



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS



Avaliação da Aplicação de Ácido Fólico em Tratamento Aeróbio de Águas Residuárias

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Campinas, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, para obtenção do título de “Mestre em Engenharia de Alimentos”.

OSWALDO KAMEYAMA

Engenheiro de Alimentos

Prof. Dr. Ranulfo Monte Alegre

Orientador

Campinas – SP

Março de 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

K128a Kameyama, Oswaldo
Avaliação da aplicação de ácido fólico em tratamento
aeróbico de águas residuárias / Oswaldo Kameyama. -- Campinas,
SP: [s.n.], 2007.

Orientador: Ranulfo Monte Alegre
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Ácido fólico. 2. Lodo ativado. 3. Respiração endógena. 4.
Digestão aeróbica. I. Alegre, Ranulfo Monte. II. Universidade
Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.
Título.

(cars/fea)

Titulo em inglês: Evaluation of application of folic acid in aerobic wastewater treatment

Palavras-chave em inglês (Keywords): Folic acid, Activated sludge, Endogenous respiration,
Aerobic digestion

Titulação: Mestre em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora: Ranulfo Monte Alegre

Ismael Maciel de Mancilha

Mauro de Paula Moreira

Victor Haber Perez

Programa de Pós Graduação: Programa em Engenharia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ranulfo Monte Alegre
Orientador

Prof. Dr. Imael Maciel de Mancilha

Prof. Dr. Mauro de Paula Moreira

Prof. Dr. Victor Haber Perez

À meus pais Marilene e Tomás.
À minhas irmãs Márcia e Silvana.
Aos meus amigos.
À todos os meus professores.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas, à Faculdade de Engenharia de Alimentos, ao Departamento de Engenharia de Alimentos e ao Laboratório de Tratamento de Resíduos, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro.

Ao professor Ranulfo Monte Alegre, pela orientação, pela amizade e pelo apoio.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, pelos ensinamentos.

Aos funcionários do Laboratório de Tratamento de Resíduos, especialmente ao Rafael e Claudia, pelos ensinamentos e pela ajuda.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia de Alimentos, especialmente ao Edinho, pela assistência.

À minha família, pelo carinho e pelo incentivo durante todas as etapas de minha vida.

Aos amigos, pela amizade e incentivo.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o êxito deste trabalho.

RESUMO

KAMEYAMA, O. **Avaliação da Aplicação de Ácido Fólico em Tratamento Aeróbio de Águas Residuárias**. Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2007.

Têm-se identificado deficiência de vitaminas em estações de tratamento biológico de efluentes, em especial do ácido fólico, que age como micronutriente para certas bactérias e estimulando seu crescimento. Este trabalho avaliou o efeito de diferentes concentrações de ácido fólico sobre o lodo em condições fisiológicas normais e em respiração endógena. O sistema foi conduzido em batelada a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, vazão de ar de 0,5 L/min e utilizando água residuária sintética, sendo acompanhado a DQO, pH e Sólidos Totais, Sólidos Totais Fixos, Sólidos Totais Voláteis e visualização em microscópio ótico. Os resultados foram comparados ao controle. Os resultados demonstraram que concentrações de 4,0 e 8,0 mg/L de ácido fólico produzem melhora na microfauna do sistema de lodos ativados, sendo que a concentração de 8,0 mg/L ainda foi capaz de aumentar a velocidade de remoção de DQO nas condições fisiológicas normais do lodo e após a respiração endógena. A concentração de 4,0 mg/L apresentou, estatisticamente, resultado semelhante à concentração de 8,0 mg/L para a condição inicial do lodo em respiração endógena, melhorando a velocidade de remoção de DQO. Quanto ao pH e a remoção de DQO não houve alterações provocadas pela adição do ácido fólico, como era esperado.

Palavras chave: Ácido fólico, lodo ativado, respiração endógena, digestão aeróbia.

ABSTRACT

KAMEYAMA, O. **Evaluation of application of folic acid in aerobic wastewater treatment.** Dissertation presented to Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2007.

They are deficiency of vitamins in sludge of biological wastewater treatment, especially the folic acid, that acts as micronutrient for certain bacteria and stimulating its growth. This work evaluated the effect of different concentrations of folic acid on the sludge in normal physiologic conditions and in endogenous respiration. The system was carried out batch reactor at $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, air flow of 0,5 L/min and using synthetic wastewater, being accompanied COD, pH and Total Solids, Fixed Total Solids, Volatile Total Solids and visualization in optic microscope. The results were compared to the control. The results demonstrated that the concentrations of 4,0 and 8.0 mg/L of folic acid produce improvement in the microfauna of the system of activated sludge, and the concentration of 8,0 mg/L was still capable to increase the speed of removal of COD in the normal physiologic conditions of the sludge and in the endogenous respiration. The concentration of 4,0 mg/L presented similar statistical result to the concentration of 8,0 mg/L for the initial condition of the endogenous respiration sludge, improving the speed COD removal. The pH and the COD removal did not have alterations provoked by the addition of the folic acid.

Key words: Folic acid, activated sludge, endogenous breathing, aerobic digestion.

INDICE

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	OBJETIVOS	3
2.1.	Objetivo Geral.....	3
2.2.	Objetivos Específicos	3
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1.	Água	4
3.1.1.	Água para indústria.....	5
3.1.2.	Águas residuárias	5
3.1.3.	Legislação sobre águas.....	7
3.2.	Tratamento de águas residuárias	8
3.2.1.	Classificação do tratamento.....	9
3.3.	Tratamento Biológico de Águas Residuárias.....	10
3.3.1.	Crescimento celular e a respiração endógena	11
3.3.2.	Bioquímica da oxidação	12
3.3.3.	Fatores que afetam o crescimento celular.....	14
3.3.3.1.	Concentração de nutrientes	14
3.3.3.2.	Temperatura	15
3.3.3.3.	pH.....	16
3.3.3.4.	Nível de oxigênio	17
3.3.3.5.	Presença de substâncias tóxicas	18
3.3.4.	Sistemas de lodos ativados	19
3.3.4.1.	Lodos ativados em sistema de batelada.....	20
3.3.4.2.	Microbiologia dos lodos ativados	21
3.4.	Folatos.....	27
3.4.1.	Funções bioquímicas	28
3.4.2.	Síntese de ácido fólico pelos microrganismos.....	30
3.4.3.	Ácido fólico em tratamentos de águas residuárias.....	31
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1.	Água residuária.....	34
4.2.	Lodo ativado.....	35
4.3.	Operação dos Bioreatores	36
4.4.	Metodologia analítica	37
4.4.1.	Potencial Hidrogeniônico (pH).....	37

4.4.2.	Visualização ao microscópio ótico	37
4.4.3.	Demanda Química de Oxigênio	38
4.4.4.	Sólidos Totais	38
4.4.5.	Sólidos Totais Fixos	39
4.4.6.	Sólidos Totais Voláteis.....	39
4.4.7.	Índice Volumétrico	39
4.5.	Cálculos e análise estatística dos resultados	41
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1.	Ensaio preliminar.....	42
5.2.	Valores de pH.....	45
5.3.	Efeito do ácido fólico sobre a remoção de DQO	48
5.4.	Efeito do ácido fólico sobre a velocidade de remoção de DQO.....	52
5.5.	Efeito do ácido fólico sobre a fauna microbiana	54
5.6.	Efeito do ácido fólico sobre a sedimentação	56
6.	CONCLUSÕES	60
7.	SUGESTÕES	61
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
Anexo 1.	Resultados analíticos dos ensaios com lodo sob condições normais	66
Anexo 2.	Resultados analíticos dos ensaios com lodo sob condições de respiração endógena	74
Anexo 3.	Resultados analíticos dos ensaios preliminares com baixa concentração de ácido fólico como lodo sob condições de respiração endógena.....	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Níveis de tratamento dos esgotos	9
Tabela 2 - Faixa de temperaturas ótima para o crescimentos de microrganismos	16
Tabela 3 - Microrganismos indicadores das condições de operação do tratamento de águas residuárias por lodos ativados.	23
Tabela 4 - Gêneros presentes nos lodos ativados e reações pelas quais são responsáveis.	24
Tabela 5 - Desempenho do sistema de lodos ativados e relação com o grupo predominante de protozoários.	26
Tabela 6 - Composição do meio a ser utilizado como água residuária.....	34
Tabela 7 - Variação da composição do substrato utilizado na adaptação do lodo.....	35
Tabela 8 - Composição da solução de micronutrientes utilizada para melhorara as condições do lodo.	35
Tabela 9 - Velocidades de remoção de DQO para baixas concentrações ácido fólico com o lodo em respiração endógena	44
Tabela 10 -Velocidades de remoção de DQO (mg/L.h) para diversas concentrações ácido fólico com o lodo em condições normais	52
Tabela 11 -Velocidades de remoção de DQO (mg/L.h) para diversas concentrações ácido fólico com o lodo em respiração endógena	53
Tabela 12 -Valores calculados de IVL (mL/g) para as diferentes concentrações de ácido fólico com o lodo em condições normais	57
Tabela 13 -Valores calculados de IVL (mL/g) para as diferentes concentrações de ácido fólico com o lodo em respiração endógena	58
Tabela 14 - Acompanhamento da DQO para o controle com o lodo em condições normais....	67
Tabela 15 - Acompanhamento da DQO para 0,5 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais	68
Tabela 16 - Acompanhamento da DQO para 2,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais	69
Tabela 17 - Acompanhamento da DQO para 4,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais	70
Tabela 18 - Acompanhamento da DQO 8,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais	71
Tabela 19 - STV para o controle com o lodo em condições normais.....	72

Tabela 20 - STV para 0,5 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais	72
Tabela 21 - STV para 2,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais	72
Tabela 22 - STV para 4,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais	73
Tabela 23 - STV para 8,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais	73
Tabela 24 - Acompanhamento da DQO para o controle com o lodo em respiração endógena. 75	
Tabela 25 - Acompanhamento da DQO para 0,5 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena	76
Tabela 26 - Acompanhamento da DQO para 2,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena	77
Tabela 27 - Acompanhamento da DQO para 4,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena	78
Tabela 28 - Acompanhamento da DQO para 8,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena	79
Tabela 29 - STV para o controle com o lodo em respiração endógena.....	80
Tabela 30 - STV para 0,5 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena.....	80
Tabela 31 - STV para 2,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena.....	80
Tabela 32 - STV para 4,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena.....	81
Tabela 33 - STV para 8,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena.....	81
Tabela 34 - Acompanhamento da DQO para o controle com o lodo em respiração endógena. 83	
Tabela 35 - Acompanhamento da DQO para 500 ppb de ácido fólico com o lodo em respiração endógena	83
Tabela 36 - Acompanhamento da DQO para 5,0 ppm de ácido fólico com o lodo em respiração endógena	84
Tabela 37 - Acompanhamento da DQO para 500 ppm de ácido fólico com o lodo em respiração endógena	84
Tabela 38 - STV para o controle com o lodo em respiração endógena.....	85
Tabela 39 - STV para 500 ppb de ácido fólico com o lodo em respiração endógena	85
Tabela 40 - STV para 5,0 ppm de ácido fólico com o lodo em respiração endógena	85
Tabela 41 - STV para 500 ppm de ácido fólico.....	85

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -Curva esquemática do crescimento microbiano	11
Figura 2 -Esquema dos contactores biológicos rotativos	20
Figura 3 -Representação dos ciclos de operação de lodos ativados em sistema de batelada.	21
Figura 4 -Estrutura molecular do ácido fólico (ácido pterilglutâmico).....	27
Figura 5 -Ciclo de metilação e a relação com o metabolismo de folatos.....	29
Figura 6 -Estruturas moleculares dos antimicrobianos inibidores da síntese e ação do ácido fólico.....	30
Figura 7 -Figura esquemática do biorreator a ser utilizado.....	36
Figura 8 -Figura esquemática da determinação do volume ocupado pelo lodo, durante a determinação do IVL.....	40
Figura 9 -Acompanhamento de pH para baixas concentrações de ácido fólico com o lodo em respiração endógena	43
Figura 10 - Acompanhamento de DQO para baixas concentrações de ácido fólico	44
Figura 11 - Acompanhamento do pH para diferentes concentrações de ácido fólico com o lodo em condições normais (▲ 1ª alimentação, ○ 2ª alimentação).	46
Figura 12 - Acompanhamento do pH para diferentes concentrações de ácido fólico com o lodo em respiração endógena (▲ 1ª alimentação, ○ 2ª alimentação).	47
Figura 13 - Acompanhamento da DQO para diferentes concentrações de ácido fólico com o lodo em condições normais (▲ 1ª alimentação, ○ 2ª alimentação).	49
Figura 14 - Acompanhamento da DQO para diferentes concentrações de ácido fólico com o lodo em respiração endógena (▲ 1ª alimentação, ○ 2ª alimentação).	50

LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS

AOAC	Association of Official Analytical Chemistry
APHA	American Public Health Association
ATP	Adenosina Tri-Fosfato
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
COT	Carbono Orgânico Total
COT	Carbono Orgânico Total
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DQO	Demanda Química de Oxigênio
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
IVL	Índice Volumétrico de Lodo
OD	Oxigênio Dissolvido
PABA	Ácido p-aminobenzóico
pH	Potencial Hidrogeniônico
ST	Sólidos Totais
STF	Sólidos Totais Fixos
STV	Sólidos Totais Voláteis

1. INTRODUÇÃO

Atualmente há uma preocupação crescente com o meio ambiente, assim como um aumento das exigências pela legislação. Estas determinam que águas residuárias sejam tratadas antes de serem lançadas nos corpos receptores.

Os processos biológicos de tratamento de águas residuárias industriais apresentam características próprias, entre elas, a maior carga orgânica e a necessidade de paralisação da planta de tratamento nos períodos de ociosidade da indústria. Por se tratar de processos biológicos, são altamente dependentes da atividade e concentração da biomassa, assim alterações fisiológicas nos microrganismos responsáveis pela degradação alteram as características das plantas de tratamento. A paralisação da alimentação causa queda na concentração de substrato, induzindo à respiração endógena. Durante a respiração endógena há uma redução no número de células viáveis, reduzindo a eficiência do tratamento durante a retomada das operações.

Pesquisas demonstram a deficiência de vitaminas nas unidades de tratamento de águas residuárias. Essas vitaminas juntamente com outros nutrientes são de grande importância para o bom desenvolvimento da biomassa.

O ácido fólico (ácido pterilglutâmico) é considerado a molécula base de um grupo de vitaminas conhecido como folatos. Os folatos têm papel importante na biossíntese de nucleotídeos e atuam como cofator em muitas outras reações metabólicas. Ele age como um micronutriente em certas bactérias e estimula o crescimento de microrganismos por sua ação vitamínica. Uma vez adicionado à água residuária o ácido fólico interrompe a necessidade do microrganismo de sintetizar esta vitamina, inibindo algumas rotas metabólicas e acelerando outras, de forma a aumentar a capacidade de consumo de outros nutrientes.

A adição de ácido fólico ao tratamento além de eliminar a deficiência dessa vitamina nas plantas de tratamento, por sua ação vitamínica, acelera o metabolismo dos microrganismos podendo auxiliar a recuperação do lodo nas condições de respiração endógena, melhorando a qualidade do tratamento após a paralisação da alimentação da planta de tratamento.

Outros efeitos do ácido fólico também podem ser obtidos, como a melhora da sedimentação e conseqüentemente a melhora na clarificação do efluente tratado, tendo em vista o aumento da biodiversidade da fauna e controle de bactérias filamentosas.

Assim o presente trabalho, visou verificar a utilização do ácido fólico como agente vitamínico no tratamento aeróbio de água residuária e de aceleração da recuperação da condição fisiológica do lodo em respiração endógena.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Estudar o efeito do ácido fólico sobre a o lodo responsável pelo tratamento aeróbio de águas residuárias, sem condições normais e em respiração endógena.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a concentração de ácido fólico mínima que proporcione melhora do tratamento de águas residuárias;

- Avaliar a aplicação do ácido fólico na eficiência da remoção de DQO durante a retomada do tratamento, após um período de paralisação da alimentação da planta de tratamento;

- Observar outras mudanças nas características da composição da microbiota presente no lodo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. ÁGUA

A água é o constituinte inorgânico mais abundante nos seres vivos; constituinte de cerca de 75% do corpo humano e podendo chegar a 98% em outros animais (LIBÂNIO, 2005). Desta forma observa-se a importância da água para a vida na terra, porém de toda a água do planeta, 97% estão presentes em mares, oceanos e lagos de água salgada, logo apenas 3% são de água doce (REBOUÇAS et al., 2006; LIBÂNIO, 2005). Ainda destes 3% da água doce do planeta, cerca de 68,9% estão nas calotas polares, geleiras e neves eternas que cobrem algumas montanhas, 29,9% estão no subterrâneo, águas de pântanos, umidade dos solos consistem 0,9% e apenas 0,3% são de rios e lagos (REBOUÇAS et al., 2006).

O Brasil apresenta uma relativa abundância no cenário hídrico mundial. Com produção hídrica de 177.900 m³/s, que juntamente com a produção da Amazônia internacional de 73.100 m³/s representa cerca de 53% da produção de água doce do continente e 12% da mundial (REBOUÇAS et al., 2006).

Essa cultura de abundância hídrica nos leva ao desperdício da água doce disponível e o não investimento em uso e proteções eficientes (REBOUÇAS et al., 2006). Um exemplo é o fato de 95% da população brasileira habitar quatro regiões que são irrigadas por 27% da disponibilidade hídrica, e destas regiões, são as regiões sul e sudeste que sofrem mais com o lançamento de despejos domésticos e industriais (LIBÂNIO, 2005).

3.1.1. Água para indústria

A água tem grande importância para a indústria. Ela é utilizada como solvente universal para diversas substâncias, meio para diversas reações químicas e bioquímicas, veículo de suspensão de sólidos, para obtenção de energia elétrica, transmissão de calor, limpeza de equipamentos e utensílios, constituinte de produtos alimentícios, etc.

O problema de utilização da água pela indústria não se dá pelo seu volume relativo de uso, uma vez que a indústria consome 20% do total de água, enquanto o abastecimento doméstico cerca de 10% e enquanto o setor agropecuário consome 70% (REBOUÇAS et al., 2006; LIBÂNIO, 2005), mas sim pelo seu grande poder poluidor.

O crescimento da demanda de água para atender as necessidades industriais e a disposição de seus dejetos líquidos nos corpos d'água, tem provocado considerável dificuldade na obtenção de água para atender as necessidades da sociedade (REBOUÇAS et al., 2006).

