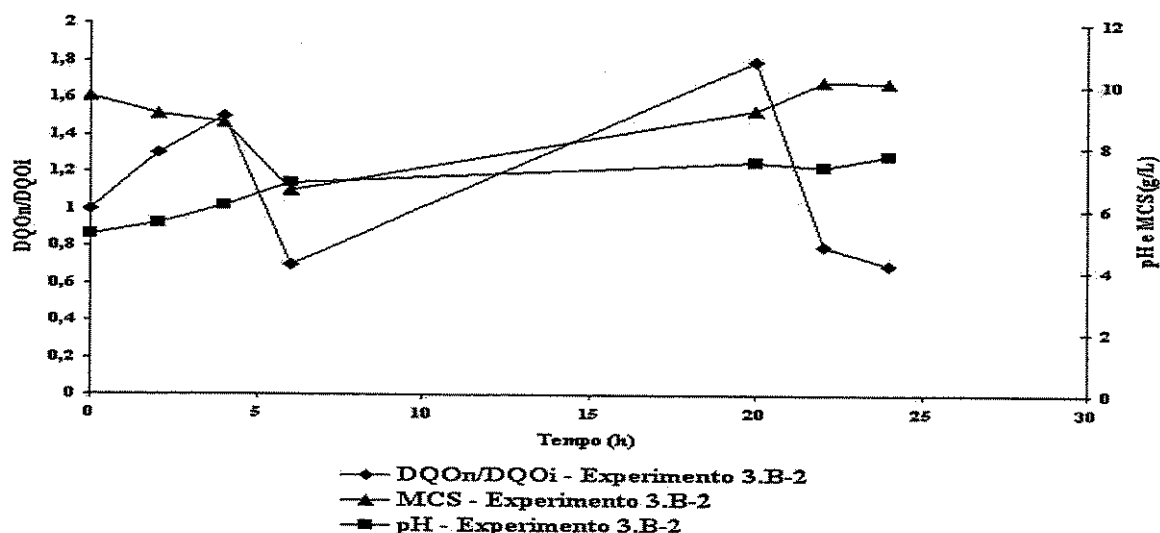


Figura 33 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo - Tratamento com adição de 2,0% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 48% de água residuária. Experimento 3.B-2.

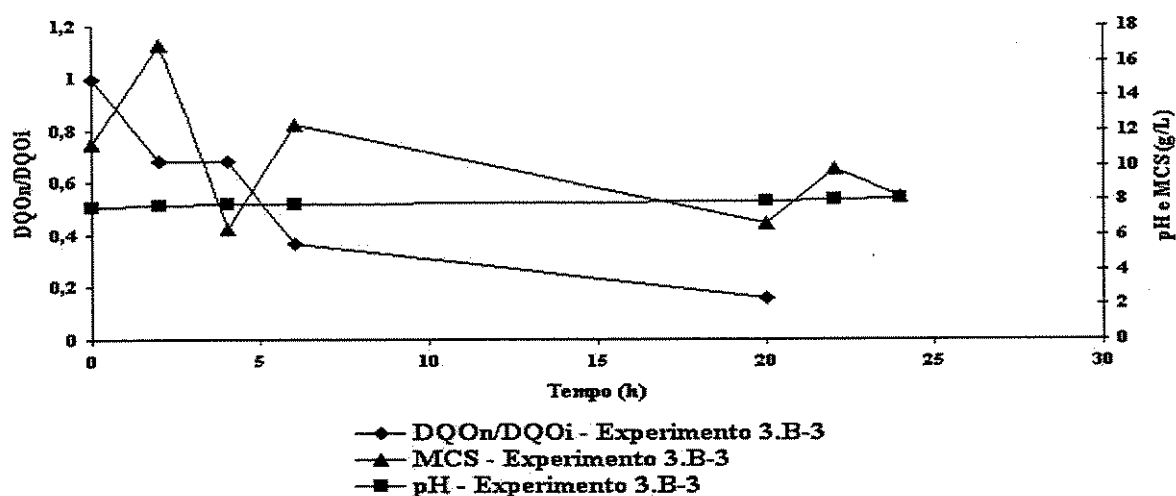


Figura 34 - Razão da concentração de DQ_{On}/DQ_{Oi} de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 2,0% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 48% de água residuária. Experimento 3.B-3.

Nos ensaios do Grupo C com 55ml da cultura de *Kokuria sp.* o experimento 3.C-1 houve aumento do valor da DQO em 25% inicialmente, após 4 e 6h a DQO teve o valor diminuído em 78% em relação ao valor inicial. Já nas primeiras duas horas de tratamento o experimento 3.C-2 a eficiência do tratamento foi de 51%, sendo este valor aumentado e mantido em 61% nos tempos iguais a 4 e 6h. No experimento 3.C-3 17% foi a remoção da DQO nos tempos 2 e 4h, e em 6h a diminuição da DQO foi de 26%. Os experimentos deste grupo foram os que apresentaram maior uniformidade no comportamento das curvas dadas pelos valores da MCS, sendo que todas apresentaram um aumento de MCS e após 4 h de tratamento houve diminuição destes valores e apresentado ao final do tratamento 10,8% de aumento em 3.C-1, 5,4% em 3.C-2 e 17,4% em 3.C-3.

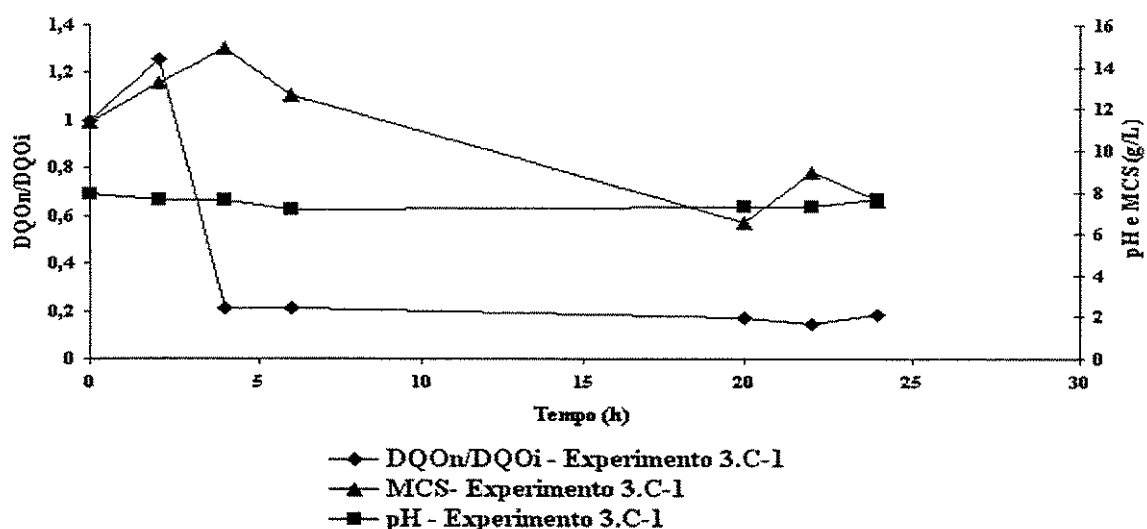


Figura 35 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 2,75% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 47,25% de água residuária. Experimento 3.C-1.

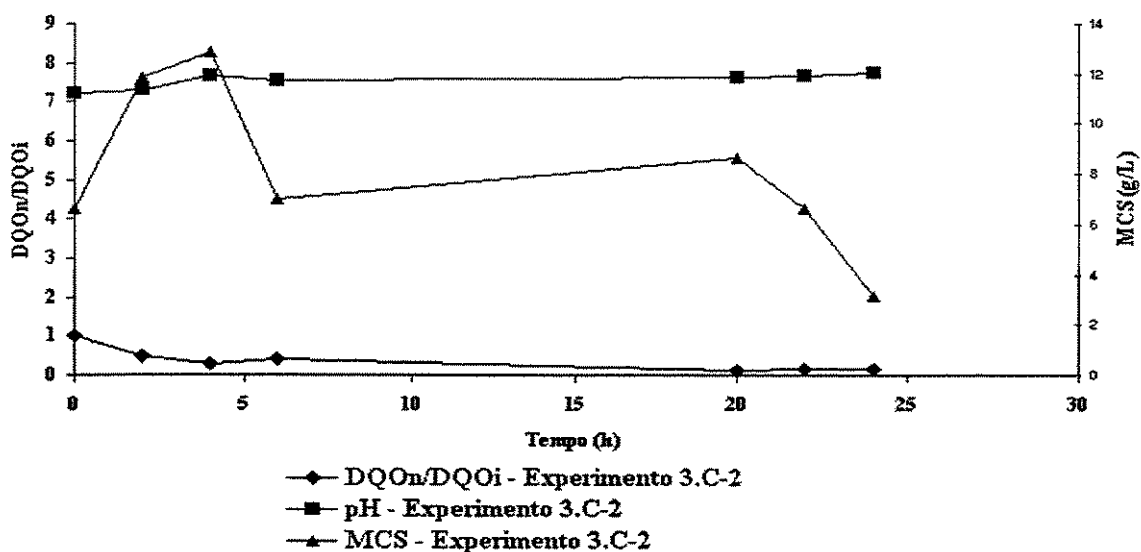


Figura 36 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 2,75% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria*

rhizophila kovacs em 50% de lodo ativado e 47,25% de água residuária. Experimento 3.C-2.

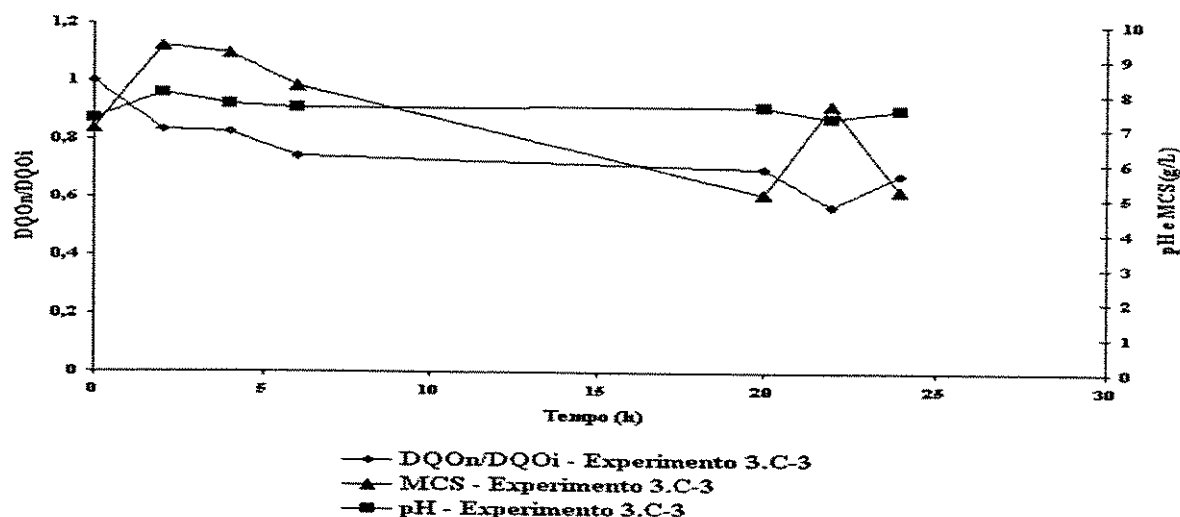


Figura 37 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 2,75% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 47,25% de água residuária. Experimento 3.C-3.