Tendo em vista a pressão de organizações ambientais e a legislação, que já prevê a cobrança não apenas pelo consumo, como pelo seu uso, tem feito com que as indústrias reduzam a quantidade de água captada, e isso inclui programas de reuso de água das correntes de efluentes (REBOUÇAS et al., 2006). Desta forma o reuso de efluentes requer um avanço dos sistemas de tratamento de águas residuárias.

3.1.2. Águas residuárias

Águas residuárias, também chamados de efluentes líquidos, são ricas principalmente em constituintes orgânicos, e são caracterizadas por análises de: sólidos, indicadores de matéria orgânica, nitrogênio, fósforo e indicadores de contaminação fecal (von SPERLING, 1996a).

Todos os contaminantes da água, com exceção dos gases dissolvidos, contribuem para a carga de sólidos. Os sólidos podem ser classificados por tamanho (sólidos dissolvidos ou em suspensão), pelas características químicas (fixos ou voláteis) e pela decantabilidade (sedimentáveis e não-sedimentáveis) (von SPERLING, 1996b).

A matéria orgânica apresenta grande importância, pois é a principal responsável pelo decréscimo da concentração de oxigênio dissolvido nos corpos receptores, dado seu consumo pelos microrganismos em seus processos metabólicos de utilização e estabilização. Baseado neste conceito os métodos mais comuns para se determinar a concentração de matéria orgânica de uma amostra são obtidos de maneira indireta, ou seja, determinando a concentração de oxigênio consumido para estabilização da matéria orgânica contida na amostra, sendo elas: a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e a Demanda Química de Oxigênio (DQO). Pode-se ainda utilizar a determinação de carbono orgânico total (COT) (RAMALHO, 1983).

A DBO representa a quantidade de oxigênio requerida para oxidar, através de processos bioquímicos, a matéria orgânica. Já o teste da DQO mede o consumo de oxigênio ocorrido durante a oxidação química, correspondendo à quantidade de oxigênio necessária para oxidar a fração orgânica de uma amostra (von SPERLING, 1996b; JORDÃO e PESSOA, 1995; RAMALHO, 1983).

A relação DQO/DBO_5 fornece um parâmetro a respeito da biodegradabilidade dos despejos e assim pode-se decidir sobre o processo de tratamento a ser empregado. Uma relação DQO/DBO_5 baixa indica que a fração biodegradável é elevada, sendo indicado o tratamento biológico. Já uma relação DQO/DBO_5 elevada, demonstra que a fração inerte é elevada e deverá ser usado outro tipo de tratamento que utilize processos físico-químicos (BRAILE & CAVALCANTI, 1993).

O nitrogênio é um elemento indispensável para o crescimento de algas, podendo conduzir a fenômenos de eutrofização de lagos e represas. Os processos de conversão de amônia em nitrito e deste em nitrato implicam em consumo de oxigênio dissolvido no corpo d'água receptor; além disso, o nitrogênio na forma de amônia livre é tóxico aos peixes. Por outro lado, o nitrogênio também é um componente importante em termos do próprio controle da poluição das águas, pois é um elemento indispensável para o crescimento dos microrganismos responsáveis pelo tratamento de esgotos (von SPERLING, 1996a).

A importância do fósforo deve-se principalmente aos seguintes aspectos: por um lado, é um nutriente essencial para o crescimento dos microrganismos responsáveis pela estabilização da matéria orgânica e, por outro, é um nutriente essencial para o crescimento de algas, podendo conduzir a fenômenos de eutrofização de lagos e represas (von SPERLING, 1996c).

Os despejos industriais apresentam grande variabilidade, sendo que devem ser observados as seguintes características: biodegradabilidade; tratabilidade, concentração de matéria orgânica, disponibilidade de nutrientes e toxidez (von SPERLING, 1996b).

De acordo com a legislação ambiental vigente, águas residuárias devem ser previamente tratadas antes de lançadas no corpo receptor. Em se tratando de águas contendo compostos orgânicos, normalmente são utilizados processos biológicos de tratamento, que se fundamentam na capacidade dos microrganismos transformarem compostos orgânicos biodegradáveis em substâncias que possam ser removidas do sistema de tratamento (BRASIL, 2005; CHENICHARO, 1997).

3.1.3. Legislação sobre águas

A resolução CONAMA nº357 de março de 2005, dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Nesta resolução os corpos de água são classificados em águas doces, salobras, e salinas (CONAMA, 2005).

As águas doces podem ainda ser classificada em classes, sendo elas especial, 1, 2, 3 e 4, conforme padrões máximos de DBO₅, OD, turbidez, cor, pH, óleos e graxas, materiais flutuantes, coliformes termotolerantes, entre outros parâmetros (CONAMA, 2005).

Nesta mesma resolução determinam-se padrões de lançamento de águas residuárias tratadas nos corpos receptores, sendo vedada o seu lançamento em corpos classificados como águas de classe especial. Nas demais classes de águas é necessário que os padrões de lançamento sejam atendidos e que o lançamento não provoque a mudança do corpo receptor à uma classe inferior de qualidade (CONAMA, 2005).

O tratamento é necessário, pois o lançamento da água residuária sem o tratamento adequado provoca (PELCZAR et al., 1996b):

- ❖ disseminação de microrganismos patogênicos;
- ❖ aumento do perigo na utilização das águas como suprimento potável;
- ❖ contaminação de outros animais, tornando-os impróprios ao consumo humano;
- ❖ depleção do suprimento de oxigênio e morte dos animais aquáticos;
- ❖ diminuição da população de aves, pela redução das suas fontes de alimento;
- ❖ diminuição do valor das águas para fins recreativos;
- ❖ criação de condições desagradáveis como, odores e acúmulo de detritos.

3.2. TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS

O tratamento de águas residuárias é baseado em processos físicos, químicos e biológicos.

Os processos físicos caracterizam-se principalmente pela remoção das substâncias fisicamente separáveis dos líquidos, ou que não se encontram dissolvidas. Basicamente, têm por finalidade separar as substâncias em suspensão no esgoto (JORDÃO e PESSOA, 1995; RAMALHO, 1983).

Os processos químicos são aqueles em que há utilização de produtos químicos, e raramente são adotados isoladamente. A necessidade de utilizar produtos químicos tem sido a principal causa da menor aplicação desses processos (JORDÃO & PESSOA, 1995). Um agente floculador, por exemplo, tem a propriedade de formar flocos grandes e pesados pela reação com certas substâncias dissolvidas nas águas; estes flocos envolvem as partículas minúsculas em suspensão e as arrastam para o fundo, em conjunto com uma parte dos colóides (RAMALHO, 1983).

Os processos biológicos são os que dependem da ação de microrganismos presentes nos esgotos e, em geral, são os principais responsáveis pela depuração dos despejos. Neste processo procura-se reproduzir, em dispositivos racionalmente projetados, os fenômenos biológicos observados na natureza, condicionando-os em área e tempo economicamente justificáveis (JORDÃO e PESSOA, 1995; RAMALHO, 1983).

3.2.1. Classificação do tratamento

O tratamento de águas residuárias é usualmente classificado através dos seguintes níveis: preliminar, primário, secundário e terciário, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1 - Níveis de tratamento dos esgotos

Nível	Remoção
Preliminar	-sólidos em suspensão grosseiros.
Primário	-sólidos em suspensão sedimentáveis; -DBO em suspensão.
Secundário	-DBO em suspensão não removida no primário; -DBO solúvel.
Terciário	-nutrientes; -microrganismos patogênicos; -compostos não-biodegradáveis; -metais pesados; -sólidos inorgânicos dissolvidos; -sólidos em suspensão remanescentes.

Fonte: von SPERLING, 1996b.

O tratamento preliminar objetiva a remoção de sólidos grosseiros e areia. Os mecanismos básicos de remoção são de ordem física, como gradeamento, peneiramento e sedimentação (von SPERLING, 1996b; RAMALHO, 1983).

No tratamento primário ocorre a remoção de sólidos sedimentáveis em suspensão e sólidos flutuantes, sendo que uma parte significativa dos sólidos em suspensão é compreendida por matéria orgânica em suspensão, logo, a sua remoção, utilizando sedimentação, por exemplo, provoca redução da carga de DBO do efluente dirigido ao tratamento secundário. Isso implica em menores custos, devido à possibilidade de se utilizar um sistema de tratamento secundário com menor volume e menores exigências operacionais (von SPERLING, 1996b; RAMALHO, 1983).

O principal objetivo do tratamento secundário é a remoção da matéria orgânica, que pode estar na forma dissolvida ou em suspensão. Nessa etapa, os processos são concebidos de forma a acelerar os mecanismos de degradação que ocorrem naturalmente nos corpos receptores. Assim, a decomposição dos poluentes orgânicos desagradáveis é alcançada, sob condições controladas, em intervalos de tempo menores do que nos sistemas naturais (von SPERLING, 1996b; RAMALHO, 1983).

O tratamento terciário tem por objetivo a remoção de poluentes específicos, como nutrientes, patógenos, substâncias tóxicas e corantes, ou a remoção complementar de poluentes não suficientemente removidos no tratamento secundário (von SPERLING, 1996b; RAMALHO, 1983).

3.3. TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS

O tratamento biológico de águas residuárias fundamenta-se na capacidade dos microrganismos de utilizarem os compostos orgânicos biodegradáveis, transformando-os em substâncias que podem ser removidas do sistema de tratamento, como lodo biológico, água e gases. A aplicabilidade do processo pode ser avaliada pelo conhecimento das características químicas do despejo, como a concentração de compostos biodegradáveis presentes (CHERNICHARO, 1997).

Nos sistemas aeróbios, cerca de 40 a 50% da matéria orgânica é oxidada à CO_2 e conversão de 50 a 60% dessa matéria orgânica em biomassa microbiana, constituindo-se o lodo excedente do sistema. O material não-degradado totaliza 5 a 10% (CHERNICHARO, 1997). Geralmente são considerados sistemas muito eficientes na remoção de matéria orgânica, nutrientes e patógenos e, por isso, não há necessidade de implantação de sistema de tratamento terciário. Os processos aeróbios mais comumente utilizados são as lagoas aeradas e os sistemas de lodo ativado (von SPERLING, 1996a).

Nos sistemas anaeróbios, verifica-se que 70 a 90% do material orgânico biodegradável presente no despejo é convertido em biogás, principalmente CO_2 e metano. Há uma pequena quantidade de lodo excedente produzida, sendo que apenas 5 a 15% do material orgânico é convertido em biomassa microbiana. O material não-degradado pelo sistema totaliza 10 a 30% (CHERNICHARO, 1997).

3.3.1. Crescimento celular e a respiração endógena

O crescimento celular em um sistema de batelada pode ser dividido em 6 fases, conforme demonstra a Figura 1.

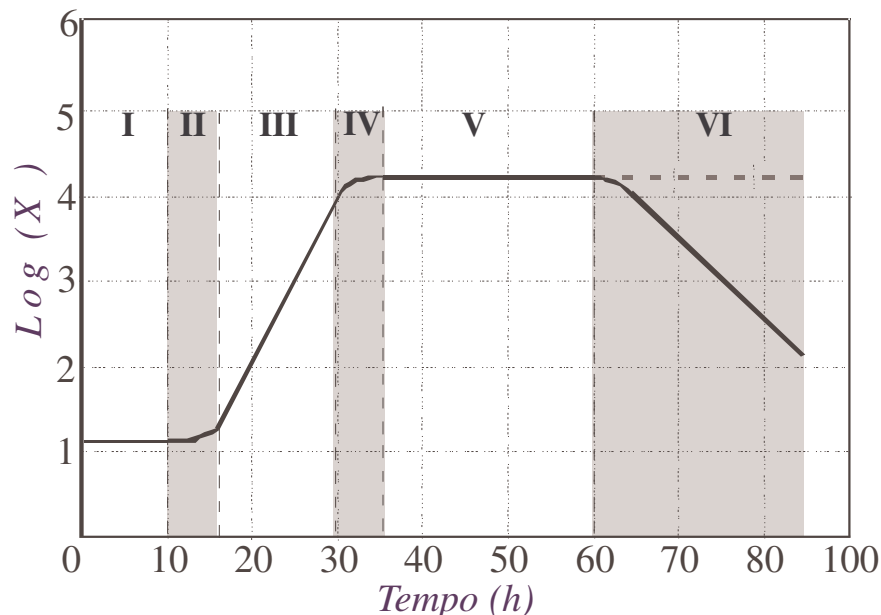


Figura 1 - Curva esquemática do crescimento microbiano

Na fase I é chamada de fase lag; nela ocorre a adaptação dos microrganismos ao meio, não ocorre crescimento celular. Logo após a fase lag inicia-se o processo de aumento da concentração de células pelo início da reprodução celular, esta fase é chamada de crescimento acelerado. Na fase III (fase exponencial) a velocidade específica de crescimento é máxima e a concentração de células aumenta de maneira exponencial. Como a redução da concentração de substrato ocorre também a redução na velocidade específica de crescimento, iniciando-se a fase IV de desaceleração, que é seguida pela fase estacionária (V), onde a taxa de crescimento celular é igual a taxa de morte celular. A redução maior da concentração de substrato faz com que as células iniciem o processo de respiração endógena e acelera a taxa de morte, provocando o decréscimo da concentração de células, etapa conhecida como fase de morte ou declínio (SHULER & KARGI, 2002; BROCK, 2000; CHEREMISINOFF, 1996; RAMALHO, 1983).

A respiração endógena ocorre dada a necessidade da célula por energia, gerada pela autólise e oxidação de outras células inativas, para a manutenção da energização da membrana (transporte de nutrientes, regulação osmótica, motilidade), reparação de estruturas e outras funções (SHULER & KARGI, 2002; RITTMAN & McCARTY, 2001; CHEREMISINOFF, 1996; VAZOLLER et al., 1989).

As indústrias muitas vezes interrompem suas atividades aos finais de semana e em outras ocasiões e, assim, a planta de tratamento de efluentes também é paralisada, havendo apenas a aeração do meio juntamente com a biomassa. Durante essa fase sem alimentação ocorre consumo das reservas internas da célula, ou seja, respiração endógena e início do decréscimo da concentração de biomassa na planta de tratamento.

3.3.2. Bioquímica da oxidação

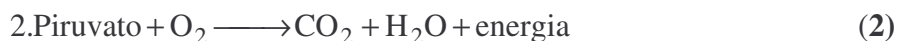
A degradação da matéria orgânica pelos microrganismos ocorre pela necessidade destes organismos necessitarem de energia para crescer, reparação de estruturas, reprodução e muitas outras funções celulares (CHEREMISINOFF, 1996). Esta energia é obtida por reações bioquímicas de oxidação no interior da célula.

Primeiramente ocorre a degradação dos hidrocarbonetos complexos através de exoenzimas lançadas ao meio para hidrolisar esse material a compostos mais simples e que possam ser absorvidos pelas células (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1997; von SPERLING, 1996c; HORAN, 1989).

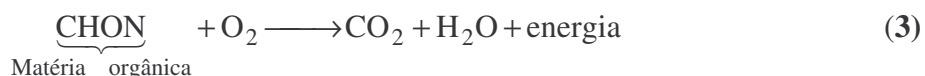
No interior da célula inicia-se o processo chamado de glicólise, que ocorre na ausência de oxigênio, portanto presente também no metabolismo celular de anaeróbios. A glicólise gera apenas duas unidades de ATP, que são as fontes de armazenamento de energia da célula, e piruvato (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 1997; HORAN, 1989). A glicólise pode ser descrita pela Equação 1.



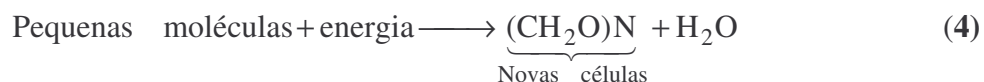
Os microrganismos aeróbios apresentam como diferencial o mecanismo de fosforilação oxidativa, que ocorre no interior das mitocôndrias e a qual consiste em um conjunto de reações que transformam o piruvato da glicólise, utilizando comoceptor final de elétrons o oxigênio, em produtos como água, CO₂ e energia como pode-se ver na Equação 2 (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 1997; HORAN, 1989).



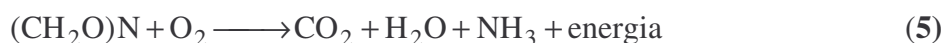
De forma geral o processo de respiração aeróbia pode ser descrito pela Equação 3:



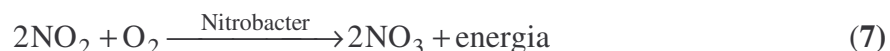
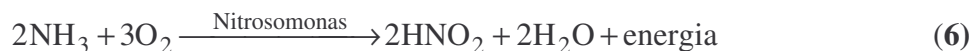
Geralmente associado ao processo de oxidação do material orgânico ocorre a síntese de novas células, processo conhecido como anabolismo. Neste processo além da energia obtida do processo de oxidação, há o consumo de nutrientes como carbono, nitrogênio e fósforo presentes na forma de pequenas moléculas produtos da oxidação (von SPERLING, 1996c). A reação de anabolismo pode ser descrita como na Equação 4.



Quando ocorre a queda da concentração de material orgânico biodegradável e as reservas de energia internas das células caem, a inicia-se o processo de respiração endógena, no qual ocorre o consumo do próprio material celular e relaciona-se com a fase de decréscimo da concentração de células no reator, onde as células mortas tornam-se substrato para as demais células (von SPERLING, 1996c). Podemos representar bioquimicamente a respiração endógena pela Equação 5.



Para que o lodo biológico desempenhe sua função, ele necessita de 12% de nitrogênio em relação à massa de lodo que cresce e 2% de fósforo (RAMALHO, 1983). Bactérias quimioautotróficas utilizam energia de compostos inorgânicos para suas reações de anabolismo. Nos sistema de lodos ativados encontramos bactérias nitrificantes como as *Nitrosomonas* que convertem amônia em nitrito e *Nitrobacter* que convertem nitrito em nitrato, com consumo de oxigênio, conforme as Equações 6 e 7 (von SPERLING, 1996c; BITTON, 1994; HORAN, 1989).



3.3.3. Fatores que afetam o crescimento celular

Tendo em vista que o crescimento e atividade dos microrganismos são responsáveis pela depuração da matéria orgânica de águas residuárias (CHERNICHARO, 1997; CHEREMISINOFF, 1996), é importante que os fatores que afetam o crescimento e atividade dos microrganismos sejam atenuados ou eliminados. Vários fatores de natureza física e química influenciam o crescimento e a atividade dos microrganismos, dentre eles podemos destacar: concentração de nutrientes, temperatura, pH, nível de oxigênio e presença de substâncias tóxicas.