Nos ensaios do Grupo D, com 60ml de inoculo da cultura de *Kokuria rhizophila kovacs*. Os valores de remoção da DQO foram de 68%, 66% e 73% em 2, 4 e 6h de tratamento, com redução de 45,6% no valor de MCS, 3.D-1. Já o experimento 3.D-2 teve aumento na concentração de DQO em 24% em 2h, 16% em 4h e 20% em 6h e e 64,3% de aumento da MCS em 6h. As micrografias do grupo D mostram a evolução do LA durante o tratamento, onde há mudança estrutural dos flocos, ocorrendo sua diminuição de tamanho e posterior desagregação e morte, com exceção de 3.D-2 que o lodo manteve-se estável durante parte do tratamento.

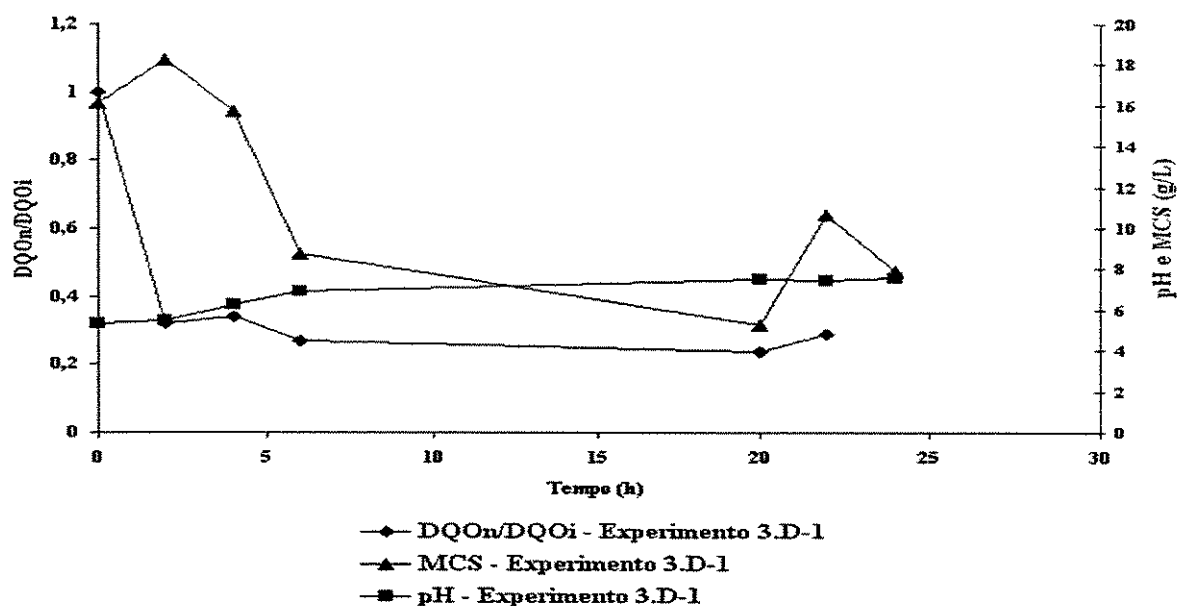


Figura 38 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 3,0% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 47% de água residuária. Experimento 3.D-1.

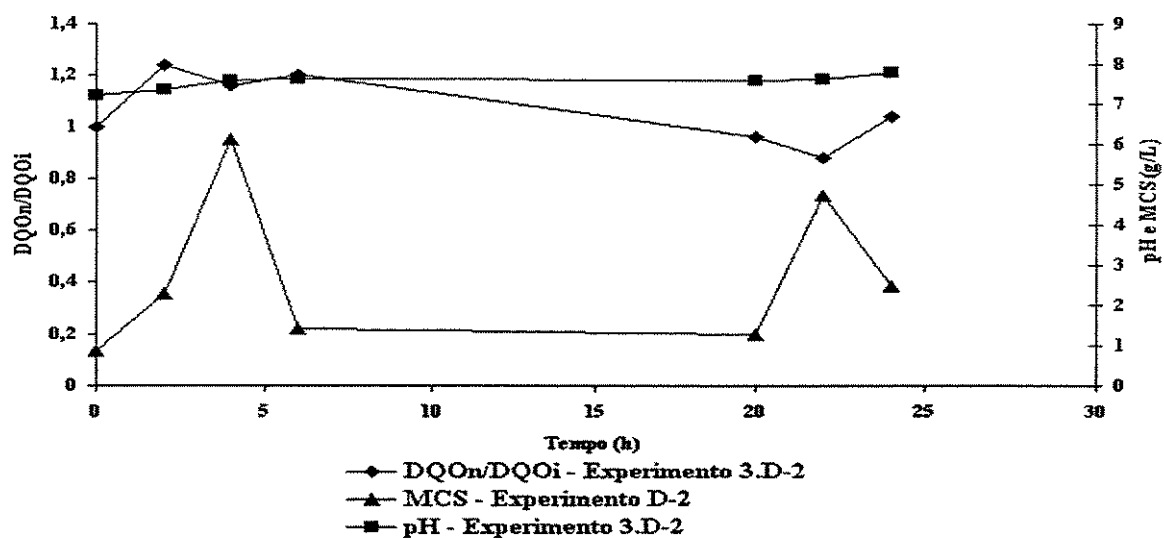


Figura 39 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo –

Tratamento com adição de 3,0% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 47% de água residuária. Experimento 3.D-2.

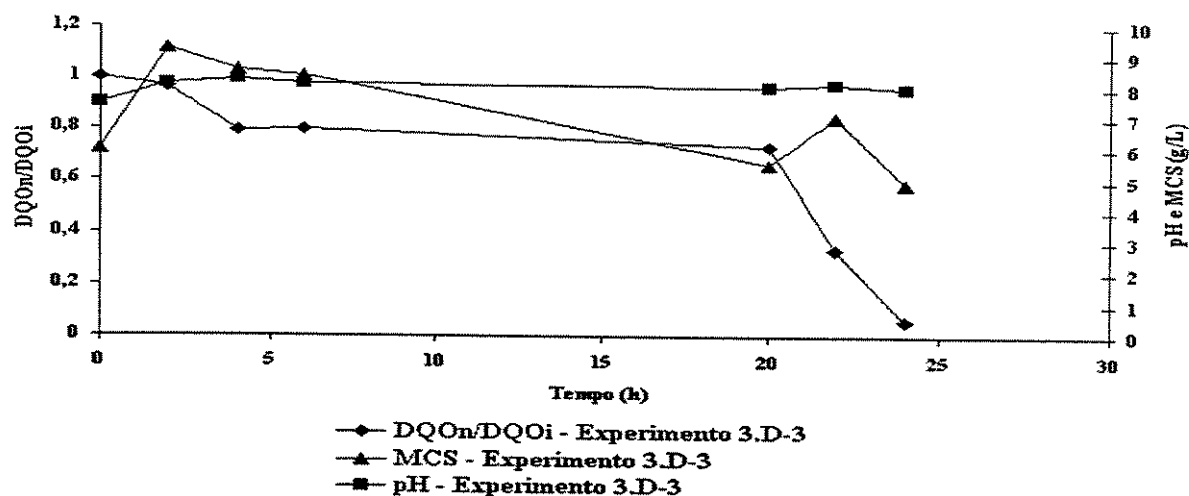


Figura 40 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com adição de 3,0% de bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* em 50% de lodo ativado e 47% de água residuária. Experimento 3.D-3.

Nos tratamentos realizados com lodo ativado, água residuária e adição de cultura de *Kokuria rhizophila kovacs*, após seis horas de tratamento, alcançaram redução do valor inicial da DQO igual ou superior a 50% os experimentos 3.A-1 com 65%, 3.A-2 com 65%, 3.B-3 com 63%, 3.C-1 com 78%, 3.C-2 com 61% e 3.D-1 com 73% , conforme as figuras 28, 29, 34, 36 e 38.

Medidas e análise da MCS

A Tabela 14 mostra as medidas da massa celular seca (MCS) do LA que estão representadas nos gráficos da Figura 28 a 40, as variações do instante inicial ao final (0 a 24h) ocorrem de forma discreta. No entanto nos períodos de 2, 4 e 6h o LA apresenta significativo aumento de sua massa e nos instantes seguintes mas em 20, 22 e 24 h tornam a

diminuir. A partir do período inicial a massa apresentou crescimento médio de 50% em 2h, e tendeu para os valores iniciais no tempo igual a 4h, porém houve um discreto crescimento no Grupo C. Nos Grupos A e C a MCS no tempo igual a 6h medida era equivalente a massa celular seca inicial, em B apresentou-se aumentada em média de 25% e em D, em média 25% menor que o valor inicial.

Nos tempos 20, 22 e 24h, as concentrações de MCS apresentaram diminuições médias de até 50% do valor inicial. Apenas o experimento do Grupo C apresentou, crescimento e declínio esperado do lodo. Nos Grupos A e B a concentração de MCS não apresentou grandes oscilações, exceto no experimento 3.A-4 em que a concentração de MCS decresceu continuamente.

Tabela 14 - Valores de Massa Celular Seca (g/l) do Experimento 3

Tempo (h)	0	2	4	6	20	22	24
Experimento							
3.A-1	5,97	6,85	6,19	5,77	1,73	5,73	4,83
3.A-2	5,62	10,78	11,73	14,62	7,97	8,03	5,74
3.A-3	6,23	9,12	8,54	7,98	5,01	6,32	4,82
3.A-4	9,83	9,67	7,46	6,35	3,01	6,06	4,41
3.B-1	5,83	11,22	12,29	15,38	7,89	8,43	5,22
3.B-2	9,64	9,06	8,78	6,61	9,19	10,11	10,08
3.B-3	11,21	16,93	6,34	12,32	6,71	9,79	8,22
3.C-1	11,38	13,25	14,87	12,62	6,57	8,94	7,59
3.C-2	6,62	11,84	12,84	6,98	8,66	6,64	3,18
3.C-3	6,97	9,35	9,13	8,18	5,12	7,69	5,21
3.D-1	16,11	18,24	15,75	8,76	5,26	10,66	7,88
3.D-2	0,87	2,28	6,12	1,43	1,26	4,74	2,49
3.D-3	6,01	9,28	8,56	8,37	5,52	7,06	4,87

Medidas e análise do pH

No decorrer destes experimentos houve pouca variação no pH, permanecendo em valores próximos a neutralidade (Tabela 15) semelhante aos experimentos do grupo controle, o que mostra que a adição da cultura não causou redução do pH a ponto de inibir os microrganismos do LA.

Tabela 15 - Valores Medidos do pH do Experimento 3

Tempo (h)	0	2	4	6	20	22	24
Experimento							
3.A-1	7,18	7,31	7,62	7,45	7,54	7,6	7,73
3.A-2	6,52	6,98	7,21	7,59	7,68	7,54	7,87
3.A-3	7,03	7,3	7,34	7,21	7,52	7,55	7,71
3.A-4	7,08	7,33	7,75	7,21	7,52	7,56	7,69
3.B-1	7,13	7,28	7,64	7,7	7,61	7,69	7,7
3.B-2	5,17	5,54	6,12	6,83	7,54	7,37	7,72
3.B-3	7,62	7,73	7,81	7,75	7,92	8,01	8,13
3.C-1	7,88	7,61	7,61	7,13	7,26	7,31	7,69
3.C-2	7,21	7,3	7,65	7,56	7,62	7,65	7,73
3.C-3	7,24	7,99	7,67	7,56	7,6	7,29	7,55
3.D-1	5,32	5,48	6,25	6,89	7,48	7,43	7,59
3.D-2	7,22	7,34	7,59	7,62	7,58	7,62	7,78
3.D-3	7,5	8,12	8,24	8,12	8,03	8,12	7,98

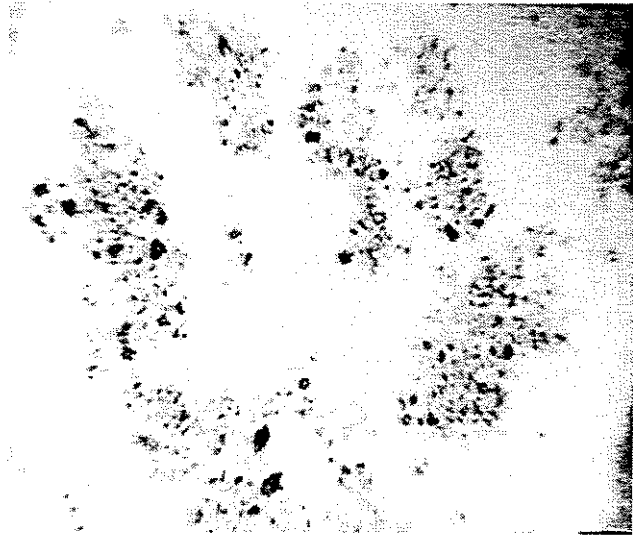
6.2.5 Estudo do tratamento de água residuária de indústria de processamento de óleos com adição do sobrenadante da água residuária fermentada pela bactéria produtora de biossurfactante *Kokuria rhizophila kovacs* ao sistema de lodo ativado - Experimento 4

Aspecto Macroscópico do Sistema de Lodo Ativado

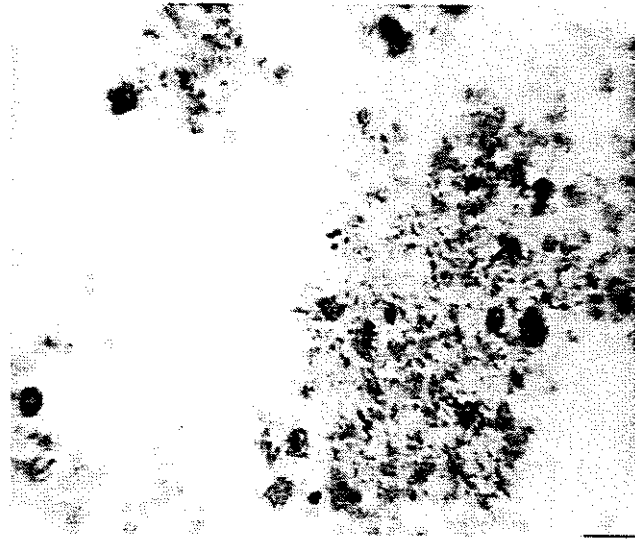
A fermentação da água residuária de indústria de processamento de óleos pela *Kokuria rhizophila kovacs* e posterior tratamento do sobrenadante desta fermentação pelo lodo ativado (LA) teve resultados diferentes do observado com o tratamento feito com a adição da cultura diretamente no LA assim como do experimento controle. Não sofreu agregação do LA, pois tornou o aspecto do tratamento homogêneo e com a coloração mais clara, tendo aspecto mais diluído, embora o volume de água residuária fosse idêntico ao controle e ao adicionado por *Kokuria rhizophila kovacs*. Aparentemente o sobrenadante da água residuária fermentada não favoreceu o crescimento e a estabilidade do LA, pois ocorreu declínio nas medidas de massa celular seca e o aspecto menos viscoso do LA sugeriu alteração das substâncias extrapoliméricas.

Aspecto Microscópico do Sistema de Lodo Ativado

A distribuição dos flocos do LA pôde ser visualizada através da microscopia óptica, assim como sua estrutura e composição; após a adição da água residuária fermentada pela *Kokuria rhizophila kovacs*, Figura 41, o aspecto da distribuição do LA apresentou-se esparso, diluído e com estrutura dos flocos pouco coesa. Já as Figura 42 e 43 apresentam flocos bem concentrados, no entanto pouco coeso, com aspecto mucilaginoso, sem presença de estruturas filamentosas, contudo as amostras do tratamento apresentaram baixa viscosidade e certa coalescência nas imagens microscópicas. Não foi observada presença de protozoários nestes experimentos.

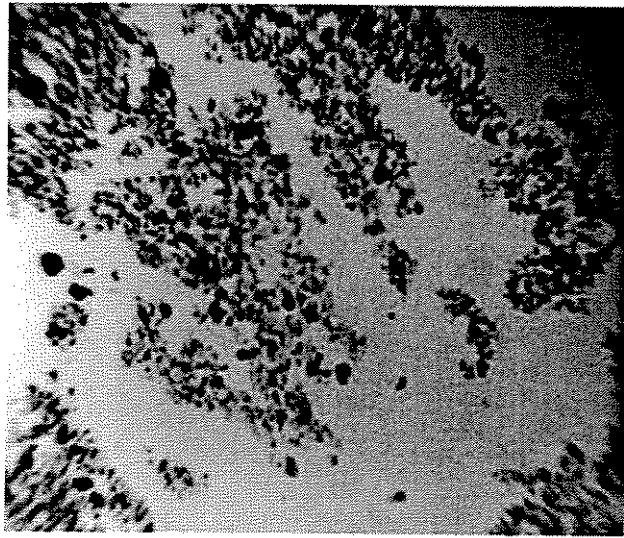


a _LA no instante da adição da água residuária fermentada pela *Kokuria rhizophila kovacs* apresentou os flocos agregados porém o aspecto pouco viscoso e com espalhamento esparso. Aumento 40x.

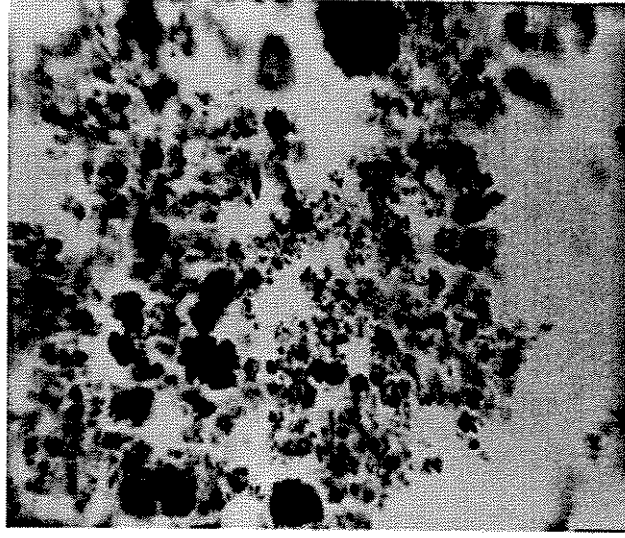


b _Esta micrografia mostra o flocos do LA após a adição da água residuária fermentada pela *Kokuria rhizophila kovacs* agregado sem a presença de estruturas filamentosas mas através de certa viscosidade. Aumento de 100x.

Figura 41 - Micrografias do lodo ativado após a adição da água residuária fermentada pela *Kokuria rhizophila kovacs* no tempo igual a 0h. Experimento 4.D-1.

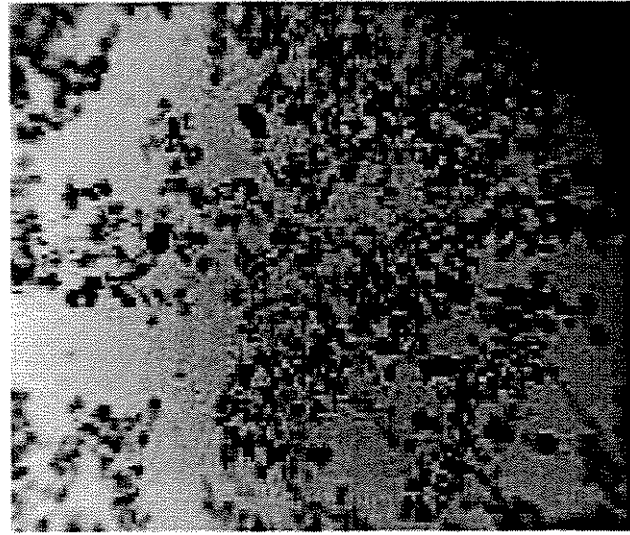


a_ LA apresenta flocos grandes, *b_* Notam-se nos flocos do LA aspecto agregados bastante concentrados mas mucilaginoso e estruturas arredondadas, pouco coesos. Não é visível estrutura sem presença de filamentos. Aumento filamentosa no LA, mas estruturas 100x.
pequenas e circulares. Aumento 40x.

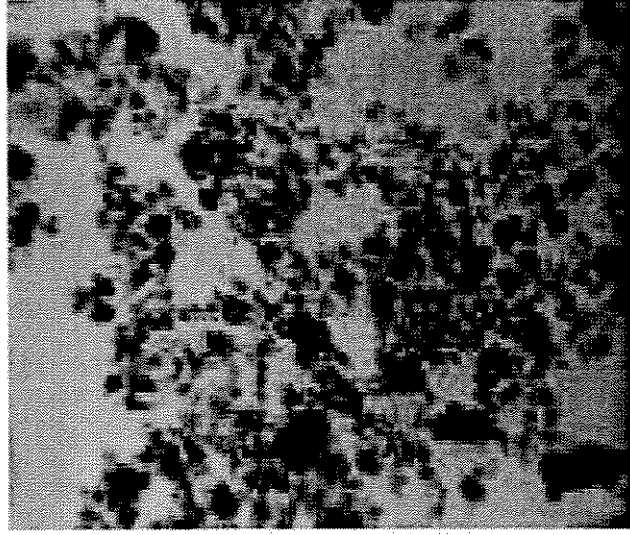


c_ Idem ao anterior. Aumento 400x.

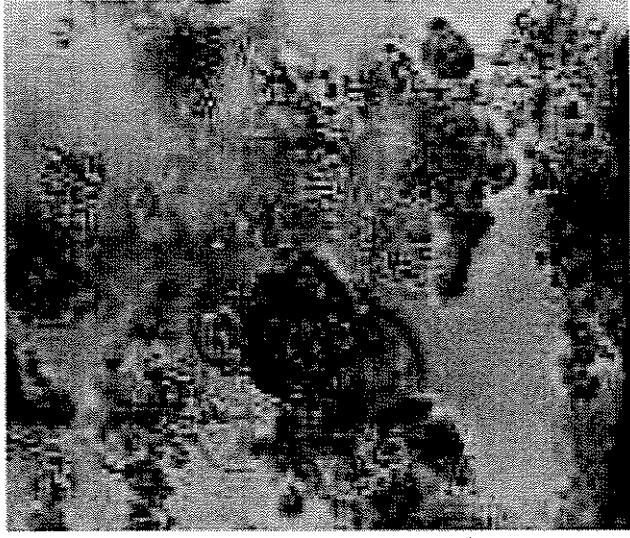
Figura 42 - Micrografias do lodo ativado depois da adição da água residuária ter sido fermentada pela *Kokuria rhizophila* kovacs, no tempo igual a 2h. Experimento 4.D-2.



a_ LA apresenta flocos grandes, mas pouco coesos. Não é visível estrutura mucilaginosa e estruturas arredondadas, sem presença de filamentos no LA, mas estruturas arredondadas, pequenas e circulares. Tempo igual a 0h. Aumento 40x.



b_ Notam-se nos flocos do LA aspecto mucilaginoso e estruturas arredondadas, sem presença de filamentos. Tempo igual à 2h. Aumento 100x.



c_ Os flocos do LA apresentam menor viscosidade e com aspecto menos concentrado, não aparecem estruturas filamentosas. Tempo igual a 4h. Aumento 400x.