3.3.3.1. Concentração de nutrientes

Os microrganismos, assim como os demais organismos vivos, apresentam certas necessidades nutritivas, indispensáveis ao crescimento e à manutenção celular. Dessa forma, os microrganismos necessitam de uma fonte de energia, uma fonte de carbono (geralmente um carboidrato), macronutrientes inorgânicos (N e P), micronutrientes inorgânicos (S, K, Ca, Mg, Fe, Na, Cl, Zn, Ni, Co, Mn, Mo, Se, etc.), além de alguns compostos orgânicos como vitaminas e aminoácidos (RITTMAN & McCARTY, 2001, BROCK, 2000; CHEREMISINOFF, 1996; BITTON, 1994).

A quantidade necessária de cada nutriente varia muito com o microrganismo, mas mesmo no caso de micronutrientes, se não for atendida a exigência microbiana, poderá haver uma limitação do crescimento, caso o nutriente seja limitante. Ao contrário, em alguns casos, um excesso de determinado nutriente pode causar efeito inibitório no crescimento. Dessa forma, devem ser observadas as faixas ótimas para cada nutriente, afim de que não ocorra prejuízo para a biomassa celular (RITTMAN & McCARTY, 2001; CHEREMISINOFF, 1996; von SPERLING, 1996b; BITTON, 1994).

Em águas residuárias contendo altas concentrações de álcoois e cetonas há uma tendência de aumento da população de bactérias filamentosas (CHEREMISINOFF, 1996; BITTON, 1994).

3.3.3.2. Temperatura

A temperatura apresenta grande influência no metabolismo de microrganismos, uma vez que suas funções são movidas por reações químicas e bioquímicas que são influenciadas pela temperatura (SHULER & KARGI, 2002; RITTMAN & McCARTY, 2001; BROCK, 2000; von SPERLING, 1996).

Em geral, como qualquer reação química, a velocidade de reação dobra com o incremento de 10°C na temperatura, porém como se trata de um processo biológico esse aumento ocorre até uma temperatura ótima, acima dessa temperatura ocorre desnaturação das enzimas reduzindo a velocidade das reações metabólicas (RITTMAN & McCARTY, 2001; von SPERLING, 1996c).

Desta forma cada espécie de microrganismo apresenta uma faixa de temperatura na qual seu crescimento é favorecido (PELCZAR et al., 1996a; BROCK, 2000; CHEREMISINOFF, 1996), assim temos os microrganismos apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Faixa de temperaturas ótima para o crescimentos de microrganismos

Tipo	Mínima (°C)	Ótima (°C)	Máxima (°C)
Psicrófilos	-5	12 a 20	20
Psicrotróficos	-5	25 a 45	-
Mesófilos	5	25 a 45	47
Termófilos	40	50 a 60	60 a 90

Fonte: Adaptado de FORSYTHE, 2002 e PELCZAR, 1996a

Em temperatura baixa, existe pouca disponibilidade de energia de ativação das reações químicas e bioquímicas, necessária à realização dos processos vitais. Já a temperaturas muito elevadas, pode ocorrer desnaturação e/ou inativação das proteínas, principalmente das enzimas responsáveis pelo metabolismo celular. Além disso, pode haver efeitos na estrutura celular, como alterações na membrana, alterando a permeabilidade da célula (LEHNINGER, 2004; RITTMAN & McCARTY, 2001; BROCK, 2000).

No Brasil a temperatura do líquido fica em torno de 20°C, temperatura para a qual são reportados a maioria dos parâmetros cinéticos para os processos bioquímicos e tratamento de águas residuárias (von SPERLING, 1996a).

3.3.3.3. *pH*

O pH ótimo, em geral, de crescimento e atividade celular localiza-se entre 6,5-7,5, sendo que a maioria dos microrganismos não tolera pH inferior a 4,0 ou superior a 9,0 (BROCK, 2000; CHEREMISINOFF, 1996; BITTON, 1994). O pH tem papel importante no crescimento e atividade microbiana, por afetar a atividade das enzimas microbianas e a ionização dos compostos químicos, e conseqüentemente altera o transporte de nutrientes e compostos tóxicos para o interior da célula. Portanto, os valores e a estabilidade do pH são de extrema importância para atividade microbiana (BITTON, 1994).

A estabilidade do pH (ou efeito tamponante) está diretamente relacionada ao equilíbrio iônico exercido pela presença de substâncias com caráter ácido ou básico. Os sistemas de ácidos fracos são os principais responsáveis pela estabilidade, destacando-se o sistema carbônico (CO_2 -, HCO_3 - e CO_3 =), além de outros como fosfato, amônia, sulfato e ácidos voláteis.

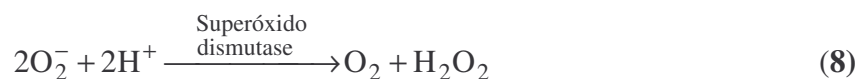
O tratamento biológico de águas residuárias ocorre, normalmente, em pH próximo a neutralidade, pH ótimo para o crescimento de maioria das bactérias. Valores baixos de pH favorecem o crescimento de *Geotrichum candidum*, causando no intumescimento do lodo (BITTON, 1994).

3.3.3.4. Nível de oxigênio

Os microrganismos podem ser divididos conforme a capacidade de crescer na presença ou ausência de oxigênio, sendo eles: aeróbios estritos (só crescem na presença de oxigênio); anaeróbios estritos (só crescem na ausência de oxigênio); facultativos (crescem tanto na presença como na ausência de oxigênio); e microaerófilos (crescem na presença de pequenas quantidades de oxigênio) (BROCK, 2000; PELCZAR et al., 1996a).

Microrganismos aeróbios e facultativos podem tornar um ambiente favorável ao crescimento anaeróbio, consumindo o oxigênio presente no meio (BROCK, 2000; PELCZAR et al., 1996a).

Após a redução, o oxigênio forma produtos tóxicos como o superóxido (O_2 -), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxil. Dessa forma, as diferenças entre os microrganismos em resistir à exposição ao oxigênio são refletidas pela presença ou ausência de duas enzimas: superóxido dismutase e catalase. A primeira é responsável pela inativação de O_2 - (Equação 8) e a segunda converte H_2O_2 em H_2O e O_2 (Equação 9), através das seguintes reações (BROCK, 2000; PELCZAR et al., 1996a; BITTON, 1994):



Microrganismos aeróbios estritos geralmente possuem as duas enzimas. Facultativos geralmente possuem superóxido dismutase, mas não catalase e anaeróbios estritos não possuem nenhuma das duas enzimas, de forma que o oxigênio passa a ser uma substância tóxica para esses microrganismos (BROCK, 2000; PELCZAR et al., 1996a).

3.3.3.5. Presença de substâncias tóxicas

Os microrganismos podem ser inibidos por uma série de compostos considerados tóxicos. O excesso de alguns nutrientes podem ter efeito inibitório na atividade microbiana, como por exemplo, a amônia e alguns íons metálicos (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2}).

O sulfeto é produzido anaerobicamente através da redução de sulfato presente no meio, pelas bactérias redutoras de sulfato. Além do efeito inibitório do sulfeto, pode ocorrer uma competição entre as bactérias redutoras de sulfato e outros microrganismos (CHERNICHARO, 1997).

Metais pesados também são substâncias que causam efeito inibitório sobre os microrganismos. Porém, de forma interessante, se sulfeto e metais pesados estiverem presentes no meio eles se combinam formando precipitados insolúveis que não possuem efeito tóxico (CHERNICHARO, 1997).

Alguns compostos orgânicos são inibitórios ao crescimento microbiano, embora as concentrações inibitórias sejam bastante variadas. Alguns exemplos de compostos desse tipo são os organoclorados, os fenólicos e os aromáticos (PELCZAR et al., 1996a).

Despejos de indústrias farmacêuticas geralmente não possuem grande quantidade de matéria orgânica, porém apresentam grandes quantidades de compostos ativos como antibióticos (BRAILE & CAVALCANTI, 1993). KAMEYAMA, et al.(2006), verificaram que antibióticos utilizados na criação de suínos e excretados ativos pode interferir na remoção de DQO em tratamentos anaeróbios.

3.3.4. Sistemas de lodos ativados

O processo de lodos ativados foi proposto em 1914 por E. Andern e W.T. Lockett, quando estes observaram a formação de partículas floculentas em suspensão durante a aeração de esgoto e quando estas partículas eram retidas no sistema o tempo de diminuição da concentração de materiais orgânicos reduzia-se de dias para horas (RITTMAN & McCARTY, 2001).

Assim tem-se que o sistema consiste na retenção de biomassa a fim de manter uma concentração ideal de lodo ativo dentro do reator. Essa concentração é mantida pela recirculação de parte do lodo decantado e descarte do excedente produzido (RITTMAN & McCARTY, 2001; CHEREMISINOFF, 1996; RAMALHO, 1983). A boa eficiência do processo de decantação se baseia no fato dos microrganismos do sistema de lodos ativados formarem flocos, através de sua aglomeração em torno de uma matriz gelatinosa e de bactérias filamentosas (RITTMAN & McCARTY, 2001; BITTON, 1994). Este processo é conhecido como crescimento disperso (CHEREMISINOFF, 1996; von SPERLING, 1996c).

Há ainda a possibilidade de um sistema de imobilização dos microrganismo, chamado de crescimento aderido. Neste os microrganismos crescem aderidos a um material suporte, formando um biofilme. O meio suporte pode ser brita ou outros polímeros constituindo os filtros biológicos, em discos formando os biodiscos ou, ainda, cilindros como é o caso dos contactores biológicos rotativos (Figura 2) (RITTMAN & McCARTY, 2001; CHEREMISINOFF, 1996; von SPERLING, 1996c; BITTON, 1994, RAMALHO, 1983).

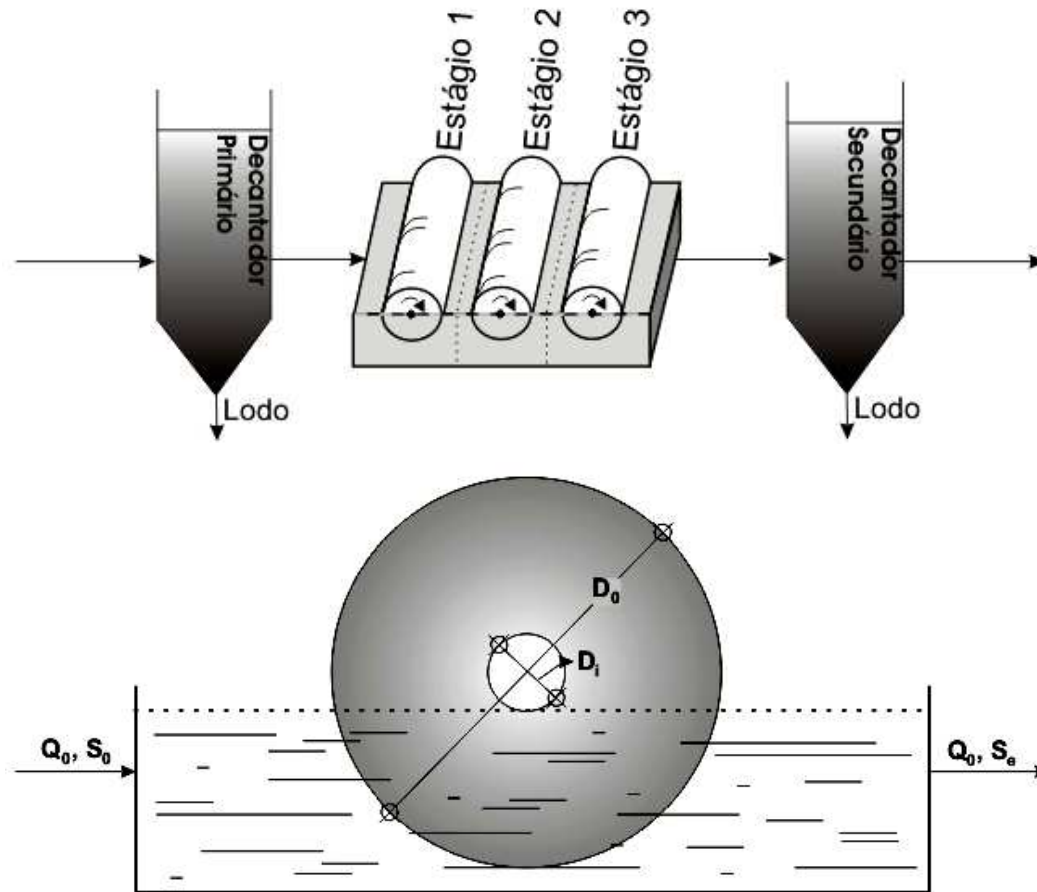


Figura 2 - Esquema dos contactores biológicos rotativos

3.3.4.1. Lodos ativados em sistema de batelada

A operação do sistema de lodo ativado em batelada apresenta as etapas de alimentação, reação, decantação, descarte e repouso em um único tanque simples. Os ciclos de operação transformam o processo em uma sequência ao longo do tempo e não mais ao longo do fluxo como ocorre em sistemas contínuos (von SPERLING, 1997).

O regime de batelada ocorre em ciclos com períodos de durações definidas, conforme as características da água residuária e biomassa e vazão de entrada. Neste sistema a biomassa não deixa o reator em nenhuma etapa, apenas é retirado o excesso de biomassa produzida quando necessário. Os ciclos, demonstrados na Figura 3 são (von SPERLING, 1997):

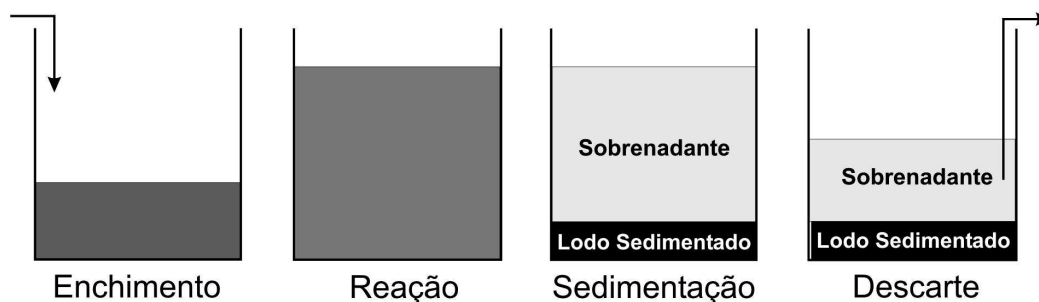


Figura 3 - Representação dos ciclos de operação de lodos ativados em sistema de batelada.

(Fonte: Adaptado de von SPERLING, 1997)

- ❖ **Enchimento:** alimentação do reator com a água residuária;
- ❖ **Reação:** a aeração é ligada agitando o meio e suspensão do lodo, promovendo a mistura completa do meio. Microrganismos presentes nos flocos entram em contato com a água residuária e oxigênio consumindo a matéria orgânica da água;
- ❖ **Sedimentação:** a aeração é desligada e assim não ocorre agitação do meio, o que causa a sedimentação dos flocos em suspensão e a clarificação da água sobrenadante que constitui a água residuária tratada;
- ❖ **Descarte:** nesta etapa a água residuária tratada (sobrenadante) é retirada do reator, com o sistema em repouso;
- ❖ **Repouso:** trata-se de um período que permite ajustes entre os ciclos, como a retirada do excesso de lodo produzido, sendo normalmente empregadas na ETEs com vários tanques.

3.3.4.2. Microbiologia dos lodos ativados

A microbiota presente nos sistema de lodo ativado é bem variada. Encontramos bactérias, protozoários, crustáceos, nematóides, rotíferos, fungos e arqueas metanogênicas. As bactérias são as principais responsáveis pelo consumo de diversos compostos orgânicos, sendo que a oxidação de alguns compostos inorgânicos ocorre pela ação de bactérias quimiolitotróficas. Mudanças na quantidade de espécies de microrganismos podem provocar alterações nas características dos flocos e conseqüentemente alterações na clarificação do efluente tratado (RITTMAN & McCARTY, 2001; BITTON, 1994).

Esta microbiota é encontrada também nos rios no processo de autodepuração, a diferença é que nos sistemas de tratamento por lodos ativados é dada a condição ideal para o desenvolvimento desses microrganismos e assim fazer com que o processo de degradação da matéria orgânica ocorra na maior velocidade possível.

No processo de autodepuração, a zona a jusante do ponto de lançamento do poluente biodegradável ocorre uma diminuição na concentração inicial de oxigênio dissolvido, sedimentação de parte do material sólido e aspecto indesejável, assim como elevada concentração de bactérias e fungos. Logo a seguir encontra-se a zona de decomposição ativa, onde a concentração de oxigênio dissolvido atinge valores mínimos, o que provoca a redução de bactérias aeróbias e até a ausência de seres aeróbios e o desenvolvimento de bactérias aeróbias. Na zona de recuperação ocorre aumento na concentração de oxigênio dissolvido, pelo predomínio dos mecanismos de aeração sobre os mecanismos de desoxigenação; há redução contínua na quantidade de bactérias e aumento na quantidade de peixes e outros organismos aeróbios. Existe uma tendência para a proliferação de algas devido à disponibilidade de nutrientes, resultantes da decomposição da matéria orgânica. Por final na zona de águas limpas, a água volta a apresentar condições satisfatórias em relação às concentrações de oxigênio dissolvido e em relação à presença de organismos aeróbios (von SPERLING, 1996b; RAMALHO, 1983).

Os consumidores primários são as bactérias heterotróficas que decompõem a matéria complexa em produtos simples, os quais são substratos para outros microrganismos. Desse conjunto de microrganismos decompositores surge uma microfauna de consumidores primários, os protozoários, que apresentam processos de predação entre si (RITTMAN & McCARTY, 2001, VALZOLLER et al., 1889).

Essa fauna, suas características e abundância, pode, em um exame microscópico, indicar as condições de funcionamento do tratamento. Uma análise rotineira dos microrganismos presentes pode ser utilizada como verificação de desempenho de sistemas de lodo ativado. Um exemplo desse exame é a quantidade de bactérias filamentosas em relação às não filamentosas, que demonstram a qualidade de sedimentação do lodo, evitando problemas de intumescimento (VALZOLLER et al., 1989). A Tabela 3 mostra alguns microrganismos indicativos da qualidade do tratamento por meio de lodo ativado.

Tabela 3 - Microrganismos indicadores das condições de operação do tratamento de águas residuárias por lodos ativados.