Figura 43 - Micrografias do lodo ativado depois da adição da água residual ter sido fermentada pela *Kokuria rhizophila* kovacs. Experimento 4.D-2.

Os valores da concentração de DQO apresentaram grandes variações nos diferentes experimentos dentro do mesmo grupo (Tabela 16). Contudo pelo Ln DQO pode-se determinar a constante de velocidade de remoção da DQO (k) dado pelo coeficiente angular dado pelas equações de reta traçada pelo Ln em função do tempo como mostram os gráficos da Tabela 17.

Tabela 16 - Valores Medidos das Concentrações da DQO do Experimento 4

Tempo	0	2	4	6	20	22	24
Experimento							
4.A-1	2933	1034	970	970	1034	1099	323
4.A-2	1863	1352	1120	1601	800	1120	928
4.A-3	960	1280	800	1920	1600	1100	1340
4.A-4	2720	2720	2880	3200	2400	2560	2613
4.B-1	1360	640	660	535	155	153	170
4.B-2	1440	2400	2400	2400	3520	2880	2623
4.B-3	4533	3467	2933	1333	289		
4.C-1	1535	1230	970	650	630	130	240
4.C-2	1333	1866	266	800	267	284	284
4.C-3	800	748	490	358	420	160	190
4.D-1	1300	780	200	90	40	80	130
4.D-2	7733	5879	6133	799	6133	719	613
4.D-3	890	1100	830	820	130	150	100

Tabela 17 - Valores dos coeficientes da curva descrita pelo Ln DQO do Experimento 4

	a	b	R2
Experimentos			
4.A-1	-0,0477	7,9765	0,9821
4.A-2	-0,0436	7,5752	0,9838
4.A-3	-0,0182	7,6821	0,9113
4.A-4	-0,0022	7,9099	0,8825
4.B-1	0,0817	6,8618	0,9388
4.B-2	-0,0735	9,6191	0,9576
4.B-3	-0,0775	7,3395	0,9343
4.C-1	-0,0738	7,1888	0,9514
4.C-2	-0,0682	7,1348	0,9713
4.C-3	-0,0616	6,5454	0,9128
4.D-1	-0,1421	7,038	0,9417
4.D-2	-0,113	8,989	0,9799
4.D-3	-0,1012	7,0865	0,968
Sendo $a = k$, constante da velocidade de remoção da DQO.			

O ajuste do modelo de cinética de primeira ordem para remoção de DQO mostrou melhor ajuste nestes experimentos que nos anteriores. No entanto as altas concentrações e variações da DQO no início dos experimentos, provavelmente impediram resultados mais coesos dentro do mesmo experimento.

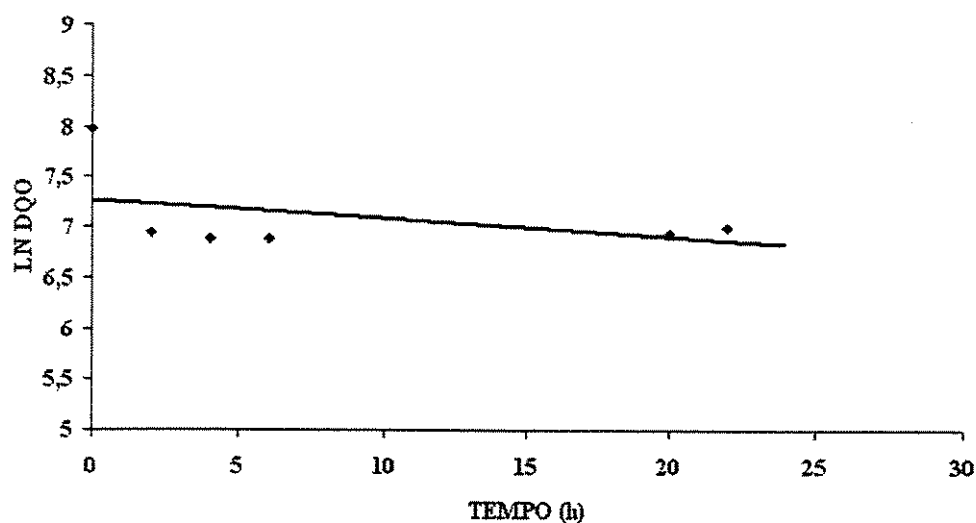


Figura 44 - Ln DQO em função do tempo – Experimento 4.A-1.

$k = -0,0477$, $R^2 = 0,9821$.

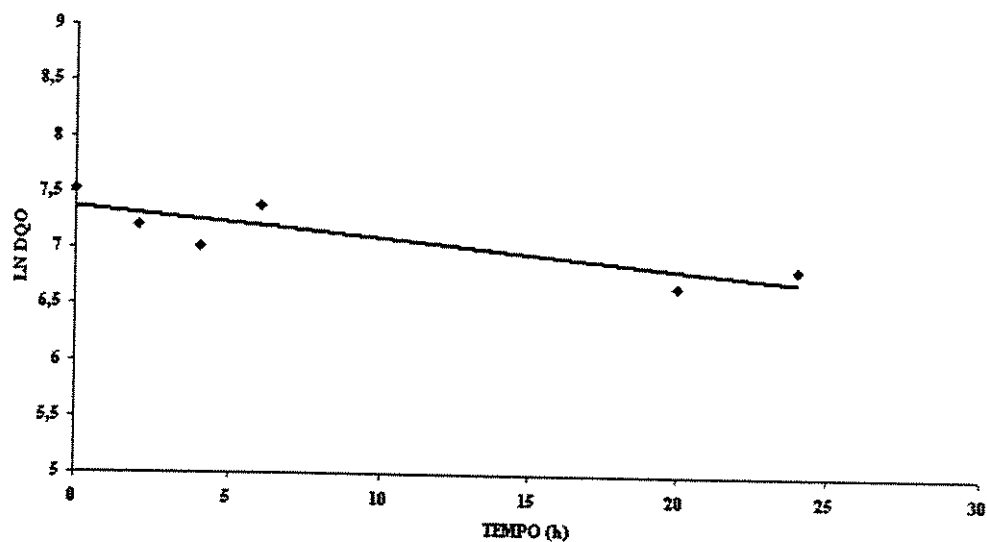


Figura 45 - Ln DQO em função do tempo – Experimento 4.A-2.

$k = -0,0436$, $R^2 = 0,9838$.

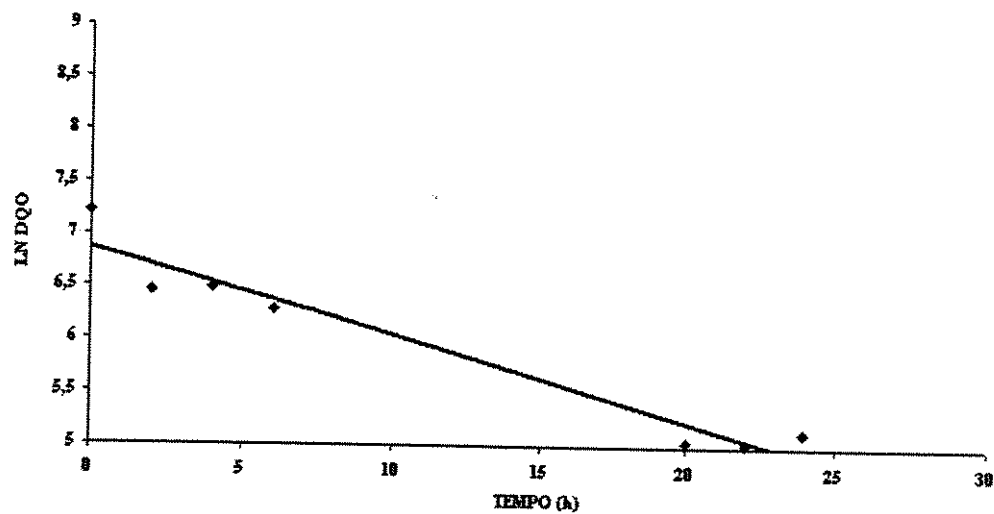


Figura 46 - Ln DQO em função do tempo – Experimento 4.B-1.

$k = -0,0817$, $R^2 = 0,9388$.

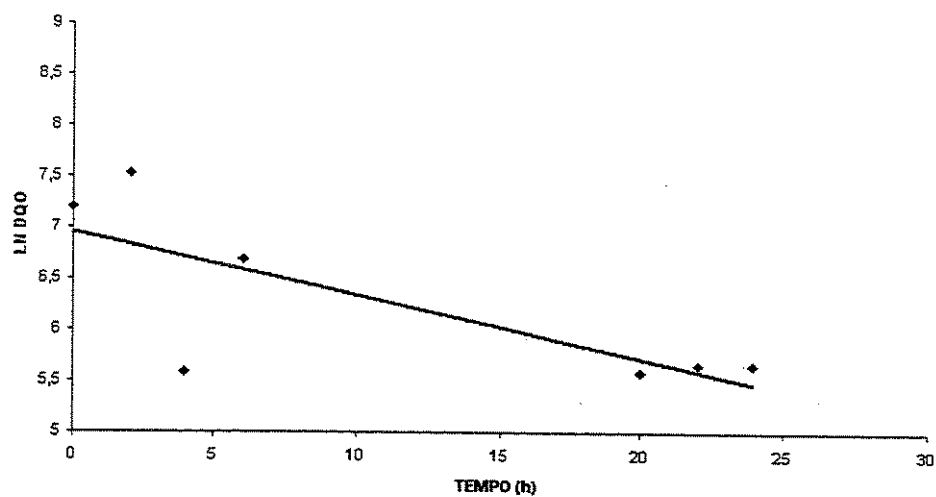


Figura 47 - Ln DQO em função do tempo – Experimento 4.C-2.

$k = -0,0682$, $R^2 = 0,9713$.

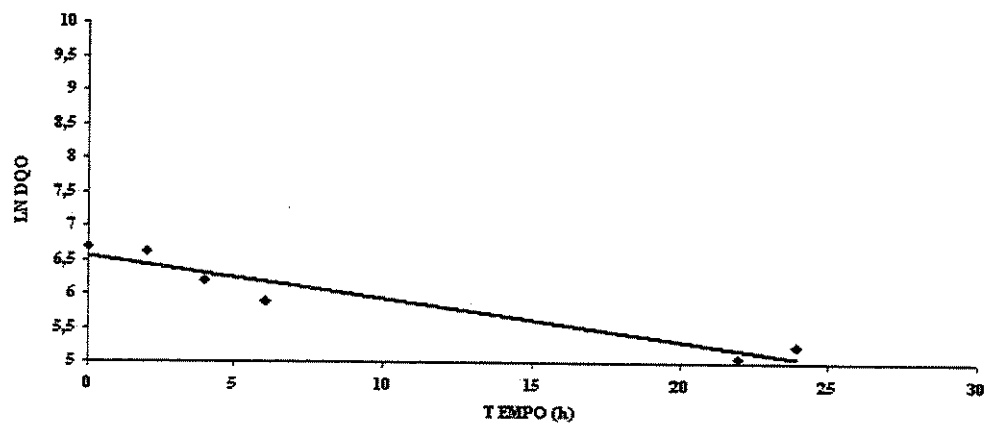


Figura 48 - Ln DQO em função do tempo – Experimento 4.C-3.

$k = -0,0616$, $R^2 = 0,9128$.

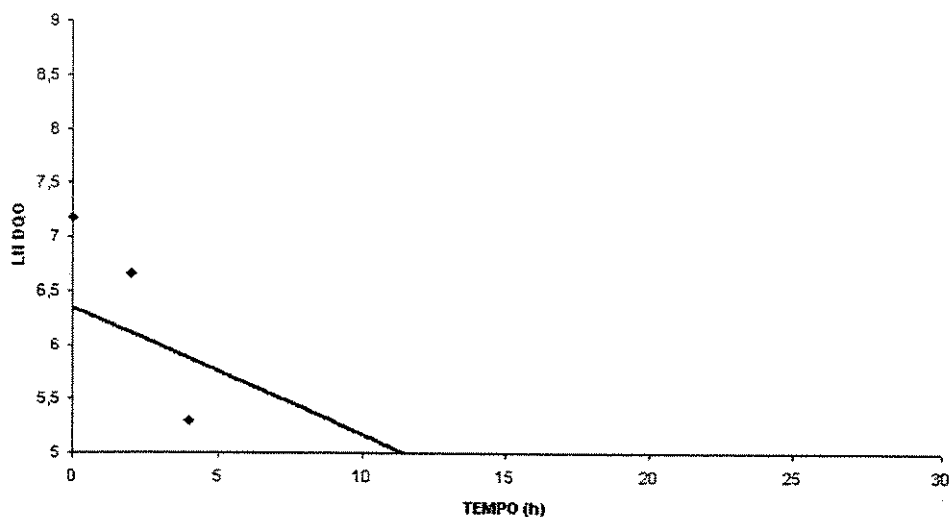


Figura 49 - Ln DQO em função do tempo – Experimento 4.D-1.

$$k = -0,1421, R^2 = 0,9417.$$

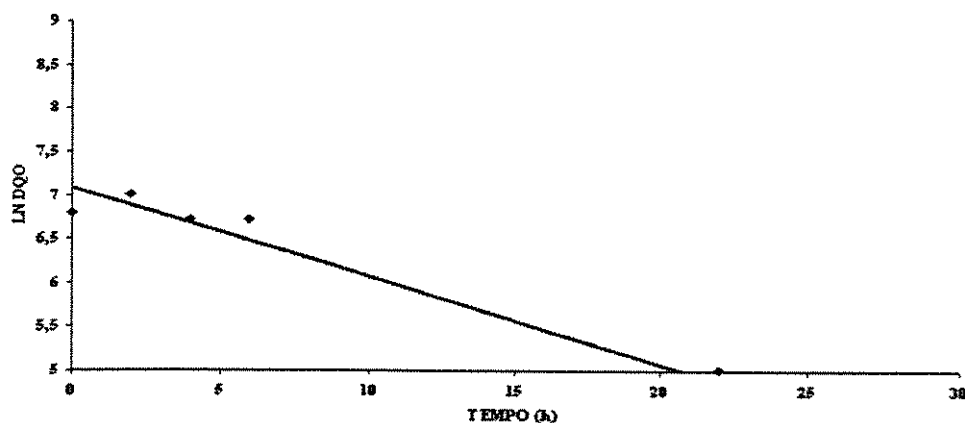


Figura 50 - Ln DQO em função do tempo – Experimento 4.D-3.

$$k = -0,1012, R^2 = 0,968.$$

A análise da eficiência de remoção da DQO pelo sistema de lodo ativado entre os experimentos foi realizada pela razão da DQO, nos tempos $t = 0, 2, 4, 6, 20, 22$ e 24 h denominada DQO_n , pelo valor da DQO inicial (DQO_i), conforme apresentados na Tabela 15; o tempo de tratamento foi considerado de 6h, apesar dos valores nos tempos 20, 22 e 24h terem sido medidos e analisados. Este período foi determinado pelo desempenho do

tratamento que está descrito através dos gráficos da Figuras 51 a 57. Os valores dos períodos 20, 22 e 24h permite o estudo das alterações da composição e estrutura do lodo ativado.

Tabela 18 - Razão DQOn/DQOi em função do tempo do Experimento 4

Tempo	0	2	4	6	20	22	24
Experimento							
4.A-1	1	0,353	0,331	0,331	0,353	0,375	0,110
4.A-2	1	0,726	0,601	0,859	0,429	0,601	0,498
4.A-3	1	1,333	0,833	2,000	1,667	1,146	1,396
4.A-4	1	1,000	1,056	1,176	0,882	0,941	0,961
4.B-1	1	0,471	0,485	0,393	0,114	0,113	0,125
4.B-2	1	1,667	1,667	1,667	2,444	2,000	1,822
4.B-3	1	0,765	0,647	0,294	0,064		
4.C-1	1	0,801	0,632	0,424	0,410	0,085	0,156
4.C-2	1	1,400	0,200	0,600	0,200	0,213	0,213
4.C-3	1	0,935	0,613	0,448	0,525	0,200	0,238
4.D-1	1	0,600	0,154	0,069	0,031	0,062	0,100
4.D-2	1	0,760	0,793	0,103	0,080	0,093	0,079
4.D-3	1	1,236	0,933	0,921	0,146	0,169	0,112

Tabela 19 - Massa Celular Seca – MCS - (g/L) do Experimento 4

Tempo (h)	0	2	4	6	20	22	24
Experimento							
4.A-1	8,19	6,08	7,33	3,9	9,16	8,32	6,64
4.A-2	14,17	11,4	7,88	5,51	6,54	6,62	5,4
4.A-3	11,46	9,38	8,22	5,72	7,44	6,46	5,36
4.A-4	8,94	8,35	8,22	6,37	6,41	5,67	5,41
4.B-1	16,23	13,28	9,65	6,64	5,19	4,13	2,98
4.B-2	10,66	8,22	7,79	4,69	6,78	5,73	4,25
4.B-3	9,56	8,83	7,65	4,68	6,41	5,82	4,63
4.C-1	17,54	14,16	11,2	7,03	9,65	8,82	6,9
4.C-2	16,01	12,91	10,34	6,53	8,96	8,09	6,35
4.C-3	16,42	13,38	10,22	6,72	8,44	7,46	5,36
4.D-1	17,43	14,58	15,2	13,27	11,14	9,26	10,16
4.D-2	1,43	1,26	1,57	1,82	2,48	1,33	1,48
4.D-3	15,66	10,23	9,31	7,45	9,77	7,63	6,25

O Grupo A apresentou no experimento 4.A-1 65% de remoção da DQO em 2h de tratamento e 67% após 4 e 6h. Também em 6h de tratamento houve redução de 52% da MCS. Em 4.A-2 a eficiência do tratamento foi de 27%, 40% e 14% após 2, 4 e 6h de tratamento respectivamente, com redução de 19,5%, 44% e 61% da massa celular seca em períodos respectivos. Os experimentos 4.A-3 teve os valores da concentração de DQO aumentados, sendo eles de 33% em duas horas de tratamento e 1% após 6h de tratamento com diminuição de 50% do valor da MCS, sendo que em 4h houve redução do valor da DQO em 17% referente ao valor inicial. Em 4.A-4 não houve variação após 2h de tratamento e posteriormente a DQO teve a concentração aumentada em 5% e 18% nos tempos respectivos de 4 e 6h com redução da MCS quase a metade, sendo de 40,5% e 59% também em 4h e 6h respectivamente. Todos os experimentos do Grupo A apresentaram diminuição da MCS, tendo os valores seguindo padrões muito semelhantes.

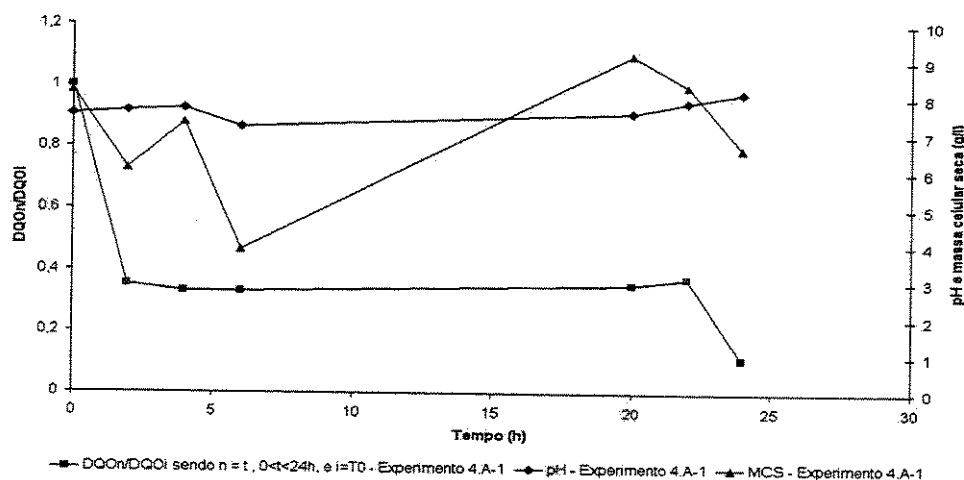


Figura 51 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com prévia fermentação da água residuária por *Kokuria rhizophila kovacs*. Experimento 4.A-1.

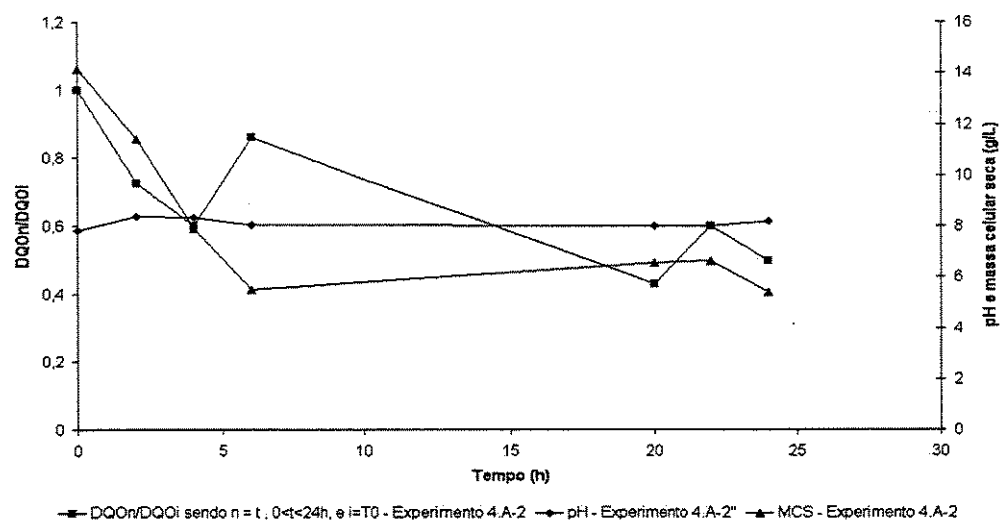


Figura 52 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com prévia fermentação da água residuária por *Kokuria rhizophila kovacs*. Experimento 4.A-2.