Microrganismos	Características do processo
Predominância de flagelados e rizópodes	Lodo jovem, característico de início de operação ou idade do lodo baixa
Predominância de flagelados	Deficiência de aeração, má depuração e sobrecarga orgânica
Predominância de ciliados pedunculados e livres	Boas condições de depuração
Presença de <i>Arcella</i> (rizópode com teça)	Boa depuração
Presença de <i>Aspidisca</i> constata (ciliado livre)	Nitrificação
Presença de <i>Trachelophyllum</i> (ciliado livre)	Idade do lodo alta
Presença de <i>Vorticella microstoma</i> (ciliado penduculado) e baixa concentração de ciliados livres	Efluente de má qualidade
Predominância de anelídeos do gênero <i>Aelosoma</i>	Excesso de oxigênio dissolvido
Predominância de filamentos	Intumescimento do lodo (<i>bulking</i>)

Fonte: VAZOLLER et al., 1989.

Bactérias

No processo de lodos ativados as bactérias são as principais responsáveis pelo consumo do material orgânico presente nas águas residuárias (RITTMAN & McCARTY, 2001; von SPERLING, 1996c; BITTON, 1994; VAZOLLER et al., 1989). Também são os microrganismos responsáveis pela formação do floco e, assim, estão presentes em maior número (BITON, 1994).

Os gêneros mais encontrados nos flocos são *Zooglea*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Achromobacter*, *Corynebacterium*, *Comomonas*, *Brevibacterium*, *Acinetobacter*. Dentre as bactérias filamentosas responsáveis, quando em número excessivo, pelo intumescimento do lodo (ou “bulking”) temos os gêneros *Sphaerotilus*, *Beggiotoa* e *Vitreoscilla* (RITTMAN & McCARTY, 2001; BITTON, 1994; BERK & GUNDERSON, 1993; VAZOLLER et al., 1989).

Além das bactérias heterotróficas que perfazem um número de 10^8 UFC/mL; encontramos bactérias autotróficas nitrificantes, como *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, e fototróficas, como *Rhodospirillaceae* (BITTON, 1994; BERK & GUNDERSON, 1993).

As principais reações atribuídas aos diversos gêneros presentes no lodo ativado estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Gêneros presentes nos lodos ativados e reações pelas quais são responsáveis.

Gênero	Reação
<i>Pseudomonas</i>	Remoção de substrato, produção de muco, desnitrificação
<i>Zoogloea</i>	Produção de muco, formação de floco
<i>Bacillus</i>	Degradação de proteínas
<i>Arthrobacter</i>	Degradação de carboidratos
<i>Microthrix</i>	Degradação de gordura, crescimento filamentoso
<i>Nocardia</i>	Crescimento filamentoso, formação de espuma
<i>Acinetocater</i>	Remoção de fósforo
<i>Nitrosomonas</i>	Nitrificação
<i>Nitrobacter</i>	Nitrificação
<i>Achromobacter</i>	Desnitrificação

Fonte: HORAN, 1989.

Fungos

O ambiente do lodo ativado não é favorável para o crescimento de fungos, porém eles podem estar presentes em determinadas condições de baixo pH, toxicidade e deficiência de nitrogênio. Sua presença em excesso intensifica o processo de intumescimento do lodo (BITTON, 1994; VAZOLLER et al., 1989).

Os fungos estão presentes nos flocos sob filamentos longos com ramificação de larguras entre 5 e 10 μm e comprimento de 100 a 1.000 μm . Morfologicamente apresentam ausência de bainha e motilidade (TORRES, 2005).

Os principais gêneros presentes são *Geotrichum*, *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Cladosporium* e *Alternaria* (BITON, 1994).

Protozoários

Os protozoários são os principais predadores das bactérias no processo de depuração de águas residuárias, auxiliando desta forma no processo de clarificação do efluente tratado, além do consumo de material particulado suspenso (BITTON, 1994; BERK & GUNDERSON, 1993; METCALF & EDDY, 1991). Há ainda algumas espécies de protozoários que se alimentam de outros protozoários e algas (HORAN, 1989).

Eles podem indicar a presença de compostos tóxicos, por exemplo, a *Aspidisca costata* encontra-se em menor número na presença de cádmio (BITTON, 1994).

Três classes principais são encontradas nos lodos ativados, Ciliata (ciliados), Mastiphora (flagelados) e Sarcodina (amebas), embora a classe dos ciliados esteja em maior número, já que ameba e flagelados necessitam de condições mais favoráveis ao seu desenvolvimento (BITTON, 1994; BERK & GUNDERSON, 1993; VAZOLLER et al., 1989).

Ciliados – estes microrganismos apresentam cílios em sua superfície que são utilizados para locomoção e captura de alimento e carregamento até uma pseudoboca. São divididos em livres, rastejantes e fixos (pedunculados). A sua predominância demonstra boas condições de depuração, operação estável e formação de flocos com boas características de sedimentação (BITTON, 1994; VAZOLLER et al., 1989).

Flagelados – utilizam um ou mais flagelos para sua locomoção. Utilizam uma pseudoboca ou absorvem o alimento por sua parede celular, alimentando-se assim de matéria orgânica particulada ou solúvel (BITTON, 1994).

Sarcodinas – possuem a capacidade de locomoção, mesmo lenta, através de pseudópodes. Estes “falsos pés” são prolongamentos protoplasmáticos. São divididos em amebas (*Amoeba proteus*) e tecamebas (*Arcella*). A maioria das amebas alimenta-se de bactérias, ciliados e flagelados, através do processo de fagocitose (BITTON, 1994; HORAN, 1989).

A dominância de alguns protozoários em sistema de lodos ativados são indicativos do desempenho do processo de tratamento. Os grupos dominantes e as possíveis causas são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Desempenho do sistema de lodos ativados e relação com o grupo predominante de protozoários.

Grupo dominante	Desempenho	Possíveis Causas
Pequenos flagelados	Fraco	Deficiência de aeração, choques devido à sobrecarga e presença de subprodutos de fermentação
Pequenos ciliados livres	Médio	Deficiência de aeração, baixo tempo de detenção hidráulico
Grandes ciliados livres	Médio	Choques devido à sobrecarga e deficiência de aeração
Ciliados predadores de flocos	Bom	-
Ciliados pedunculados e livres predadores de flocos	Bom	-
Ciliados pedunculados	Decaindo	Alimentação irregular e perda de lodo recente
Pequenas amebas	Muito Fraco	Alta carga de compostos de difícil degradação
Arcella	Bom	-

Fonte: MANDONI, 1994.

Metazoários

Metazoários, como rotíferos, nematóides e anelídeos, são microrganismos multicelulares. Estes organismos heterotróficos e estritamente aeróbios alimentam-se de matéria orgânica particulada, bactérias mortas, protozoários e fragmentos de flocos (BITTON, 1994; HORAN, 1989).

Os rotíferos, como *Lecane*, *Notommata*, *Philodina* e *Habrotrocha*, são os principais metazoários presentes, seu tamanho varia entre 100 e 500 µm. Além de contribuir para a remoção de DQO, também auxilia na formação do floco pela produção de muco de origem fecal (BITTON, 1994; BERK & GUNDERSON, 1993).

A presença dos rotíferos indica alto grau de depuração, entre 90 e 95%, uma vez que desempenha papel no topo da cadeia trófica dos lodos ativados, consumindo bactérias dispersas ou aderidas aos flocos (METCALF & EDDY, 1991; RAMALHO, 1983).

Os metazoários também são indicadores de alta idade de lodo.

3.4. FOLATOS

Ácido fólico (ácido pterilglutâmico) é uma vitamina hidrossolúvel do complexo B (B9) (CHAVES et al., 2002); ele é formado pela ligação entre pteridina, ácido para-aminobenzóico e ácido glutâmico (Figura 4). Não ocorre dessa forma na natureza, sendo considerado como o composto original de um grupo de folatos (RANG et al., 2001; BARRETT et al., 1999; EITENMILLER & LANDEN Jr, 1999; BRODY, 1993). Sua forma sintética apresenta mais estabilidade sendo, assim, utilizada na fortificação de alimentos e formulação de medicamentos (EITENMILLER & LANDEN Jr, 1999).

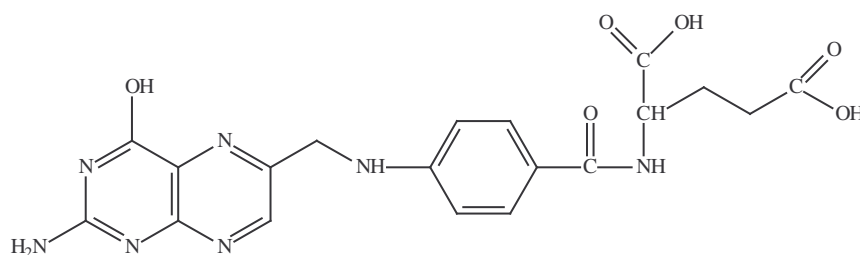


Figura 4 - Estrutura molecular do ácido fólico (ácido pterilglutâmico).

Folatos são sais de ácidos fólicos, sendo importantes para as células por sua participação na biossíntese de nucleotídeos e atuação como cofator em muitas outras reações metabólicas (BROCK, 2000; BARRETT et al., 1999; EITENMILLER & LANDEN Jr, 1999). Estes diferem do ácido fólico, pois podem possuir diferentes estados de oxidação do anel pteridina; unidades de um carbono podem se ligar ao N⁵ e/ou N¹⁰ e formação de poliglutamatos de folato pela ligação de radicais adicionais de ácido glutâmico, que podem variar de 1 a 10, pelas ligações γ -peptídicas (LEHNINGER, 2004; RANG et al., 2001; BARRETT et al., 1999).

O ácido fólico é encontrado como cristais amarelos, possuindo massa molecular de 441,4. Apesar de hidrossolúvel, é mais solúvel em soluções alcalinas, e pouco solúvel em soluções ácidas. Possui, ainda, sensibilidade a oxidação por oxigênio, luz e pH extremos (BARRETT et al., 1999).

Os principais fatores destrutivos em soluções de ácido fólico são a luz, calor e pH. Se protegidas da luz e temperaturas soluções de ácido fólico apresentam maior estabilidade (JOHN & NEWMAN, 1985). Para melhora da estabilidade dessa solução vitamínica o melhor pH está entre 6 e 7, apresentando estabilidade ótima em pH 7,6 (AKHTAR et al., 1999).

3.4.1. Funções bioquímicas

O ácido fólico possui papel importante na biossíntese de bases nitrogenadas timina e purina, constituintes da fita de DNA e RNA, e Metionina e N-formil metionina importante para síntese protéica. Isso por atuarem como cofatores em reações chamadas de metabolismo de 1-carbono ou metilação (LEHNINGER, 2004; MYLLYKALLIO et al., 2003; BRODY, 1993).

Os folatos estão presentes nos alimentos na forma de poliglutamatos, que são hidrolisados por uma enzima presente na membrana celular chamada de γ -glutamil hidrolase, convertendo-os à forma de monoglutamatos, os quais são absorvidos pela célula (BRODY, 1993).

Durante o processo de absorção o ácido fólico é reduzido à diidrofolato (FH_2) pela ação da enzima fólico-redutase, esse por sua vez é reduzido à tetraidrofolato (FH_4) pela ação da diidrofólico-redutase, que é a forma ativa desta coenzima, e capaz de doar o grupamento metil durante a sua redução a FH_2 (LEHNINGER, 2004; MYLLYKALLIO et al., 2003; EITENMILLER & LANDEN Jr, 1999; BRODY, 1993; CONN & STUMPF, 1977).

No interior das células são convertidos novamente a forma de poliglutamatos, a fim de reter a vitamina no interior das mesmas. O processo de polimerização é catalisado pela enzima folipoliglutamatos sintetase (BRODY, 1993).

Um diagrama simples é apresentado na Figura 5, o qual demonstra as três formas do cofator: tetraidrofolato, 5,10-metileno-tetraidrofolato e 5-metil-tetraidrofolato. Este diagrama mostra o processo de conversão da methionina à S-adenosilmetionina (SAM), a qual é um doador universal de metil ($-\text{CH}_3$) e requerida na maioria das reações de metilação. Após a doação do grupo metil, SAM é convertida à S-adenosilhomocisteína (SAH) e posteriormente à homocisteína. A homocisteína é metilada, convertendo-se a metionina (LEHNINGER, 2004; BRODY, 1993).

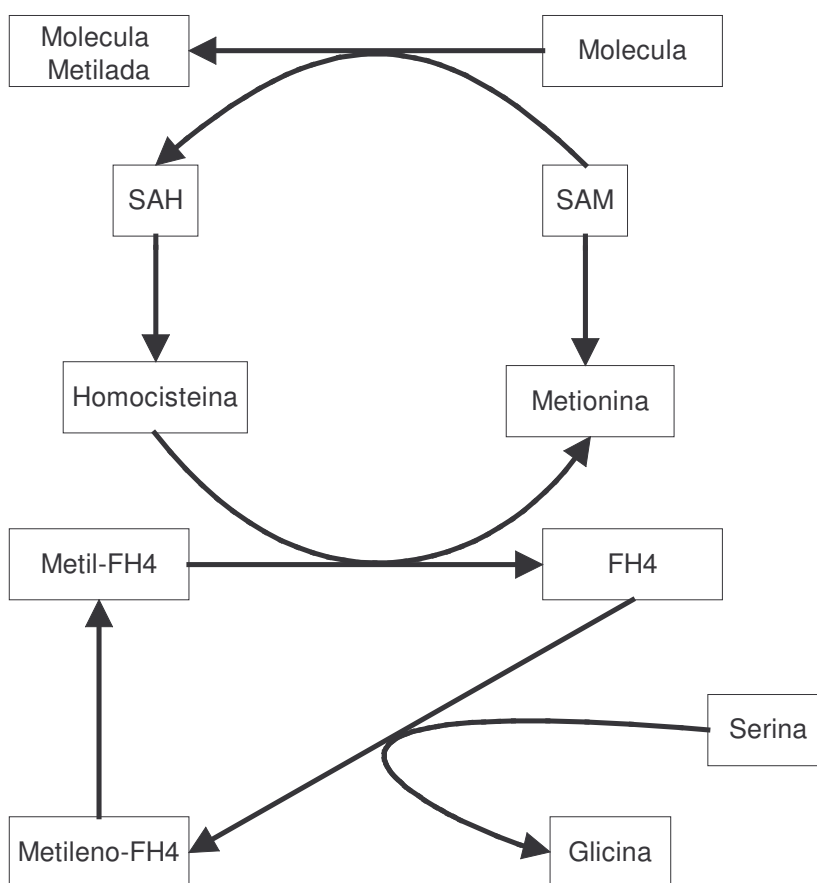


Figura 5 - Ciclo de metilação e a relação com o metabolismo de folatos.
(Fonte: BRODY, 1993)

Existem alguns antimicrobianos (Figura 6) que inibem a síntese do ácido fólico ou sua ação de transferência do grupamento metil (LEHNINGER, 2004; MYLLYKALLIO et al., 2003; RANG et al., 2001).

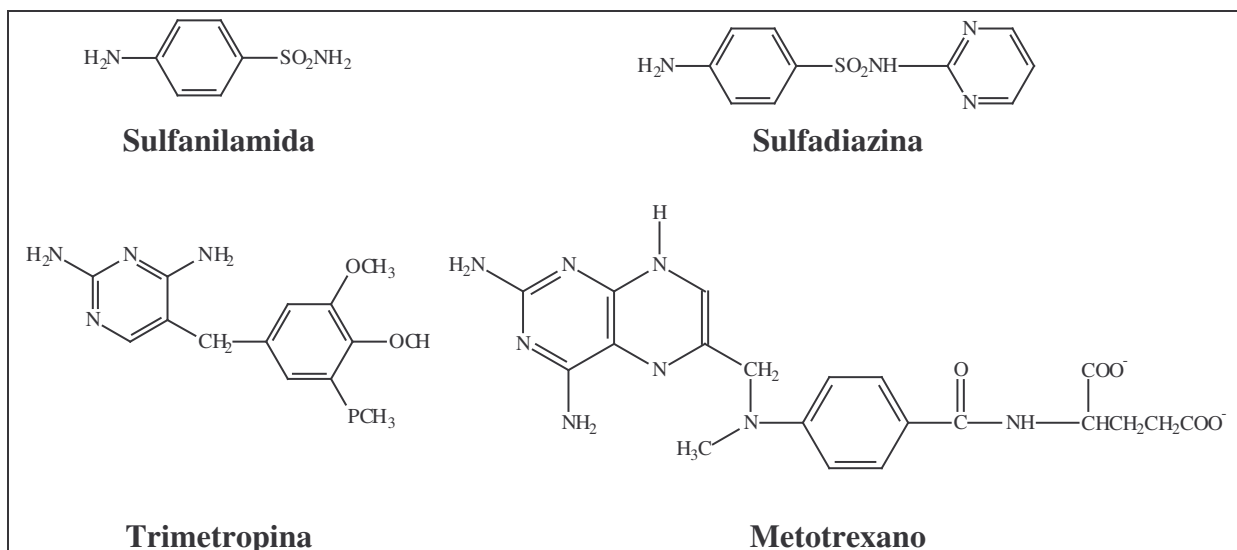


Figura 6 - Estruturas moleculares dos antimicrobianos inibidores da síntese e ação do ácido fólico.

As sulfonamidas têm semelhança estrutural com o ácido p-aminobenzóico (PABA), essencial para síntese de ácido fólico, assim elas apresentam inibição competitiva pela enzima diidropteroato sintetase. A adição de PABA em excesso reduz o seu efeito bacteriostático, assim como a presença de purinas e timidina, resultante da morte e destruição celular, que contornam a deficiência de ácido fólico (RANG et al., 2001).

As estruturas da trimetoprina e metotrexano apresentam semelhança com a pteridina, apresentando ação inibitória da diidrofolato redutase, assim interferindo na transferência do grupamento metil (LEHNINGER, 2004; MYLLYKALLIO et al., 2003; RANG et al., 2001).

Por atuarem em diferentes etapas da síntese e atuação do ácido fólico, as sulfonamidas, a trimetoprina e metotrexano, são muitas vezes administradas em conjunto (RANG et al., 2001).

3.4.2. Síntese de ácido fólico pelos microrganismos

Em leite encontra-se de 20 a 50 μg de folatos/L de leite, enquanto em produtos lácteos fermentados podem ser encontrados quantidades superiores a 142 μg de folatos/L de produto. Esse acréscimo da concentração de folatos se deve a síntese e excreção destes compostos por algumas bactérias utilizadas na fermentação de leite, como *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* (BARRETT et al., 1999; OSUNA-CASTRO & PAREDES-LÓPEZ, 2003).

Alguns microrganismos são capazes de sintetizar folatos, como bactérias intestinais. Desta forma processos fermentativos podem aumentar a concentração de folatos no meio, em especial produtos lácteos fermentados representam grande fonte de folatos (RENNER, 1983 citado por LIN & YOUNG, 2000). Bactérias lácticas ou probióticas possuem boa capacidade de sintetizar essa vitamina, entre elas estão os *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium* e *Leuconostoc mesenteroids* (GRITTENDEN et al., 2003; JÄGERSTAD et al., 2003).