O Grupo B apresentou no experimento 4.B-1 diminuição da concentração de DQO em 53% nas primeiras 2 h do tratamento, seguido de 51% durante 4h de tratamento e 61% após completar as 6 h do tratamento pelo LA, com a redução da MCS de 18%, 40,5% e 59% em 6h de tratamento. No entanto o experimento 4.B-2 não apresentou remoção da DQO, pelo contrário, houve aumento deste valor em 67% desde o início até o final do tratamento no entanto a MCS teve redução de 56%. Os valores de 24%, 35% e 71% foram apresentados no experimento 4.B-3 como os valores de remoção da carga poluidora em 2, 4 e 6h respectivamente após o início do tratamento com 7%, 19% e 51% de redução dos valores de MCS.

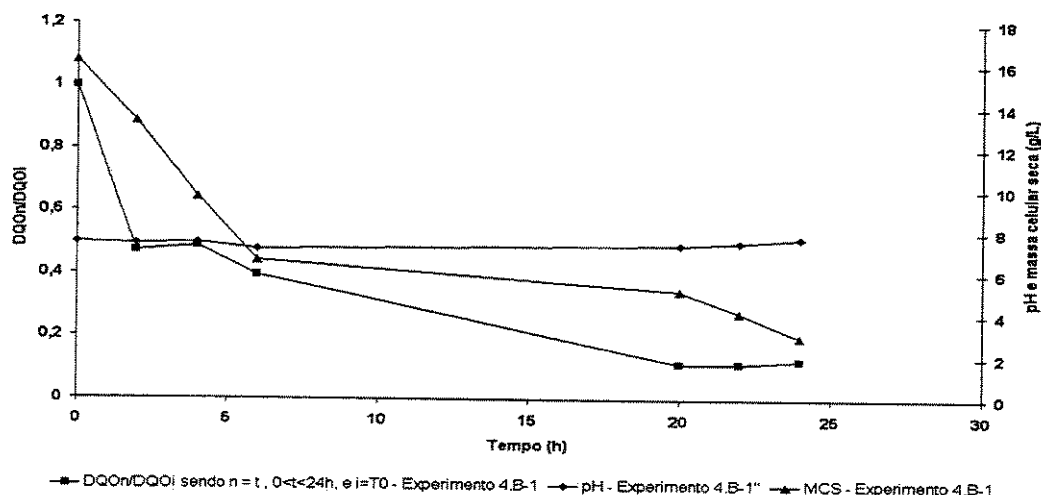


Figura 53 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com prévia fermentação da água residuária por *Kokuria rhizophila kovacs*. Experimento 4.B-1.

O Grupo C apresentou no experimento 4.C-1 a remoção da DQO em 20%, 37% e 58% nos períodos respectivos de 2, 4 e 6h e teve diminuição dos valores da MCS em 19%, 36% e 60% nestes períodos. No experimento 4.C-2 houve aumento da DQO inicialmente em 40%, no tempo igual a 2h, posteriormente houve diminuição da DQO em 80% e em 6h de tratamento a DQO teve novo aumento, mas em relação ao valor anterior, pois na finalização do tratamento a remoção da DQO foi de 40%. Em 4.C-3 também houve diminuição da MCS, obedecendo o mesmo padrão dos outros experimentos, sendo esta

redução de 18,5%, 37,8% e 59%. A remoção da DQO foi progressiva, sendo seu valor em duas horas de tratamento de 7%, em quatro horas de tratamento 39% e com 6h de tratamento a remoção foi de 55%.

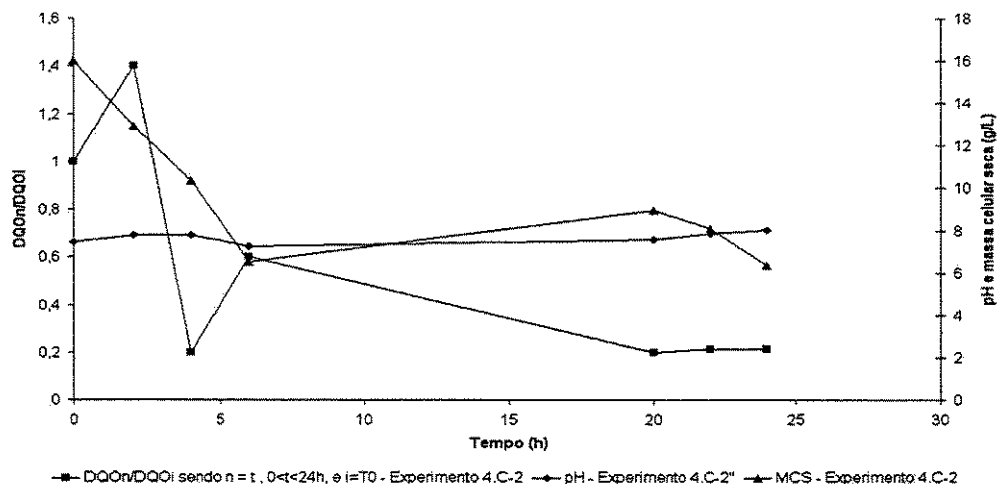


Figura 54 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com prévia fermentação da água residuária por *Kokuria rhizophila kovacs*. Experimento 4.C-2.

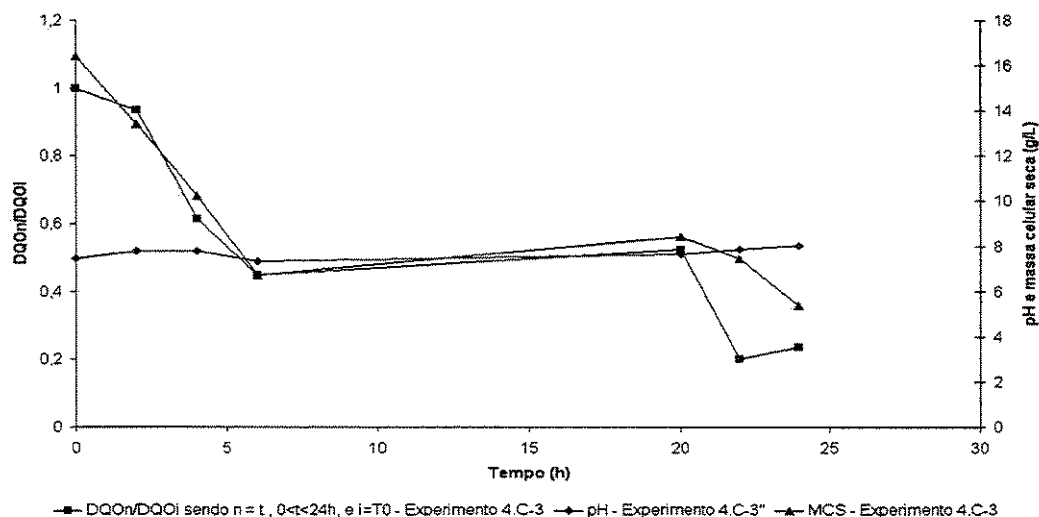


Figura 55 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria de processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com prévia fermentação da água residuária por *Kokuria rhizophila kovacs*. Experimento 4.C-3.

O Grupo D teve no experimento 4.D-1 teve 40%, 85% e 93% de diminuição dos valores da carga poluidora em 2h, 4h e 6h e a MCS apresentou diminuição, um pequeno aumento e nova diminuição, sendo de 16,4%, 12,8% e 23,9% respectivos a 2h, 4h e 6h. O experimento 4.D-2, nos tempos iguais a 2h e 4h teve remoção da DQO em 24% e 21% respectivamente, e ao completar 6h de tratamento a diminuição do valor da carga poluidora foi de 90% e a MCS teve um aumento de 27%. No entanto, houve aumento do valor da DQO em 4.D-3 de 24% nas duas primeiras horas do tratamento, posteriormente os valores da DQO foram reduzidos em 7% após quatro horas de tratamento e 8% depois de passadas seis horas de tratamento. Neste tratamento a MCS teve uma grande redução no início do tratamento, com 34,7% e posteriormente com 40,5% e 50,4% de diminuição da MCS.

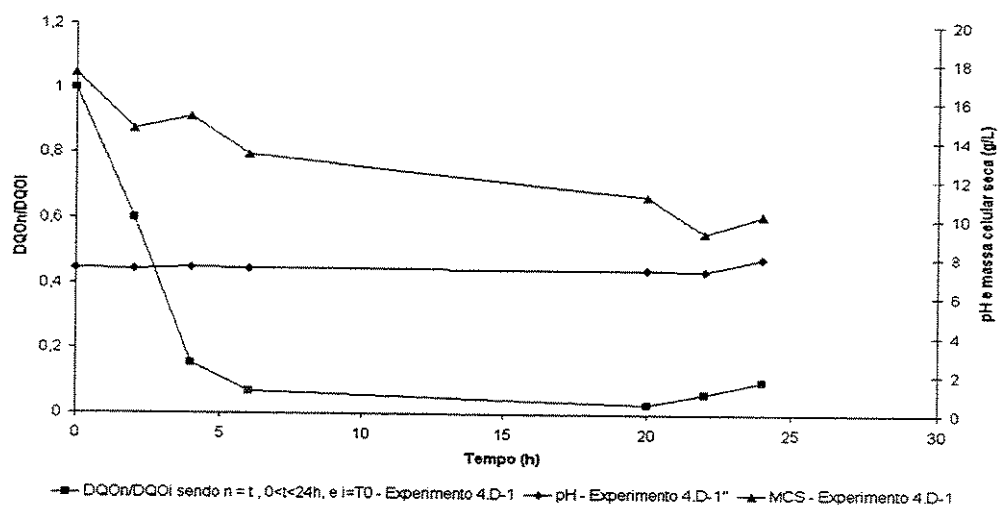


Figura 56 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria e processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com prévia fermentação da água residuária por *Kokuria rhizophila kovacs*. Experimento 4.D-1.

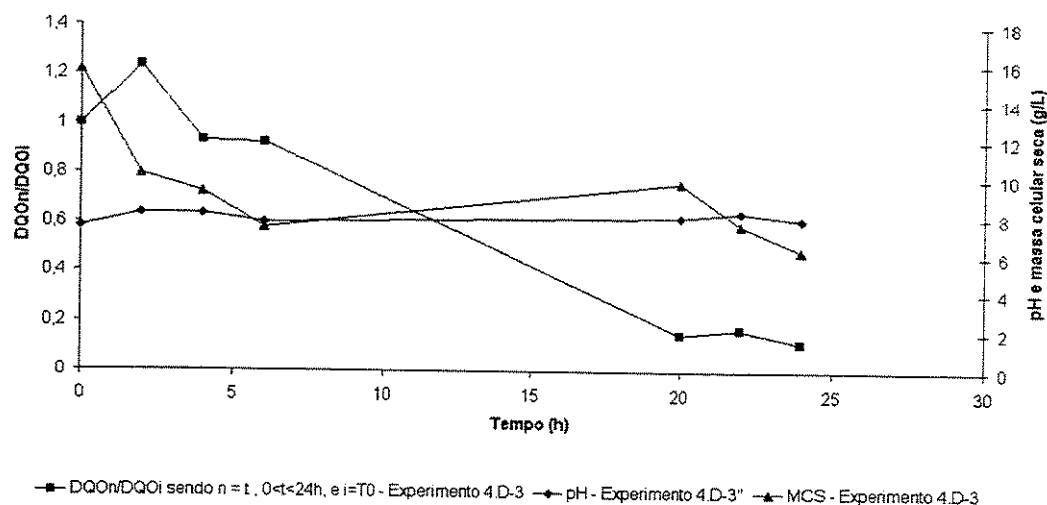


Figura 57 - Razão da concentração de DQOn/DQOi de água residuária de indústria e processamento de óleos tratada por lodo ativado em reator batelada com respectivos valores de pH e massa celular seca – MCS (g/L) em função do tempo – Tratamento com prévia fermentação da água residuária por *Kokuria rhizophila kovacs*. Experimento 4.D-3.