A capacidade de síntese de folatos varia entre os microrganismo, segundo GRITTENDEN et al. (2003) o *Streptococcus thermophilus* pode aumentar em até 4 vezes a concentração de folatos (de 11,5 para cerca de 46 ng.g⁻¹), enquanto para LIN & YOUNG (2000) o *Bifidobacterium longum* foi o responsável pela mesma proporção de aumento na concentração de folatos. A combinação em culturas mistas, por exemplo, a combinação de *B. lactis*, *L. acidophilus* e *S. thermophilus* podem aumentar a concentração de folatos em até 6 vezes mais que as culturas tradicionais com *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (GRITTENDEN et al., 2003).

3.4.3. Ácido fólico em tratamentos de águas residuárias

Muitas unidades de tratamento de águas residuárias apresentam deficiência de nutrientes, em especial unidades de tratamento de águas residuárias industriais (BURGESS et al., 1999). Dentre esses nutrientes encontram-se micronutrientes essenciais ao crescimento de microrganismos responsáveis pela digestão, como timina, biotina e ácido nicotínico (LEMMER et al., 1998; LEMMER & NITSCHKE, 1994).

Segundo ANDERL (1987) 65% das estações de tratamento de esgotos nos Estados Unidos apresentam deficiência de vitaminas, dentre as quais a maior deficiência encontrada foi a de ácido fólico. LEMMER et al. (1998) encontraram concentrações de 10-13 mg.Kg⁻¹ de ácido fólico em lodo de origem municipal e 2 mg.Kg⁻¹ em lodo industrial. Sua adição é importante, tendo em vista que esta não pode ser substituída por outra vitamina ou substância (LEMMER et al., 1998).

O ácido fólico age como micronutriente em certas bactérias e estimula o crescimento de microrganismos por sua ação vitamínica. Uma vez adicionado à água residuária o ácido fólico interrompe a necessidade do microrganismo de sintetizar esta vitamina, inibindo algumas rotas metabólicas e acelerando outras, de forma que pode aumentar a capacidade de consumo de outros nutrientes (SHANE & STOCKSTAD, 1975).

Aplicado nas ETEs, o ácido fólico tem aumentado a eficiência do tratamento, controle do aumento de lodo gerado, redução de sólidos suspensos, controle do intumescimento filamentosos.

SENORER & BARLAS (2004) também observaram que a aplicação de ácido fólico no tratamento de esgoto doméstico proporcionou menor amplitude na variação de DQO na saída do tratamento, sendo essa amplitude ainda menor quando a aplicação era contínua.

Uma vez que a vitamina é essencial para o crescimento e metabolismo de todas as células, o ácido fólico aumenta a diversidade de organismos em reator biológico. Ainda aumentada a diversidade da população e atividade dos microrganismos, conduzindo à uma melhora na sedimentação e conseqüentemente, uma água tratada melhor clarificada (OSTRANDER, 1992).

AKERBOOM et al. (1994), também observaram melhora na sedimentação e clarificação, redução da amplitude de DQO na saída do tratamento, controle do crescimento de bactérias filamentosas e redução da quantidade de lodo gerado.

O aumento do metabolismo celular provoca conseqüentemente aumento no consumo de oxigênio. TORRES (2005) observou maior consumo de oxigênio para uma concentração de 4,0 mg/L de ácido fólico, quando comparado ao controle e menores concentrações da mesma vitamina. Foi observado, ainda, diferença da composição e diversidade da microfauna entre as concentrações estudadas, bem como melhora na sedimentação pela adição de ácido fólico, pela alteração de forma, tamanho e estrutura dos flocos. Porém não foi observado melhora da eficiência do tratamento e produção de lodo excedente.

Na avaliação do ácido fólico sob a forma de produto comercial Dosfolat XS, verificou-se em sistemas contínuos e operação em alta taxa a redução em 7% na produção de lodo excedente, enquanto sob aeração prolongada provocou uma redução de 17%. Verificou-se também a menor redução na remoção de fósforo e aumento no consumo de oxigênio. No estudo não foram confirmados os dados do fabricante do Dosfolat XS sobre melhora na eficiência de remoção de DQO e controle do intumescimento (BERTACCHI, 2005).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. ÁGUA RESIDUÁRIA

Em substituição a água residuária foi utilizado meio sintético formulada em laboratório como meio nutriente para o experimento e que apresentava DQO de 10.000 mg/L. A Tabela 6 mostra os constituintes do meio utilizado.

Tabela 6 - Composição do meio a ser utilizado como água residuária.

Constituinte	Concentração (g.L ⁻¹)
Lactose	10,0
Caseína hidrolisada	2,5
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	2,0
K ₂ HPO ₄	1,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,0
Uréia	0,5
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,25
CaCl ₂	0,025
MnSO ₄ .7H ₂ O	0,025
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,05
ZnSO ₄	0,001

4.2. LODO ATIVADO

O lodo aeróbio foi obtido de uma planta industrial de tratamento de efluente de abatedouro de aves e transportado sob refrigeração. Posteriormente a biomassa foi aclimatada em frascos Erlenmeyers de 6.000 mL com aeração utilizando pedras de aquário e compressores de ar. Alimentou-se diariamente com água residuária do próprio abatedouro de frangos e meio sintético, seguindo as diluições 1:30, 1:20, 1:10, 1:7 e 1:5, correspondendo respectivamente às fases 1, 2, 3, 4 e 5, conforme a Tabela 7.

Tabela 7 - Variação da composição do substrato utilizado na adaptação do lodo.

Fase (dia)	Água residuária (%)	Meio sintético (%)
1	80	20
2	60	40
3	40	60
4	20	80
5	0	100

O lodo após a adaptação foi mantido nos mesmos frascos Erlenmeyers de 6.000 mL, utilizando o meio sintético anteriormente citado em sistema de batelada alimentada, através de um sistema que utiliza um temporizador ligado a uma bomba peristáltica que adicionava uma alíquota 150mL de meio. O meio era mantido em banho a 5°C e o lodo a temperatura ambiente.

A cada 15 dias, 3 mL de uma solução de micronutrientes (diluição 1:20.000) com composição apresentada na Tabela 8, era adicionada ao lodo.

Tabela 8 - Composição da solução de micronutrientes utilizada para melhorar as condições do lodo.

Constituinte	Concentração (g.L ⁻¹)
CoSO ₄ .7H ₂ O	5,60
CuSO ₄ .5H ₂ O	5,00

4.3. OPERAÇÃO DOS BIOREATORES

O experimento foi conduzido em sistema de batelada utilizando frascos erlenmeyers de 900 mL como reatores e volume de trabalho de 600 mL, os quais foram mantidos a temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ em de banho-maria. Fez-se a aeração por meio de bombas de aquário, com vazão de ar controlada por rotômetros em 0,5L/min, e pedras porosas de aquário para obter microbolhas. O sistema foi colocado inclinado no banho, conforme o esquema da Figura 7, para que houvesse melhor mistura do conteúdo.

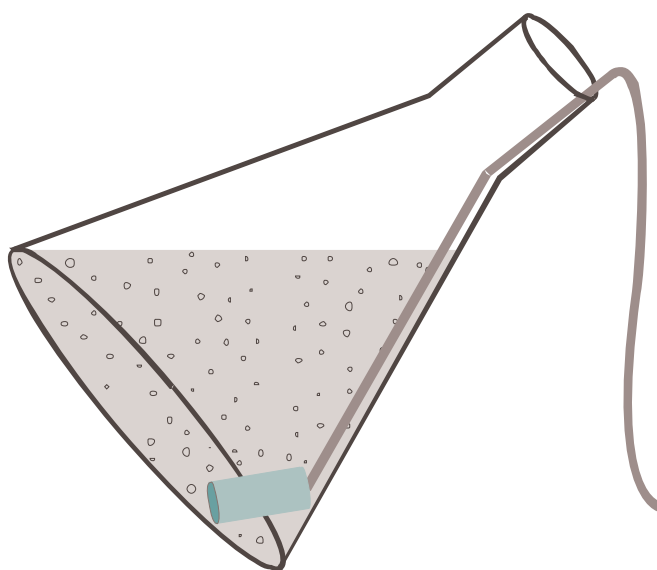


Figura 7 - Figura esquemática do biorreator a ser utilizado.

Duas situações fisiológicas do lodo foram estudadas, a do lodo em situação normal e em respiração endógena. Nesses dois casos foram utilizadas as concentrações de ácido fólico de 0,5; 2,0; 4,0 e 8,0 mg/L e um controle no qual não continha ácido fólico. Os testes foram realizados com no mínimo de 3 repetições a fim de confirmar os resultados.

O lodo em condições normais foi obtido do lodo mantido aerado e alimentado. Já para se obter o lodo sob respiração endógena foi separado um volume desse lodo e deixado sem receber alimentação por um período de 48 horas, recebendo somente oxigênio por meio da aeração.

O lodo nas condições fisiológicas de estudo foi decantado por 30 minutos, o sobrenadante retirado e o decantado centrifugado a 3.500 rpm à temperatura ambiente, ressuspenso em água e novamente centrifugado e por fim ressuspenso no efluente sintético. Foi utilizado 200 mL de lodo centrifugado e ressuspenso, adicionado um volume de 10 mL de ácido fólico da solução estoque, em concentração suficiente para obter a concentração final desejada, e completado com a água residuária perfazendo os 600 mL de trabalho.

Amostras foram coletadas no tempo zero e a cada 2 horas nas primeiras 12 horas e posteriormente a cada 4 horas, sendo que entre 23 e 24 horas de operação houve a realimentação do sistema, passando por um processo de sedimentação e substituição do sobrenadante por água residuária e nova dose de ácido fólico.

As amostras coletadas foram analisadas quanto ao pH e visualização ao microscópio ótico e posteriormente centrifugadas a 3.500 rpm e o sobrenadante congelado para as demais análises. Alíquotas de 50mL foram tiradas em períodos de 6 horas para análise de sólidos, sendo que estas não foram centrifugadas e sim diretamente congeladas.

4.4. METODOLOGIA ANALÍTICA

4.4.1. Potencial Hidrogeniônico (pH)

O pH foi determinado pelo uso de pHmêtro, mergulhando o eletrodo diretamente na amostra sem diluição ou processo de separação do meio e lodo, e com a amostra homogeneizada antes da leitura..

4.4.2. Visualização ao microscópio ótico

Uma alíquota de 20µL da amostra, não centrifugada, de cada tratamento foi colocada sobre uma lâmina de vidro e coberta com lamínula de vidro (lâmina a fresco) e observado ao microscópio ótico sob as objetivas de 4x, 10x e 60x, sendo as características morfológicas do lodo foram anotadas.

4.4.3. Demanda Química de Oxigênio

Em tubos de ensaio com tampas rosqueadas, são adicionados 2,5 mL de amostra representativa, 1,5 mL de solução de dicromato de potássio e sulfato de mercúrio em meio ácido e 3,5 mL de solução ácida de sulfato de prata. Para os valores de DQO maiores que 1.000 mg O₂.L⁻¹, a amostra foi diluída vinte e cinco vezes. Para estabelecer o branco a amostra foi substituída por água destilada utilizada na diluição. Os tubos de reação foram então colocadas em digestor por duas horas a 150°C. Após esse tempo, os tubos foram removidos e resfriados, ao abrigo da luz, e realizado a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 610 nm.

Os valores de DQO foram calculados a partir da equação da reta gerada pela solução padrão de biftalato ácido de potássio, cuja DQO teórica é de 1,176 mg de O₂/mg do sal.

4.4.4. Sólidos Totais

Alíquotas de 25 mL da amostra foram colocadas em cadinhos de porcelana previamente secos e tarados (P_1) e, em seguida, colocados em estufa (105°C) para secagem completa até peso constante (P_2) (APHA, 1995). O teor de sólidos totais foi obtido pela Equação 8:

$$ST(g \cdot L^{-1}) = \frac{(P_2 - P_1)}{V_a} \times 1000 \quad (8)$$

onde:

P_1 = peso do cadinho, em g;

P_2 = peso do cadinho mais o resíduo seco a 105°C, em g; e

V_a = volume da amostra, em mL.

4.4.5. Sólidos Totais Fixos

O cadinho com o resíduo seco a 105°C, obtido no item anterior, foi levado à mufla a 600°C ($\pm 50^\circ\text{C}$) até peso constante (P_3) (APHA, 1995). O teor de sólidos totais fixos (STF) foi obtido pela Equação 9:

$$\text{STF}(\text{g} \cdot \text{L}^{-1}) = \frac{(P_3 - P_1)}{V_a} \times 1000 \quad (9)$$

onde:

P_3 = peso do cadinho mais o resíduo seco a 600°C, em g.

4.4.6. Sólidos Totais Voláteis

O teor de sólidos voláteis (STV) pôde ser obtido pela diferença entre o peso do cadinho mais os resíduos secos a 105°C e o peso do cadinho mais os sólidos calcinados a 600°C, segundo a Equação 10 (APHA, 1995):

$$\text{STV}(\text{g} \cdot \text{L}^{-1}) = \frac{(P_2 - P_3)}{V_a} \times 1000 \quad (10)$$

4.4.7. Índice Volumétrico

O IVL é determinado pela relação entre o volume em mililitros ocupado por 1g (peso seco) de lodo após 30 minutos de sedimentação em proveta de 1.000 mL.

Assim inicialmente determinou-se o volume ocupado pelo lodo na proveta de 1.000mL em um período de 30 minutos, conforme a Figura 8. Neste experimento foi feito uma adaptação deste método, em função do volume total de trabalho. Assim as medidas de volume de lodo foram determinadas em provetas de 250 mL e multiplicadas pelo fator 4 para determinar o volume ocupado em 1.000 mL.

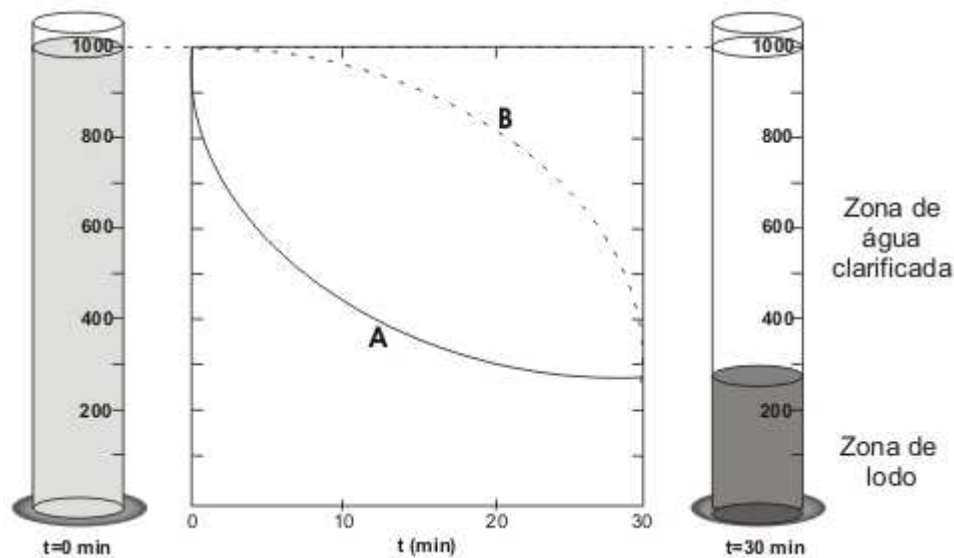


Figura 8 - Figura esquemática da determinação do volume ocupado pelo lodo, durante a determinação do IVL.

Após a determinação do volume de lodo, já corrigido para 1.000 mL, e de posse dos resultados de STV, calculou-se o valor de IVL pela Equação 11.

$$IVL \left(\frac{\text{mL}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{Volume de lodo ocupado pelo lodo}}{\text{STV}} \quad \text{Equação 11}$$

Os volumes de lodo foram medidos sempre a cada etapa, ou seja, com 23 e 48 horas de acompanhamento, sendo o volume inicial de lodo sempre foi fixo, como descrito anteriormente.

4.5. CÁLCULOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

A partir dos resultados de DQO foram calculadas as velocidades de remoção de DQO pela técnica da concentração inicial. Esta técnica estabelece que a velocidade é numericamente igual à inclinação da reta da faixa linear da curva de decréscimo do substrato, que corresponde aos valores iniciais, ou seja, para os maiores valores de concentração de substrato.

A partir da DQO ainda foram calculadas as porcentagens de remoção de DQO para cada concentração de ácido fólico.

Todos os resultados e dados calculados foram analisados estatisticamente utilizando o software Statistica 5.5, utilizando o teste de Tukey ao nível de 7% de probabilidade.

O nível de 7% foi escolhido para ser apresentado, já que a 10% o teste não acusou diferenças significativas superiores as análises em menores probabilidades. Além disso a 5% os resultados velocidade de remoção de DQO para o lodo em condições normais na etapa 2 não apresentou diferença e a velocidade de remoção de DQO do lodo em respiração endógena e concentração de 8,0 mg/L de ácido fólico, na etapa 1, não apresentou diferença quando comparado ao controle, embora tenha sido demonstrado semelhança com a concentração de 4,0 mg/L, que era diferentemente significativo do controle.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ENSAIOS PRELIMINARES

Estudos anteriores indicaram que o ácido fólico em concentrações de mg/L é capaz de controlar a produção de lodo excedente. Tendo em vista o objetivo de recuperar o lodo em respiração endógena e que existem compostos que em baixas concentrações possuem capacidade de estimular o crescimento de bactérias, porém em concentrações maiores inibem o seu crescimento, inicialmente foram realizados ensaios preliminares com baixas concentrações de ácido fólico, utilizando as concentrações de 500 ppb, 5 ppm e 500 ppm. Os resultados destes ensaios estão apresentados a seguir.

O acompanhamento do pH (Figura 9) apresentou uma queda nas primeiras 8 horas, acompanhando a queda da DQO, e uma pequena elevação posterior, possivelmente pela produção de amônia. Observou-se que não houve diferenças para as concentrações de ácido fólico aqui estudadas.

Os elevados desvios padrões apresentados para pH nesta fase do trabalho deve-se ao fato do volume de amostra coletado ser pequeno para cobrir toda a superfície do bulbo do pHmêtro, o que gera erros de leitura. Assim foi necessário estabelecer uma metodologia padrão de análise para que fosse atenuado o erro de leitura.

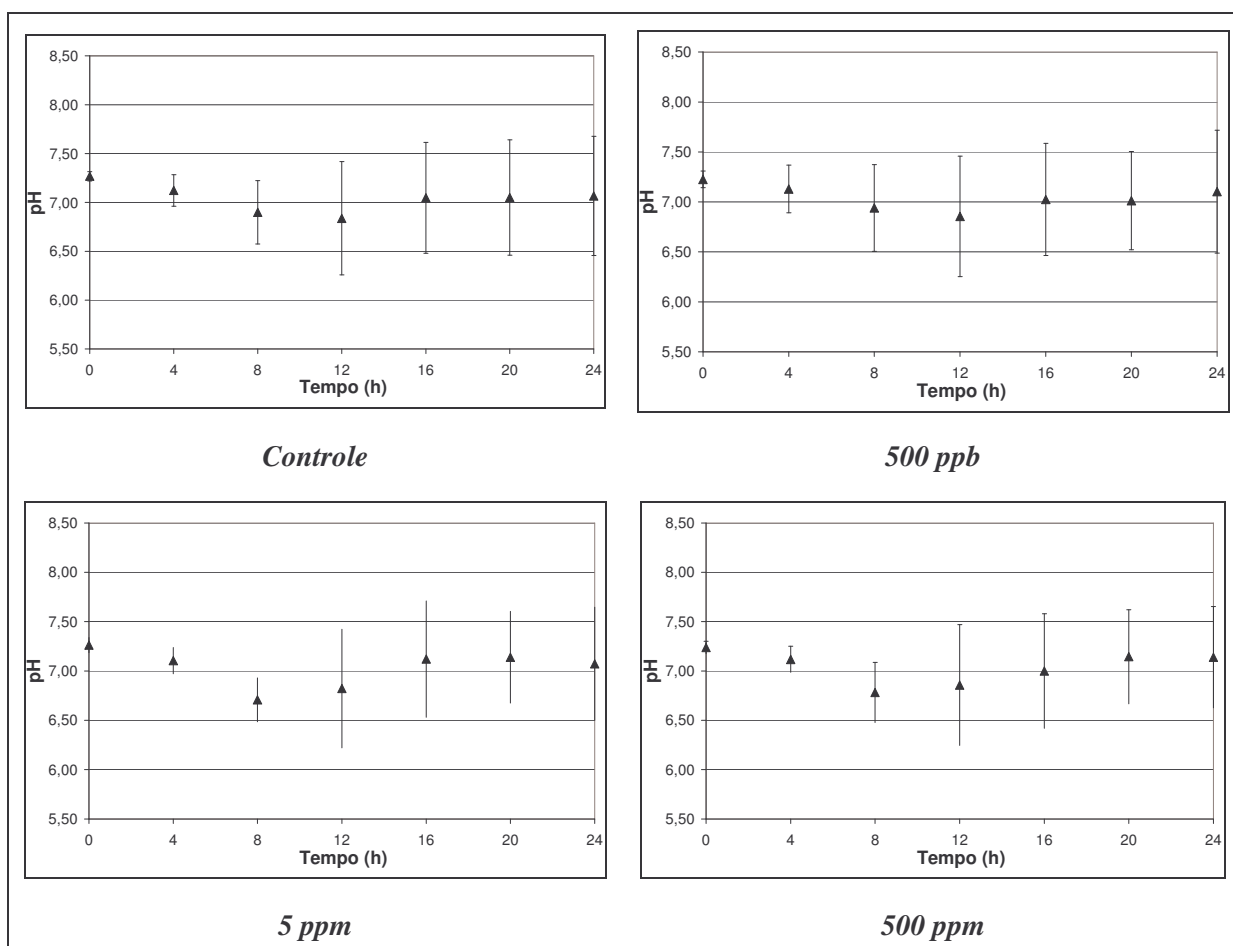


Figura 9 - Acompanhamento de pH para baixas concentrações de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Os resultados analíticos de DQO para cada ensaio com baixas concentrações de ácido fólico podem ser verificados no Anexo 3.

A Figura 10 apresenta os valores médios de DQO para as concentrações de ácido fólico estudadas. Observando o acompanhamento de DQO, observa-se a queda na concentração de matéria orgânica, demonstrada pela queda de DQO, uma fase de estagnação e uma pequena elevação, provavelmente causada pela morte celular.

A remoção média ficou em 89,79%. Todas as concentrações de ácido fólico estudadas se comportaram similarmente ao controle, apresentando uma fase de decréscimo nas primeiras 8 horas, estagnação e pequena elevação em função da morte celular.

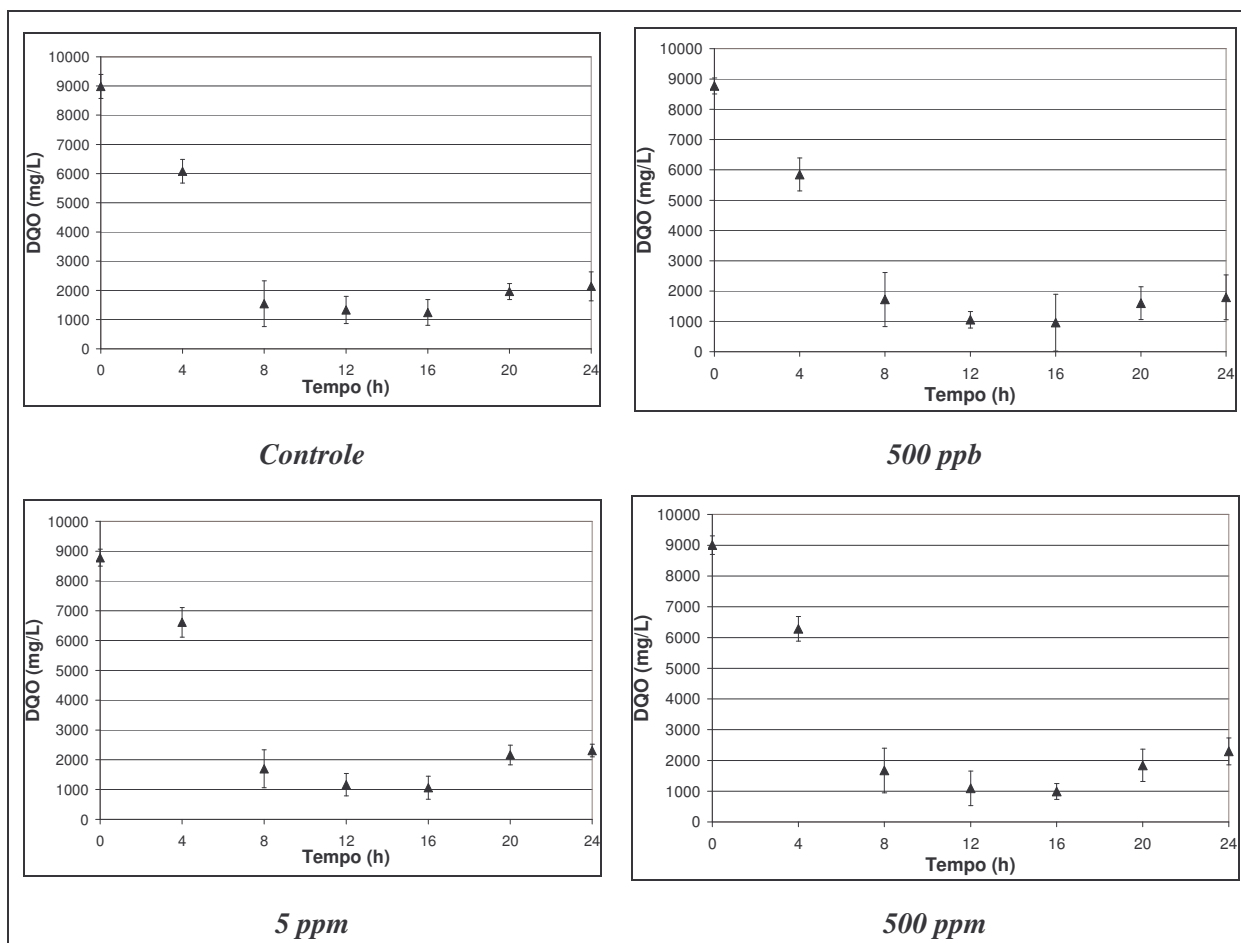


Figura 10 - Acompanhamento de DQO para baixas concentrações de ácido fólico

As velocidades de remoção de DQO (Tabela 9) não se diferenciaram do controle, conforme análise estatística pelo teste Tukey a 7% de probabilidade, sendo que a velocidade média ficou próximo de -900 mg/L.h.

Tabela 9 - Velocidades de remoção de DQO para baixas concentrações ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Etapa 1							
Concentração	Ensaio 1*	Ensaio 2*	Ensaio 3*	Ensaio 4*	Média*	Desvio	Tukey
Controle	-951,97	-1035,61	-916,12	-816,54	-930,06	91	A
500 ppb	-932,05	-999,76	-848,41	-744,84	-881,27	110	A
5 ppm	-928,07	-924,09	-852,39	-836,46	-885,25	48	A
500 ppm	-999,76	-987,82	-860,36	-816,54	-916,12	92	A

*Valores em mg/L.h

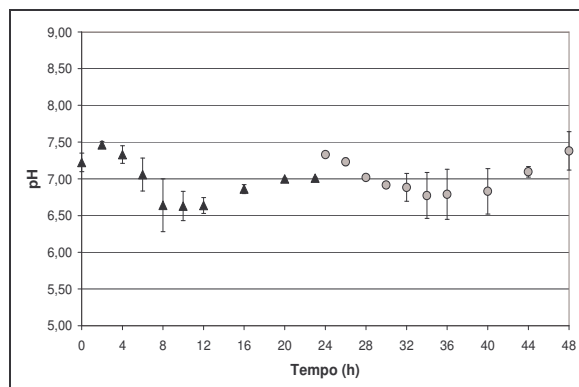
Em exame ao microscópio foi observada a presença de grânulos pequenos, baixa quantidade de protozoários e presença de bactérias filamentosas em grande número. Não ocorrendo alterações visíveis entre as concentrações aplicadas nestes ensaios.

Também não ocorreu a diferença da biomassa, permanecendo esta constante. Inicialmente a concentração de STV era de cerca de 11,6 mg/L e permanecendo nesse valor ao final de 24 horas de experimento.

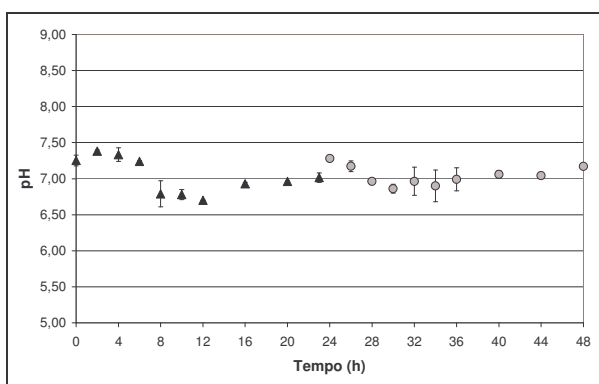
Em vista desses resultados, concentrações maiores de ácido fólico foram estudadas.

5.2. VALORES DE PH

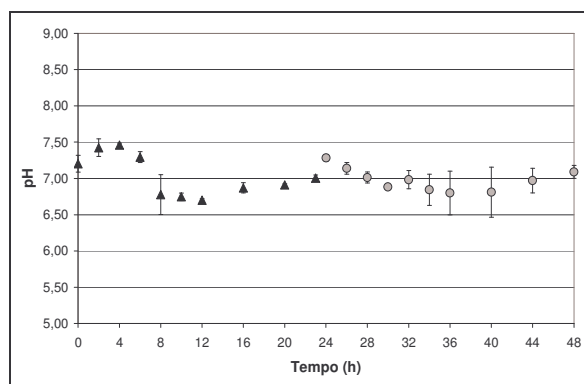
As Figuras 11 e 12 apresentam os valores medidos durante o acompanhamento de pH, para diferentes concentrações de ácido fólico para o lodo em condições normais e respiração endógena, respectivamente.



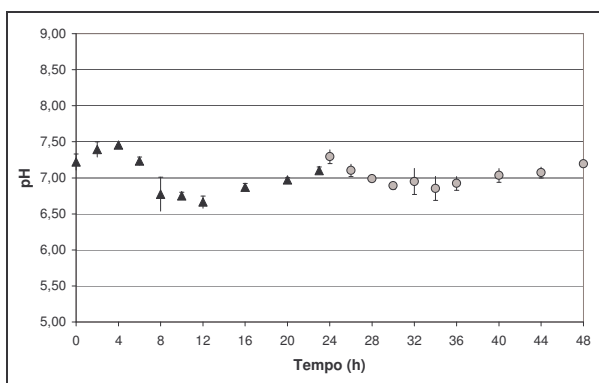
Controle



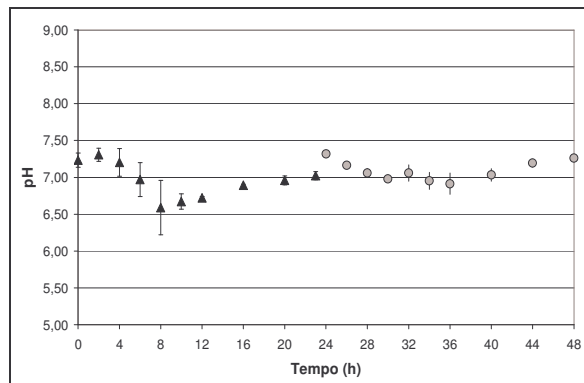
0,5 mg/L



2,0 mg/L

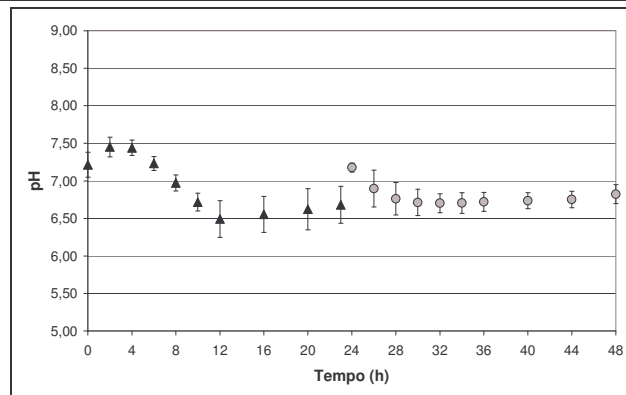


4,0 mg/L

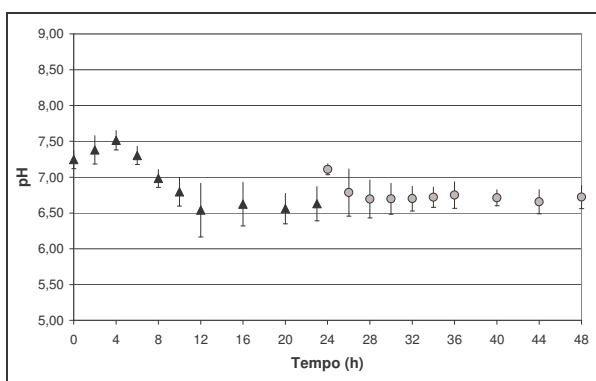


8,0 mg/L

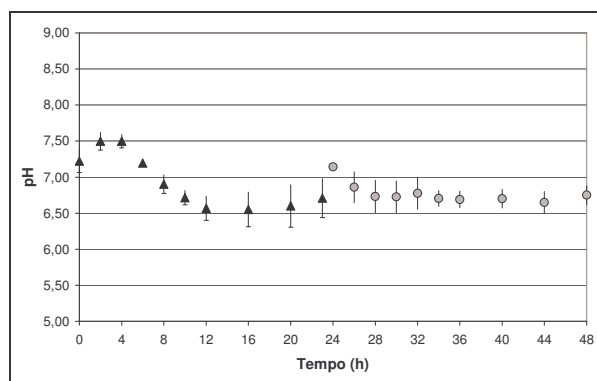
Figura 11 - Acompanhamento do pH para diferentes concentrações de ácido fólico com o lodo em condições normais (▲ 1ª alimentação, ○ 2ª alimentação).



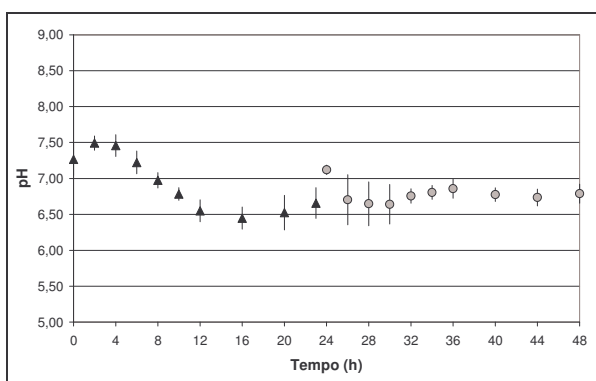
Controle



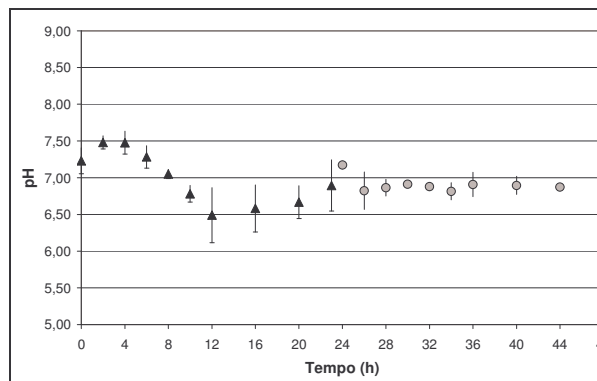
0,5 mg/L



2,0 mg/L



4,0 mg/L



8,0 mg/L

Figura 12 - Acompanhamento do pH para diferentes concentrações de ácido fólico com o lodo em respiração endógena (▲ 1ª alimentação, ○ 2ª alimentação).

Observando as Figuras 11 e 12 verifica-se um decréscimo inicial do pH, período no qual a concentração de matéria orgânica é elevada. Este fato pode ser explicado pela produção de ácidos em processos de fermentação, tendo em vista que em condições de concentração muito elevada de substrato alguns microrganismos aeróbios facultativos podem alterar seu estado fisiológico realizando fermentação. Após o período de queda do pH, ele eleva-se possivelmente em decorrência da produção de amônia.

Não houve diferenças estatísticas de pH entre os tratamentos em decorrência da aplicação de ácido fólico.

5.3. EFEITO DO ÁCIDO FÓLICO SOBRE A REMOÇÃO DE DQO

Os resultados analíticos de DQO para cada ensaio podem ser verificados no Anexo 1 (condição normal) e Anexo 2 (respiração endógena).