Dos tratamentos realizados com lodo ativado e água residuária fermentada com *Kokuria rhizophila kovacs* os experimentos que tiveram remoção da DQO acima de 50% após 6h de tratamento foram 4.D-1, 93%, 4.D-2 com 90%, 4.B-3 com 71%, 4.A-1 com 67%, 4.B-1 com 61%, 4.C-1 com 58% e 4.C-3 com 55%. E todos os experimentos tiveram redução da MCS em média de 45,2% em 6h de tratamento.

Nesta série de experimentos com adição de água residuária fermentada no instante final, 6h, os experimentos 4.A-1, 4.B-1, 4.B-3, 4.C-2, 4.C-3, 4.D-1 e 4.D-2 tiveram taxas de remoção da DQO maiores que 50%, sendo que o experimento 4.D-2 apresentou 89% de remoção da DQO e o experimento 4.D-1, 93%, conforme as figuras a seguir.

Massa Celular Seca

O LA avaliado através das medidas de massa celular seca (MCS), em relação ao LA inicial demonstrou em quase todos os experimentos diminuição da sua massa, com exceção do experimento 4.D-2 conforme os valores apresentados na Tabela 19.

Medidas e Análise do pH

A variação do pH foi pequena, conforme mostram os gráficos da Figura 51 a 57, com valores próximos da neutralidade tendendo a valores de caráter alcalino, apresentados na Tabela 20, semelhante aos experimentos 2 (controle) e 3.

Tabela 20 - Valores Medidos do pH do Experimento 4

Tempo (h)	0	2	4	6	20	22	24
Experimento							
4.A-1	7,56	7,64	7,72	7,21	7,61	7,89	8,14
4.A-2	7,81	8,37	8,32	8,04	8	7,99	8,19
4.A-3	7,43	7,37	7,64	7,68	7,68	7,65	7,87
4.A-4	7,5	8,13	8,27	8,68	8,5	8,3	8,44
4.B-1	7,47	7,39	7,45	7,15	7,35	7,48	7,71
4.B-2	7,48	7,82	7,89	7,72	7,7	7,65	8,08
4.B-3	7,46	7,56	7,63	7,47	7,62	7,65	7,93
4.C-1	7,34	7,44	7,51	7,49	7,51	7,54	7,76
4.C-2	7,46	7,78	7,79	7,24	7,56	7,85	8,04
4.C-3	7,46	7,78	7,79	7,32	7,64	7,85	8,04
4.D-1	7,4	7,37	7,45	7,41	7,38	7,31	7,96
4.D-2	7,51	7,55	7,63	7,33	7,59	7,84	8,01
4.D-3	7,5	8,16	8,16	7,74	8,01	8,25	7,88

6.2.6 Resultados e discussão entre os Experimentos 2, 3 e 4:

Durante o tempo em que os experimentos foram realizados houve grande variação nas características da água residuária que apresentou equalização insuficiente na planta de tratamento e conseqüentemente os valores da concentração da DQO oscilaram muito. A composição da água residuária apresentou mudança conforme a matéria prima processada na planta industrial, desta forma não sendo possível desenvolver os experimentos com a composição da água residuária padronizada. O lodo ativado teve modificação em sua composição e qualidade, principalmente no período de racionamento e energia realizado no país, pois 50% dos aeradores da planta de tratamento permaneceram inativos. Também durante este período a planta de tratamento foi operada inadequadamente com recirculação do LA e aumento de sua concentração, ao invés de haver diminuição de sua concentração

para que houvesse adequada relação entre o LA e o substrato, o que induziu sua morte. Nestas condições os experimentos foram desenvolvidos apresentando grandes variações em seus resultados, dificultando análise dos dados.

Através das tabelas 18, 19, 20 e 21 que apresentam os resultados da eficiência do tratamento obtida em laboratório, observou-se que o Experimento 4 por ter tido a prévia fermentação da água residuária foi o único experimento a ter os resultados bem ajustados à curva do LN DQO contra tempo. Nos quadros abaixo os experimentos referidos com as letras A, B, C e D, além de indicarem as variações de inóculo da bactéria produtora de biossurfactante também indicam, seguidos dos numerais, que são relativos ao mesmo dia do tratamento, isto é, todos A-1 foram realizados no mesmo dia com a água residuária e lodo ativado coletados no mesmo dia. Exceto o Experimento 4 que teve a água residuária coletada 30h antes, porém os tratamentos foram desenvolvidos todos com o lodo ativado coletado no mesmo dia.

O grupo A não apresentou similaridade entre os resultados obtidos na remoção da DQO dos grupos controle, adição da *Kokuria* sp. e água residuária fermentada. Exceto no experimento A-4 em que ocorreu aumento da concentração de DQO nos três experimentos. Apresentaram eficiência da remoção da DQO maior ou igual a 50% em seis horas de tratamento 33% do experimento do grupo A, 8% do grupo controle, 8% do experimento realizado com água residuária fermentada e 17% obtidos pelos experimentos em que foi adicionada a bactéria produtora de biossurfactante ao lodo ativado (tabela 18).

O Grupo B, tabela 19, apresentou menores variações entre os resultados da diminuição da carga poluidora entre: o grupo controle, o experimento com adição da bactéria *Kokuria rhizophila kovacs*, no lodo, e o experimento em que a água residuária foi adicionada ao tratamento. O experimento B-2 apresentou aumento da carga poluidora, com exceção do experimento 3.B-2 após seis horas de tratamento. O experimento B-3 apresentou diminuição da DQO com valores superiores a 50% nos três experimentos. Após seis horas de tratamento 33% dos experimentos do Grupo B apresentaram remoção da DQO acima de 50%, sendo 17% dos experimentos realizados com água fermentada, 8% do grupo controle e 8% do tratamento realizado com a adição da bactéria *Kokuria* sp.

Tabela 21 – Eficiência da remoção da DQO pelos experimentos do Grupo A

Tempo (h)	2	4	6
Experimento			
2.A-1	44	37	63
3.A-1	-20	19	17
4.A-1	65	67	67
2.A-2	40	-20	20
3.A-2	60	25	65
4.A-2	27	40	14
2.A-3	28	14	-43
3.A-3	80	85	65
4.A-3	-33	17	-1
2.A-4	13	-20	-33
3.A-4	15	-7	46
4.A-4	0	-5	-18

Tabela 22 – Eficiência da remoção da DQO pelos experimentos do Grupo B

Tempo	2	4	6
Experimento			
2.B-1	53	33	46
3.B-1	50	23	48
4.B-1	53	51	61
2.B-2	15	-36	-72
3.B-2	-30	-50	30
4.B-2	-67	-67	-67
2.B-3	0	15	77
3.B-3	32	32	63
4.B-3	24	35	71

Conforme tabela 20, o Grupo C apresentou 41% dos experimentos com remoção da DQO acima de 50% após seis horas de tratamento, sendo 16% dos experimentos realizados com adição de cultura de *Kokuria rhizophila kovacs*, 16% com os experimentos realizados com água fermentada e 9% pelo grupo controle.

O Grupo D, tabela 21, apresentou apenas 25% dos experimentos com resultados acima de 50% na remoção da DQO após seis horas de tratamento, no entanto 16% destes resultados apresentaram a redução dos valores da DQO com eficiência igual e/ou superior a 90%. Estes resultados foram obtidos pelos experimentos realizados com o sobrenadante da água residuária fermentada pela *Kokuria rhizophila kovacs*.

Tabela 23 – Eficiência da remoção da DQO pelos experimentos do Grupo C

Tempo (h)	2	4	6
Experimento			
2.C-1	15	20	19
3.C-1	-25	78	78
4.C-1	20	37	58
2.C-2	22	67	68
3.C-2	51	61	61
4.C-2	-40	80	40
2.C-3	-18	-7	18
3.C-3	17	17	26
4.C-3	7	39	55

Tabela 24– Eficiência da remoção da DQO pelos experimentos do Grupo D

Tempo (h)	2	4	6
Experimento			
2.D-1	2	20	23
3.D-1	68	66	73
4.D-1	40	85	93
2.D-2	3	3	0
3.D-2	-24	-16	-20
4.D-2	24	21	90
2.D-3	22	41	43
3.D-3	4	20	20
4.D-3	-24	7	8

Dos 39 experimentos realizados 28% apresentaram remoção de carga poluidora acima de 60% da DQO inicial e 6h de tratamento e 20% dos experimentos mostraram desempenho da remoção da DQO acima de 60% em 4h.

7 Conclusão

Em função dos resultados obtidos pode-se observar que:

Do total dos experimentos 28% apresentaram resultados, acima de 60% em 6h de remoção da carga poluidora e 20% em 4h de tratamento. Indicando que é possível ter um aumento significativo da redução da DQO, no entanto exigindo melhores técnicas para a avaliação do processo.

A melhor eficiência foi obtida por experimentos em que a água residuária foi previamente fermentada pela *Kokuria rhizophila kovacs* e foi adicionado o sobrenadante no tratamento pelo lodo ativado tendo 93% da carga poluidora removida em 6h.

A adição da bactéria *Kokuria rhizophila kovacs* no lodo ativado induziu o aumento da coesão e diminuição do tamanho do floco do lodo ativado.

A água residuária fermentada pela *Kokuria rhizophila kovacs*, quando adicionada no lodo ativado induziu a formação de flocos grandes e pouco coesos, apresentando aspecto mucilaginoso.

8 Sugestões para próximas pesquisas

Estudar a adição da *Kokuria rhizophila* no tratamento pelo sistema de lodo ativado em água residuária sintética de resíduos hidrofóbicos como óleos vegetais e hidrocarbonetos.

Estudar os efeitos da adição de *Kokuria rhizophila* lodo ativado adaptado e bem conhecido tanto em seus parâmetros operacionais como em sua microbiologia.

Estudar as potencialidades da *Kokuria rhizophila* na produção de biossurfactantes e em outras aplicações.

9 Referências Bibliográficas

BELSKY, I., GUTNICK, D.L. ROSEMBERG, E., Emulsifier of *Arthrobacter* RAG-1: determination of emulsifier-bound fatty acids. Febs. Lett., Vol. 101 (1), pp.175-178, 1979.

BRUSS, J.H., NIELSEN, P.H. e KEIDING, K. On the stability of activated sludge flocs with implication to dewatering. Wat. Res., Vol. 26, pp.1597-1604, 1992.

BURD, G. & WARD, O.P. Energy dependent accumulation of particulate biosurfactant by *Pseudomonas marginalis*, Can. J. Microbiol., pp. 391-394, 1997.

CACCAVO, F. JR., FRØLUND B., VAN OMMEN KLOEKE, F. & NIELSEN, P.H. Defloculation of activated sludge by the dissimilatory Fe(III)-reducing bacterium *Shewanella alga* Br-Y. Appl. Environ. Microbiol., Vol. 62, pp.1490-1490, 1996.