Os valores médios de DQO obtidos no acompanhamento dos reatores para as concentrações em estudo de ácido fólico e lodo em condição normal e de respiração endógena estão apresentados nas Figuras 13 e 14, respectivamente.

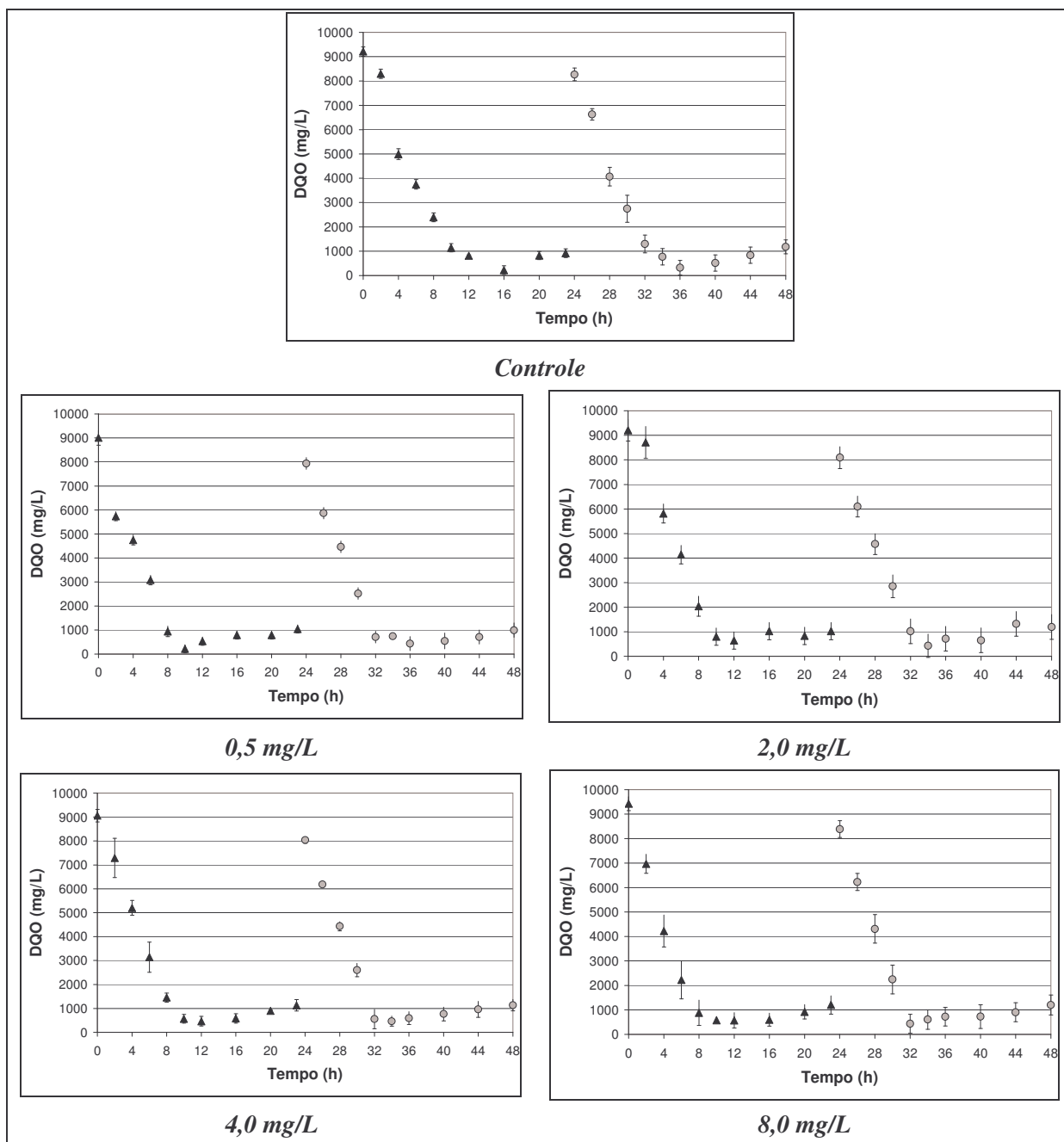


Figura 13 - Acompanhamento da DQO para diferentes concentrações de ácido fólico com o lodo em condições normais (▲ 1ª alimentação, ○ 2ª alimentação).

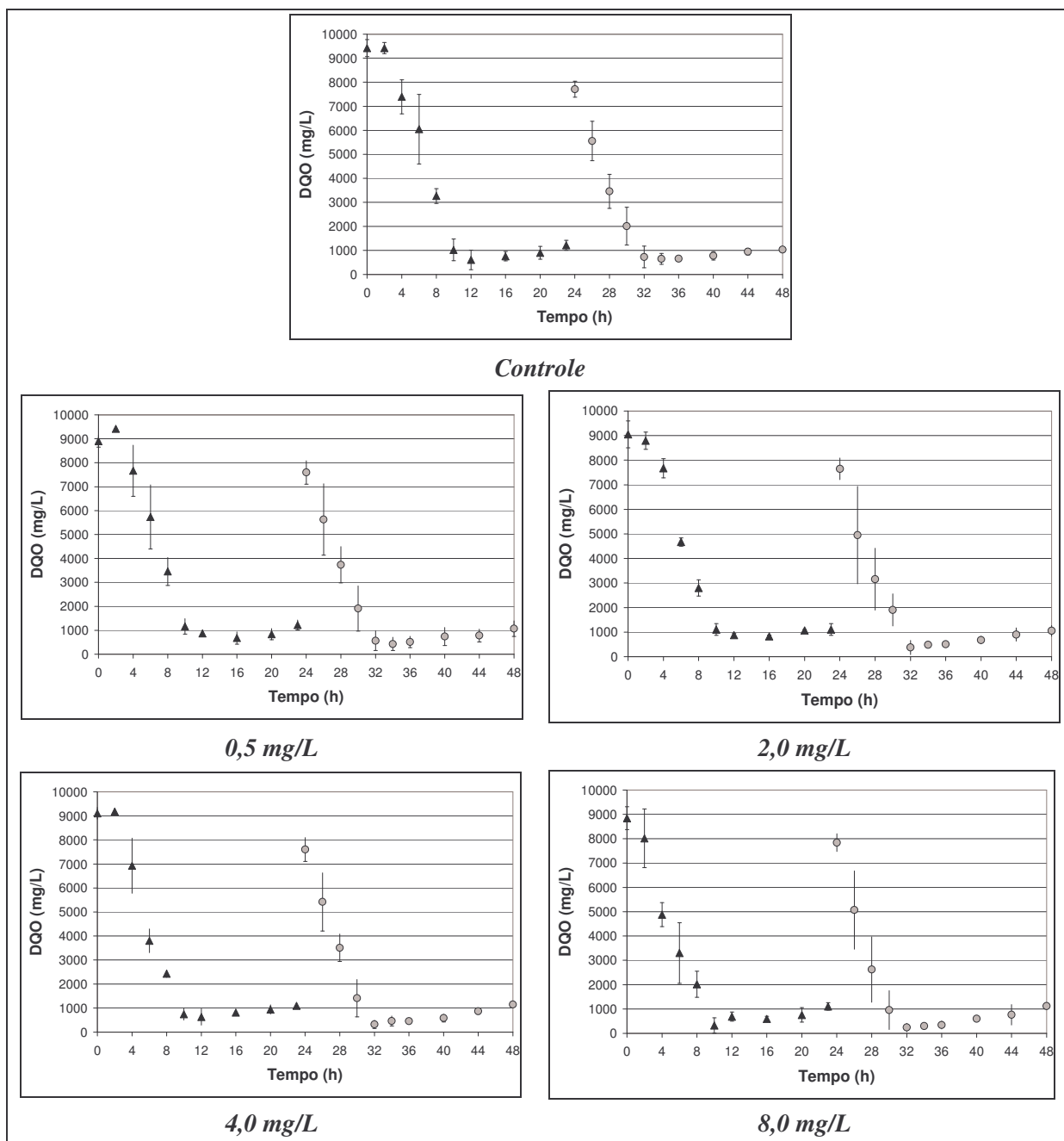


Figura 14 - Acompanhamento da DQO para diferentes concentrações de ácido fólico com o lodo em respiração endógena (▲ 1ª alimentação, ○ 2ª alimentação).

Em ambas as condições de lodo observa-se, após o decréscimo da DQO, uma fase constante e posteriormente um pequeno aumento de DQO. Esse aumento se deve ao início da morte celular pela falta de substrato e conseqüentemente aumento da matéria orgânica no meio, proveniente dessas células mortas.

Os resultados de água residuária adicionada de ácido fólico com o lodo em respiração endógena (Figura 14), demonstram o mesmo comportamento do lodo em condições normais, exceto pelo fato de que na primeira etapa de operação dos reatores, observou-se uma pequena fase lag, que representa uma adaptação dos microrganismos ao meio. Este comportamento era esperado, uma vez que o lodo encontrava-se em respiração endógena.

Esta fase de aclimação inicial não foi verificada posteriormente à realimentação, demonstra recuperação do lodo de maneira geral, assemelhando-se aos testes com lodo em condições fisiológicas normais.

De maneira semelhante ao comportamento do lodo em condições normais, a fase lag, para a concentração de 8,0mg/L na etapa 1 do lodo em respiração endógena, foi reduzida ou eliminada, resultando em valores de velocidade de remoção de DQO superiores, como veremos a seguir.

A percentagem de remoção de DQO em ambas as condições do lodo não foram alteradas. O lodo em condições normais para as duas etapas apresentou remoção próxima a 95%, enquanto que na etapa 1 dos testes com lodo em respiração endógena a remoção foi um pouco menor, ficando em 93,8% enquanto a etapa 2 obteve-se uma remoção média de 95,5%. TORRES (2005) também durante o estudo de aplicação do ácido fólico em lodo ativado em sistema de batelada, não verificou melhora da remoção de DQO.

A análise de DQO é muito sensível a variações e erros, o que pode explicar o fato de alguns pontos terem apresentados desvios padrões bem acentuados.

5.4. EFEITO DO ÁCIDO FÓLICO SOBRE A VELOCIDADE DE REMOÇÃO DE DQO

As Tabelas 10 e 11 apresentam os valores calculados para a velocidade de remoção de DQO, sendo a etapa 1 as primeiras 23 horas e a etapa 2 o período subsequente à realimentação. Pelo teste Tukey, ao nível de 7% de probabilidade, as concentrações de ácido fólico assinaladas com letras diferentes apresentam diferenças significativas entre o elas.

Tabela 10 - Velocidades de remoção de DQO (mg/L.h) para diversas concentrações ácido fólico com o lodo em condições normais

1ª Alimentação						
Concentração	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio	Tukey
Controle	-908,95	-924,09	-895,41	-909,48	14	A
0,5 mg/L	-940,02	-954,36	-924,09	-939,49	15	A
2,0 mg/L	-945,59	-928,86	-962,32	-945,59	17	A
4,0 mg/L	-974,27	-986,22	-943,20	-967,90	22	A
8,0 mg/L	-1045,17	-1128,02	-1104,12	-1092,44	43	B
2ª Alimentação						
Concentração	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio	Tukey
Controle	-900,98	-946,39	-825,30	-890,89	61	A
0,5 mg/L	-890,63	-890,63	-890,63	-890,63	0	A
2,0 mg/L	-869,91	-922,49	-817,34	-869,91	53	A
4,0 mg/L	-881,07	-944,80	-955,95	-927,27	40	A
8,0 mg/L	-976,66	-998,97	-1008,53	-994,72	16	B

Tabela 11 - Velocidades de remoção de DQO (mg/L.h) para diversas concentrações ácido fólico com o lodo em respiração endógena

1ª Alimentação							
Concentração	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Média	Desvio	Tukey
Controle	-823,71	-775,91	-777,51	-761,57	-784,68	27	A
0,5 mg/L	-876,29	-696,25	-712,18	-627,74	-728,12	105	A
2,0 mg/L	-780,69	-748,83	-895,41	-901,78	-831,68	78	A
4,0 mg/L	-911,34	-898,59	-975,07	-960,73	-936,43	37	B
8,0 mg/L	-925,68	-925,68	-906,56	-916,12	-918,51	9	B

2ª Alimentação							
Concentração	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Média	Desvio	Tukey
Controle	-938,42	-844,42	-861,95	-858,76	-875,89	42	A
0,5 mg/L	-957,54	-920,90	-830,08	-844,42	-888,24	61	A
2,0 mg/L	-957,54	-954,36	-791,85	-814,15	-879,47	89	A
4,0 mg/L	-995,78	-955,95	-825,30	-936,83	-928,47	73	A
8,0 mg/L	-1016,49	-1018,09	-1217,24	-1171,04	-1105,72	104	B

Os valores demonstram que a concentração 8,0 mg/L de ácido fólico, aumentou a remoção de DQO quando comparado ao controle e às demais concentrações. Isto porque o ácido fólico acelera o metabolismo celular provocando o aumento da velocidade de consumo da matéria orgânica. Ainda para a 1ª alimentação com o lodo em respiração endógena a concentração de 4,0 mg/L teve efeito semelhante ao de 8,0 mg/L, não apresentado diferença significativa comparado à concentração de 8,0 mg/L, pelo teste Tukey ao nível de 7% de probabilidade.

TORRES (2005), em testes de respirometria, constatou que o ácido fólico na concentração de 4,0 mg/L, maior utilizada no experimento, favoreceu a atividade microbiana. Neste ensaio ele mediu o metabolismo do lodo indiretamente pelo consumo de oxigênio, e o consumo de oxigênio atingiu a porcentagem de 78%, enquanto o controle apresentou consumo médio de 50% do oxigênio. Estes resultados também foram observados por BERTACHI (2005), como produto comercial Dosfolat XS.

Este aumento da velocidade de remoção de DQO pode ter ocorrido por dois motivos.

Primeiro pelo aumento do metabolismo das bactérias presentes, pela ação vitamínica que o ácido fólico proporciona. Segundo SHANE & STOCKSTAD (1975) a adição de ácido fólico interrompe as rotas metabólicas de síntese dessa vitamina e acelerando outras, o que proporcionaria o maior consumo de outros nutrientes.

A segunda causa do aumento da velocidade de remoção de DQO é o aumento na variedade da microfauna presente. O aumento na variedade proporciona o consumo das diferentes fontes de DQO, a suspensa e a solúvel. Muitos protozoários além de serem predadores de bactérias podem se alimentar de partículas suspensas, auxiliando na remoção de DQO, e assim o aumento de sua população pela adição de ácido fólico provoca o aumento da velocidade de remoção.

É importante ressaltar que o ácido fólico é muito sensível à oxidação, logo devido à aeração parte do ácido fólico é perdido por processos oxidativos decorrentes da aeração do sistema. A concentração de 8,0 mg/L provavelmente apresentou sua eficiência constatada por manter concentrações suficientes para a boa absorção das células antes de ser perdida.

5.5. EFEITO DO ÁCIDO FÓLICO SOBRE A FAUNA MICROBIANA

O lodo nas condições de respiração endógena, inicialmente, apresentava-se pequenos flocos dispersos, número elevado de bactérias filamentosas, baixa quantidade de protozoários ciliados livres, presença de protozoários pedunculados do gênero *Vorticella* e grande número de protozoários da classe sarcodina, gênero *Diffugia*.

A baixa concentração de ciliados livres e o grande número de protozoários pedunculados do gênero *Vorticella*, segundo VAZOLLER (1989) indicam efluente de má qualidade. Isto era esperado, já que o lodo encontra-se inicialmente em condições de respiração endógena, o que afeta a boa depuração da água residuária. A presença de bactérias filamentosas está relacionada com a baixa relação alimento microrganismo a que o lodo foi submetido, isto associado aos flocos pequenos e dispersos que provocam problemas de sedimentação.

O ácido fólico, nas concentrações de 4,0 mg/L e 8,0 mg/L, proporcionou aumento na diversidade da microfauna do lodo, quando comparada ao controle. Observou-se aumento das populações de ciliados livres e pedunculado, o que segundo VAZOLLER (1989) indicam boas condições de depuração.

Verificou-se ainda a redução de bactérias filamentosas responsáveis pelo intumescimento do lodo, aparecimentos de algas, o que indica nitrificação, além do aumento da população de protozoários da classe sarcodina.

Apesar de não ter sido medido, verificou-se que o aumento da concentração de ácido fólico proporcionou aumento da densidade e tamanho dos flocos, o que produziu melhores condições de sedimentação. Visualmente esta melhora foi identificada a partir da concentração de 2,0 mg/L, e acentuada com o aumento da concentração.

A partir de 16 horas de operação dos reatores, verificou-se o início do surgimento de algas nas concentrações de 4,0 e 8,0 mg/L de ácido fólico, possivelmente em decorrência da maior disponibilidade de nutrientes, em especial nitrato. Com 23 horas verificou-se o aumento da população de algas e seu surgimento na concentração de 2,0 mg/L.

Todas essas mudanças foram mais visíveis nas primeiras 23 horas do experimento, após a realimentação do reator as diferenças, embora ainda presentes para as maiores concentrações de ácido fólico, eram menos evidentes pela recuperação natural do lodo.

Embora em menor escala, essas diferenças durante a visualização ao microscópio também foram verificadas para o lodo em condições normais, embora ainda fora verificada aumento da diversidade de microrganismos, redução de bactérias filamentosas, aumento da população de protozoários pedunculados e algas.

A presença, muito pequena de metazoários foi observada nas condições fisiológicas normais de lodo e, também, posteriormente as 36 horas de acompanhamento do estudo com lodo em respiração endógena, sendo identificados a presença de rotíferos e nematodos.

Mudanças na diversidade da fauna microbiana em lodos ativados pela aplicação de ácido fólico também foi verificada por OSTRANDER (1992).

5.6. EFEITO DO ÁCIDO FÓLICO SOBRE A SEDIMENTAÇÃO

Os dados analíticos para os STVs estão disponíveis nos Anexos 1 e 2, respectivamente para os ensaios com lodo em condição normal e de respiração endógena.

A análise estatística dos resultados pelo teste de Tukey a 7% de probabilidade, não se verificou o controle sobre o aumento do lodo excedente, para ambas as condições avaliadas. Seria um resultado esperado segundo BERTACHI (2005), isto provavelmente pela necessidade conjunta de alterações nas de operação da aeração.

Não havendo diferença significativa STVs entre as concentrações de ácido fólico, a melhora da sedimentação, como será verificado a seguir pelo calculo do IVL, corresponde, nas condições experimentais, a diversificação da fauna microbiana e não está relacionada com a massa de células.

Os valores calculados para o IVL estão apresentados nas Tabelas 12 e 13, para o lodo em condições normais e em respiração endógena respectivamente. Os valores, para as concentrações estudadas, assinalados pelas mesma letra não diferem significativamente entre si ao nível de 7% de propabildiade pelo teste Tukey.