CARVALHO, D.F.; MARCHI, D.D. & DURRANT, L.R., Isolamento de Microrganismos Produtores de Biossurfactantes. Anais da I Reunião Nacional de Microbiologia Aplicada ao Meio Ambiente, vol.1- Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, SP, 1997.

CHAUSSET, M.N. Synthèse et étude physico-chimique de polymères amphiphiles: application à la dépollution des eaux. Dea report, Université Pierre et Marie Curie, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris, Paris, France, pp. 45, 1989.

CHEN, Y., YANG, H. & GU, GUOWEL. Effect of acid and surfactant treatment on activated sludge dewatering and settling. Wat. Res. Vol. 35, No.11, pp 2615-2620, 2001

CIRIGLIANO, M.C. & CARMAN, G.M. Isolation of a Bioemulsifier from *Candida lipolytica*. Appl. Environ. Microbiol., Vol. 50 (4), pp.747-750, 1984.

CURTIS, T. P. & CRAINE, N. G. The Comparison Of The Diversity Of Activated Sludge Plants, Wat. Sci. Tech. Vol. 37 pp.71-78, 1998.

DE FELICE, B., PONTECORVO, B., CARFAGNA, M. Degradation of waste olive mills by *Yarrowia lipolytica* ATCC 20255 and *Pseudomonas putida*. Acta biotechnol., Vol.17(3), pp. 231-239, 1997.

DEWALLE, F.B. & CHIAN, S.K. Kinetics of formation of humic substances in activated sludge systems and their effect on flocculation. Biotechnol.Bioeng., Vol. 16, pp.739-755, 1974.

FERRAREZO, E.M.,_Isolamento e Seleção de Microrganismos Produtores de Bioemulsificantes a Partir de Efluentes de Indústria de Margarina e Sabão, Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 1998.

FIECHTER, A. Biosurfactants: moving towards industrial application. Trends in Food Sci.& Techn., Vol. 3, pp. 289-293,1992.

FLASZ, A., ROCHA, C.A., MOSQUERA,B. & SAJO, C., A Comparative Study of the Toxicity of a Synthetic Surfactant and one Produced by *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 55925., Medical Science Reserch., Vol 26, pp. 181-185, 1998.

FRØLUND, B., PALMGREN, R., KEIDING, K. & NIELSEN, P.H. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. Wat. Res., Vol. 30, pp. 1749-1758, 1985.

GANAYE, V.A., KEIDING, K., VIRIOT, M.L., VOGEL, T.M. & BLOCK, J.C. Evaluation of soil organic matter polarity by pyrene fluorescence spectrum variations. Environ. Sci. Tech., Vol. 31, pp. 2701-2706, 1997.

GERSON, D.F. & ZAJIC, J.E. Microbial Surfactants. Process. Biochem., Vol. 14(7), pp. 20-29, 1979.

GOODWIN, J.A.S. & FORSTER, C.F. A further examination into the composition of activated sludge surfaces in relation to their settlement characteristics. Wat. Res., Vol. 19, pp. 527-533, 1985.

GUTNICK, D.L., & SHABTAI, Y. Exopolysaccharide bioemulsifiers IN: KOSARIC, N., CAIRNS, W., Biosurfactants and Biotechnology. Surfactants Series Vol. 25, pp. 211. New York, ed. Marcel Dekker Inc., 1987.

INOUE, S. Biosurfactants in cosmetic application. Word Conference on biotechnology for the Fats and Oils. In.: JOACS., Vol. 64 (9), 1998.

JORAND, F., BOUÉ-BIGNE, F., BLOCK, J.C. & URBAIN, V. Hydrophobic/hydrophilic properties of activated sludge exopolymeric substances. Wat. Sci. Tech. Vol. 37, No. 4-5, pp. 307-315, 1998.

JORDAN, F. THOMAS, F. BLOCK, J.C., BOTTERO, J.Y., VILLEMIN, G. URBAIN, V. & MANEM, J. Chemical and structural (2D) linkage between bacteria within activated sludge flocs. Wat. Res., Vol. 29, pp. 1639-1647, 1995.

JORDAN, F., GUICHERD, P., URBAIN, V., MANEM, J. & BLOCK, J.C. Hydrophobicity of activated sludge flocs and laboratory grown bacteria. Wat. Sci. Tech., Vol. 30(11), pp. 211-218, 1994.

JORDAN, R.N. Eric P. Nichols^a and Alfred B. Cunningham^a, The role of (Bio)surfactant Sorption in Promoting the Bioavailability of Nutrients Localized at the Solid-Water Interface, Wat. Sci. Tech. Vol. 39, n.7: 91-98, 1999.

KAKII, K. et. al. Some properties fol mucilage polysaccharides extracted from sewage activated slugde. J. Fermentation Technol. Vol. 62, pp. 429-435, 1984.

KOSARIC, N. et. al., , Biosurfactants and Biotechnology, Bulton,C. A. & Ratledge, C. Biosynthesis of Lipids Presursors to Surfactant Production, Syldatk,C & Wagner,F. Production of surfactants, surfactant science series,vol.25,New York: Marcel Dekker,1987.

KOVÁCS, G., BURGHARDT, J., PRADELLA, S., SHUMANN,P., STACKEBRANT, E. & MÀRIALIEGETI, K., *Kokuria palustris* sp. nov. and *Kokuria rhizophila* sp. nov., isolated from the rhizoplane of the narrow-leave cattail (*Typha angustifolia*). International Journal of Systematic Bacteriology, Vol. 49, pp.167-173, 1999.

KUDO, S., Biosurfactants as food additives. Word Conference on biotechnology for the Rats and oils. In.: JOACS., 69 (9): 189-194, 1988.

LEMMER, H., LIND, G., SCHADE, M. & ZIEGALMAYER, B. AUTECOLOGY OF SCUM PRODUCING BACTÉRIA Wat.Scie.Tech. Vol. 37, n°4-5, pp.527-530.

LI DH, GANCZARCZYK JJ. Structure of activated-sludge flocs biotechnology and bioengeering, 35 (1): 57-65 JAN 5,1990.

LIMA, A. S. Produção, Estabilidade e Isolamento de Bioemulsificante Obtido a Partir da Fermentação de Óleo-Diesel Comercial por *Saccharomyces lipolytica.*, Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos,Campinas, 1997.

LIN, S, LIN,K.G., LO,C.C. & LIN,Y.MING, Enhanced biosurfactant production by a *Bacillus licheniformis* mutant. Enzyme and Microbial Tecnology. 23 (3-4) 267-273, 1998.

MARTIN, E.A. & FARRELL, D.J., Strategies to improve the nutritive value of rice bran in poultry diets: II. Changes in oil digestibility, metabolisable energy and attempts to increase the digestibility of the oil fraction in the diets of chickens and ducklings. British Poultry Science. Vol 39 (4), pp. 555-559, 1998.

GOODFELLOW, M., STAINSBY, F.M., DAVENPORT, R., CHUN, J. & TOM CURTS, T. Activated sludge foaming: the true extent of Actinomycete diversity. Wat. Sci. Tech. Vol. 37 pp. 511-519, 1998.

JOHNSON, V., SINGH, M. SAINI, V.S., ADRIKARI, D. K., SISTA, V. & YADAV, N., Bioemulsifier production by an oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* IIP-30. Biotechnol. Lett., Vol. 14(6), pp. 487-490, 1992.

NELSON, T.C., HUANG, J.Y.C. & RAMASWAMI, D. Decomposition of exopolysaccharide slime by a bacteriophage enzyme. Water Res. Vol. 22, pp. 1185-1188, 1988.

PAVONI, J.L., ECHELBER, W.F., TENNEY, M.W. Bacterial Exocellular Polymers And Biological Flocculation, J. Wat. R. Pollution. Control Federation., 44 (3):414, 1972.

PIKE, E.B. & CURDS, C.R. The microbial ecology of activated sludge process. In Microbial Aspects of Pollution, eds. Seyes, G. & Skinner, F.A., pp 1123- 1147, Academic Press, London 1971.

RAINEY, F.A., WARD-RAINEY, N. KROPPENSTEDT, R.M. & STACKEBRANDT, E. Phylogenetic diversity of *Deinococci* as determined by 16S ribosomal DNA sequences comparison. Int. J. Syst. Bacteriol., Vol. 47, 510-514, 1996.

SAITOU, N. & NEI, M., The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. Vol. 4, pp. 406-425, 1987.

SAMPAIO, R.M., Estudo da Produção de Bioemulsificantes de *Saccharomyces lipolytica* por Fermentação de Óleo-Diesel Comercial, Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 1995.

SANG, Y.K., JUNG, H.K. & DEOK, K.O., Sophorose lipid production from glucose and soybean oil by *Torulopsis bombicola*. Foods and Biotechnology, Vol. 2, pp. 192-112, 1997.

SCRUGGS, C.E. and RANDALL, C.W. Evaluation of filamentous microorganism growth factors in industrial wastewater activated sludge system. Wat. Sci. Tech. Vol. 37 n°4-5, pp.263-270, 1998.

SCURAS, S. DAIGGER, G.T. & GRADY, C.P.L.Jr. Modeling the activated sludge floc microenvironment. Wat. Sci. Tech. Vol 37, pp. 243-250, 1998.

SGARBIERI, V.C., Propriedades Funcionais de Proteínas em Alimentos, Bol. SBCTA, 32 (1): 105-126, 1998.

SIM, L., WARD, O.P. & LI, Z.Y., Production and Characterisation of a Biosurfactant Isolated from *Pseudomonas aeruginosa* UW-1., Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, Vol. 19, 232-238, 1997.

SING, M., SAINI, V.S. ADHIKARI, D.K. DESAI, J.D. SISTA, V.R., Production of bioemulsifier by a SCP-producing strain of *Candida tropicalis* during hydrocarbon fermentation. Biotechnol. Lett. Vol. 12 (10), pp. 743-746, 1990.

SODDELL, J., SEVIOUR, R.J., BLACKALL, L.L. & HUGENHOLTZ, P. New foaming-forming norcardioforms found in activated sludge, Wat. Sci. Tech. Vol. 37 pp.49-502.

STACKEBRANT, E., RAINEY, F.A. & WARD-RAINEY, N.L. Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis. Int. J. Syst. Bacteriol. Vol. 47, pp. 479-491.

Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 1987

STRATTON, H., SEVIOUR, B. & BROOKS, P. Activated sludge foaming: what causes hydrophobicity and can it be manipulated to control foaming? Wat. Sci. Tech. Vol. 37 pp. 503-509.

URBAIN V., BLOCK, J.C. & MANEM, J. Biofloculation in activated sludge: an analytic approach. Water Res., Vol 27(5), 829-838, 1993.

VOLLENBROICH, D., ÖZEL, M., VATER, J., KAMP, R.M. & PAULI, G. Mechanism of inactivation of enveloped viruses by the biosurfactin from *Bacillus subtilis*, Biologicals, vol.25, pp. 289-297, 1997.

YAKIMOV, M., GOLYSHIN, P.N., LANG, S., MOORE, E., ABRAHAM, W.R., LUENSDORF, H. & TIMMIS, K., *Alcanivorax borkumensis* gen.nov., sp. nov., a new, hydrocarbon-degrading and surfactant-producing marine bacterium. International Journal of Systematic Bacteriology, 48 (2) 339 - 348 , 1998.

Fundação André Tosello

www.fat.org.br

Coleção de Culturas Tropical

www.cct.org.br

Everly Herr Sobreira
Mestranda

Lúcia Regina Durrant
Orientadora

Campinas, 31 de outubro de 2004.