Tabela 12 - Valores calculados de IVL (mL/g) para as diferentes concentrações de ácido fólico com o lodo em condições normais

1ª Alimentação						
Concentração	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio	Tukey
Controle	27,13	27,07	29,29	27,83	<i>1,26</i>	A
0,5 mg/L	26,83	26,73	28,81	27,46	<i>1,17</i>	A, B
2,0 mg/L	26,31	26,74	27,33	26,79	<i>0,51</i>	A, B
4,0 mg/L	25,00	25,34	25,33	25,22	<i>0,19</i>	B, C
8,0 mg/L	24,68	23,22	25,25	24,39	<i>1,05</i>	C
2ª Alimentação						
Concentração	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio	Tukey
Controle	26,71	27,29	29,78	27,93	<i>1,63</i>	A
0,5 mg/L	27,67	27,45	27,66	27,59	<i>0,13</i>	A
2,0 mg/L	24,84	25,29	24,02	24,72	<i>0,65</i>	B, C
4,0 mg/L	23,76	23,62	22,65	23,35	<i>0,60</i>	C, D
8,0 mg/L	22,65	22,07	22,70	22,47	<i>0,35</i>	D

Tabela 13 - Valores calculados de IVL (mL/g) para as diferentes concentrações de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

1ª Alimentação							
Concentração	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Média	Desvio	Tukey
Controle	23,90	23,56	23,66	23,71	23,71	0,14	A
0,5 mg/L	40,30	40,40	39,58	41,00	40,32	0,58	B
2,0 mg/L	37,94	40,06	38,80	38,33	38,78	0,92	B, C
4,0 mg/L	36,36	36,22	37,47	37,56	36,90	0,71	C, D
8,0 mg/L	34,81	36,72	35,16	35,84	35,63	0,84	D

2ª Alimentação							
Concentração	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Média	Desvio	Tukey
Controle	35,04	35,34	37,15	36,41	35,99	0,98	A
0,5 mg/L	35,44	40,08	38,67	36,73	37,73	2,06	B
2,0 mg/L	34,61	34,14	33,35	35,21	34,33	0,79	B
4,0 mg/L	32,73	30,30	29,96	31,55	31,14	1,26	C
8,0 mg/L	30,01	30,77	32,52	32,29	31,40	1,21	C

O teste de IVL não apresenta resultados sobre a velocidade de sedimentação, isto porque não é possível verificar qual “caminho”, A ou B, apresentada na Figura 8 na página 36, é feito durante a sedimentação do lodo, e conseqüentemente a velocidade de sedimentação. Contudo o teste de IVL apresenta resultados para verificar a capacidade de sedimentação do lodo.

Os valores de IVL calculados demonstraram que a partir da concentração de 0,5mg/L já foi verificado melhora da capacidade de sedimentação do lodo em respiração endógena, porém essa melhora ocorre somente a partir da concentração de 4,0mg/L de ácido fólico com o lodo em condições fisiológicas normais. A concentração de 8,0 mg/L foi a que proporcionou a melhora mais significativa na capacidade de sedimentação, embora essa concentração estatisticamente, em todos os casos, seja semelhante a concentração de 4,0 mg/L.

Essa melhora da sedimentação se deve, sabendo-se que não houve alteração da massa celular entre os tratamentos, a melhora da diversidade de microrganismos encontrados, controle de bactérias filamentosas e aumento visual da densidade e tamanho dos flocos, características também observados por TORRES (2005).

O aumento da população de protozoários ciliados e pedunculados aumenta o consumo de material particulado suspenso e a predação de bactérias, principalmente as livres não aderidas aos flocos, o que auxilia na melhora da sedimentação e conseqüentemente a clarificação do efluente tratado. Essa melhora, devido ao aumento da diversidade de microrganismos, foi verificada por AKERBOOM et al. (1994) e OSTRANDER (1992).

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados, e para as condições experimentais, podemos concluir que:

- ❖ O ácido fólico modifica a microfauna presentes dos lodos ativados, aumentando a sua diversidade. Ainda para o caso de condições de respiração endógena há aceleração do processo de recuperação, fazendo com que a microfauna presente seja mais próxima a do lodo em condições normais em menor tempo.
- ❖ A velocidade de remoção de DQO pode ser aumentada utilizando ácido fólico, sendo que a concentração mínima é de 8,0mg/L.
- ❖ O ácido fólico proporciona melhora na sedimentação do lodo.
- ❖ O uso do ácido fólico pode ser utilizado para recuperação do lodo em condições de respiração endógena.
- ❖ Não foi verificada, nas condições experimentais e nas concentrações de ácido fólico utilizadas, melhora na remoção de DQO.
- ❖ O pH não é influenciado pela adição de ácido fólico.
- ❖ Não foi possível verificar o controle da produção de lodo excedente nas condições experimentais.

7. SUGESTÕES

- ❖ Estudar a oxidação do ácido fólico pela aeração nos sistemas de tratamento, afim se determinar a exata concentração de ácido fólico a ser utilizada para as condições de aeração utilizadas.
- ❖ Estudar o efeito do ácido fólico sobre o processo de nitrificação, para confirmar suspeitas de que o ácido fólico acelera o processo de nitrificação.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKHTAR, M.J.; KHAN, M.A.; AHMAD, I. Photodegradation of folic acid in aqueous solutions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 25(1):269-275. 1999.

AKERBOON, R.K.; LUTZ, P.; BERGER, H.F. Folic acid reduces the use of secondary treatment additives in treating wastewater from paper recycling. In. *International Environmental Conference*. Oregon-Portland, 1994. Disponível em: http://www.dosfolat.de/literature/DOSFOLAT_use_papermills.pdf (Acessado em 12/12/2006 as 22:10).

ANDERL, A. A vitamin for biological sewage treatment plants. *BioTechnologie Das Naschrichten-Magazin*. 5. 1987. Disponível em: http://www.dosfolat.de/literature/DOSFOLAT_Anderl_e.pdf (Acessado em 12/12/2006 as 21:50).

APHA (American Public Health Association) – AWWA (American Water and Wastewater Association) – WPCF (Water Pollution Control Federation). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th edition. Washington: APHA, 1995.

ARCOT, J & SHRESTHA, A. Folate: methods of analysis. *Trends in Food Science & Technology*. 16:253-266. 2005

BARRETT, E.; STANTON, C.; FITZGERALD, G.; ROSS, R.P. Biotechnology of food cultures for the nutritional enhancement of milk and dairy products. In. TAMINE, A.Y. & ROBINSON, R.K. *Yoghurt – Science and Technology* – 2nd edition. Woodhead Publishing & CRC Press. 1999.

BERK, S.G. & GUNDERSON, J.H. *Wastewater Organisms – A Color Atlas*. Lewis Publishers. 1993. 25p.

BERTACCHI, M.C. Investigação da adição de Dosfolat em sistemas de lodos ativados para controle e redução de lodo gerado. Dissertação apresentada à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. São Paulo. 2005. 197p.

- BITTON, G. Wastewater Microbiology. Wiley-Liss Inc. 1994. 478p.
- BRAILE, P.M. & CAVALCANTI, J.E.W.A. Manual de Tratamento de Águas Residuárias Industriais - CETESB. 1993. 764p.
- BROCK – Biology of Microorganisms – 9th edition. [Ed] M.T. Madigan; J.M. Martinko; J. Parker. Prentice Hall. 2000. 1048p.
- BRODY, T. Nutritional biochemistry. Academic Press. 1993. 658p.
- BURGESS, J. E.; QUARMBY, J.; STEPHENSON, T. Micronutrient supplements for optimization of the treatment of industrial wastewater using activated sludge. Water Research, 33(18): 3707-3714. 1999.
- CHAVES, A. C. S. D.; HUGENBOLTZ, J.; LERAYER, A. L. S. Engenharia metabólica de ácido fólico. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, n.28 – Setembro/Outubro 2002.
- CHEREMISINOFF, N. P. Biotechnology for waste and wastewater treatment. Noyes Publications. 1996. 231p.
- CHERNICHARO, C.A.L. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias – Reatores Anaeróbios – Vol. 5. 1997. 246p.
- CONAMA, Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº357. Brasília, 17 de março de 2005. 23p.
- CONN, E. E. & STUMPF, P; K. Introdução à Bioquímica, 1º reimpressão. Tradução da 3ª edição Americana. Editora Edgard Blüncher LTDA. 1977. 447p.
- EITENMILLERR.R. & LANDEN Jr., W.O. Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences. CRC Press, 1999.
- FORSYTHE, S.P. Microbiologia da Segurança Alimentar. Artmed Editora. 2002. 424p.
- GRITTENDEN, R.G.; MARTINEZ, N.R.; PLAYNE, M.J. Synthesis and utilization of folates by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria. International Journal of Food Microbiology, 80: 217-222. 2003.
- HORAN, N.J. Biological wastewater treatment systems: theory and operation. John Willey & Sons. 1989. 310p;
- JÄGERSTAD, M.; JASTREBOVA, J.; SVENSSON, U. Folate in fermented vegetables – a pilot study. Lebensm-Wiss Technologie, 37: 603-611. 2003.
- JORDÃO, E. P. & PESSOA, C. A. Tratamento de Esgotos Domésticos - 3ª edição. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES). Rio de Janeiro, 1995. 720p.

JUNQUEIRA, L.C. & CARNEIRO, J. *Biologia Celular e Molecular* – 6ª edição. Guanabara Koogan. 1997. 299p.

KAMEYAMA, O.; OLMÍ, V.R.; PIRES, A.M.B.; SOARES, L.S.; RAMOS, A.L.S.; PASSOS, F.J.V.; MANCILHA, I.M. Efeito da penicilina e gentamicina sobre o tratamento anaeróbio de efluentes. *Revista Ceres*. 2006.

LIBÂNIO, M. *Fundamentos de qualidade e tratamento de água*. Editora Átomo. 2005. 444p.

LEHNINGER – *Principles of Biochemistry* – 4th edition. [Ed] D. L. Nelson & M.M. Cox. W.H. Freeman and Company. 2004. 1210p.

LEMMER H. & NITSCHKE, L. Vitamin content of four sludge fractions in the activated sludge wastewater treatment process. *Water Research*, 28 (3):737-739. 1994.

LEMMER H.; LIND, G.; METZNER, G.; NITSCHKE, L.; SCHADE, M. Vitamin addition in biological wastewater treatment. *Water Science Technologies*, 37(4-5):395-398. 1998.

LIN, M.Y. & YOUNG, C.M. Folate levels in cultures of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 10:409-413. 2000.

MADONI, P. A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis. *Water Research*. 28(11): 67-75. 1994.

METCALF & EDDY. *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, Reuse*. [Ed] G. Tchobanoglous & F.L. Burton. McGraw-Hill. 1991. 1334p.

MYLLYKALLIO, H.; LEDUC, D.; FILEE, J.; LIEBL, U. Life without dihydrofolate reductase Foa. *Trends in microbiology*. 11(5):220-223. 2003.

OSTRANDER, S.J. A non-conventional solution to an old problem. *Operations Forum*. 9(1). 1992. Disponível em: <http://www.dosfolat.de/literature/ostrander/ostrander.html> (Acessado em 12/12/2006 as 22:00).

OSUNA-CASTRO, J.A. & PAREDES-LÓPEZ, O. Introduction to molecular food biotechnology. In. GUTIÉRREZ-LÓPEZ, G. F. & BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. *Food Science and Food Biotechnology*. CRC Press. 2003.

PELCZAR Jr., M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. *Microbiologia* – Vol. 1 – 2ª edição. MAKRON Books. 1996a. 524p.

PELCZAR Jr., M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. *Microbiologia* – Vol. 2 – 2ª edição. MAKRON Books. 1996b. 517p.

RAMALHO, R.S. *Introduction to Wastewater Treatment Process* – 2nd edition. Academic Press, Inc. 1983. 580p.

RANG H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. Farmacologia. Guanabara Koogan. 2001. 703p.

REBOUÇAS, A.C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J.G. (organizadores). Águas doces no Brasil – capital ecológico, uso e conservação – 3ª edição. Escrituras editora. 748p.

RENNER, E. Milk and dairy products in human nutrition. Muchen: Volkswirtschaftlicher Verlag. 1983.

RITTMAN, B.E. & McCARTY, P.L. Environmental Biotechnology: Principles and Applications. Mc Graw Hill. 2001. 754p.

SENER, E. & BARLAS, H. Effects of folic acid on the efficiency of biological wastewater treatment. Fresenius Environmental Bulletin. 13(10):1036-1039. 2004.
Disponível em: <http://www.dosfolat.de/literature/FRESENIUS-BULL-2004.pdf> (Acessado em 12/12/2006 as 21:40).

SHANE, B. & STOKSTAD, L.R. Transport and metabolism of folates by bacteria. The Journal of Biological Chemistry. 250(6): 2243-2253. 1975.

SHULER, M.L. & KARGI, F. Bioprocess Engineering: Basic Concepts – 2nd edition. Prentice Hall, Inc. 2002. 553p.

TORRES, D.P.C. Estudo microbiológico da influencia da adição química de ácido fólico em sistemas de lodos ativados. Dissertação apresentada à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. São Paulo. 2005. 179p.

VAZOLLÉR, R.F.; GARCIA, M.A.R.; GARCIA Jr., A.D.; NETO, J.C. Microbiologia de lodos ativados. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB). São Paulo, 1989. 23p.

von SPERLING, M. Tratamento e Destinação de Efluentes Líquidos da Agroindústria. ABEAS – Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior. 1996a. 92p.

von SPERLING, M. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias – Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos– vol. 1. 1996b. 243p.

von SPERLING, M. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias – Princípios básicos do tratamento de esgotos – vol. 2. 1996c. 211p.

von SPERLING, M. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias – Lodos ativados – vol. 5. 1997.

ANEXO 1. RESULTADOS ANALÍTICOS DOS ENSAIOS COM LODO SOB CONDIÇÕES NORMAIS

Tabela 14 - Acompanhamento da DQO para o controle com o lodo em condições normais

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio Padrão
0	9425,35	9170,43	9042,97	9212,92	195
2	8493,30	8278,21	8118,89	8296,80	188
4	5211,20	4996,12	4773,06	4993,46	219
6	3952,54	3562,19	3721,52	3745,41	196
8	2606,24	2287,59	2287,59	2393,81	184
10	1331,64	1012,99	1076,72	1140,45	169
12	789,94	789,94	853,67	811,18	37
16	423,49	88,90	152,64	221,68	178
20	1012,99	694,34	758,07	821,80	169
23	1124,52	789,93	853,67	922,71	178
24	8565,00	8150,75	8087,02	8267,59	260
26	6892,08	6525,64	6461,91	6626,54	232
28	4311,02	3625,92	4263,22	4066,72	382
30	2893,03	2128,27	3211,68	2744,32	557
32	1554,70	885,53	1459,10	1299,78	362
34	1108,59	439,42	758,07	768,69	335
36	662,48	88,90	216,37	322,58	301
40	853,67	184,50	503,15	513,77	335
44	1172,32	503,15	821,80	832,42	335
48	1506,90	981,13	1044,86	1177,63	287

Tabela 15 - Acompanhamento da DQO para 0,5 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio Padrão
0	9226,19	9138,57	8660,59	9008,45	304
2	5952,07	5601,55	5665,28	5739,63	187
4	4964,25	4550,01	4741,20	4751,82	207
6	3291,34	2893,03	3052,35	3078,90	200
8	1156,38	949,26	726,21	943,95	215
10	407,56	88,90	152,64	216,37	169
12	726,21	407,56	471,29	535,02	169
16	981,13	662,48	726,21	789,94	169
20	981,13	662,48	726,21	789,94	169
23	1236,05	917,40	981,13	1044,86	169
24	8214,48	7832,10	7768,37	7938,32	241
26	6143,26	5760,88	5697,15	5867,09	241
28	4741,20	4358,82	4295,09	4465,03	241
30	2797,43	2415,05	2351,32	2521,27	241
32	981,13	598,75	535,02	704,96	241
34	821,80	662,48	-	742,14	113
36	774,00	248,23	280,10	434,11	295
40	885,53	216,37	535,02	545,64	335
44	1044,86	535,02	535,02	704,96	294
48	1331,64	853,67	789,94	991,75	296

Tabela 16 - Acompanhamento da DQO para 2,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio Padrão
0	9632,47	9234,16	8756,19	9207,61	439
2	9138,57	7959,56	9042,97	8713,70	655
4	6238,85	5729,01	5474,09	5813,98	389
6	4565,94	3848,98	4008,30	4141,07	376
8	2462,85	2000,81	1650,29	2037,98	408
10	1204,18	566,88	630,61	800,56	351
12	1044,86	407,56	471,29	641,23	351
16	1427,24	789,93	853,67	1023,61	351
20	1236,05	598,75	662,48	832,42	351
23	1427,24	789,93	853,67	1023,61	351
24	8580,93	7991,43	7704,64	8092,33	447
26	6589,37	5888,34	5824,61	6100,77	424
28	5059,85	4295,09	4358,82	4571,25	424
30	3339,14	2415,05	2797,43	2850,54	464
32	1506,90	503,15	1044,86	1018,30	502
34	981,13	-	311,96	431,03	473
36	1267,91	280,10	598,75	715,58	504
40	1204,18	216,37	535,02	651,85	504
44	1873,35	885,53	1204,18	1321,02	504
48	1745,89	758,07	1076,72	1193,56	504

Tabela 17 - Acompanhamento da DQO para 4,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio Padrão
0	9186,36	9234,16	8756,19	9058,90	263
2	8214,48	7003,61	6653,10	7290,40	819
4	5521,89	5187,31	4900,52	5203,24	311
6	3769,31	3147,95	2510,65	3142,63	629
8	1666,22	1299,78	1395,37	1453,79	190
10	694,34	439,42	-	566,88	180
12	646,54	503,15	248,23	465,97	202
16	805,87	439,42	503,15	582,81	196
20	917,40	853,67	917,40	896,15	37
23	1236,05	1299,78	853,67	1129,83	241
24	8166,68	8055,16	7895,83	8039,22	136
26	6238,85	6079,53	6238,85	6185,74	92
28	4645,60	4358,82	4295,09	4433,17	187
30	2924,89	2478,78	2415,05	2606,24	278
32	1012,99	407,56	248,23	556,26	403
34	710,27	343,83	343,83	465,97	212
36	901,46	439,42	439,42	593,43	267
40	1044,86	789,94	471,29	768,69	287
44	1299,78	630,61	949,26	959,88	335
48	1411,30	981,13	1012,99	1135,14	240

Tabela 18 - Acompanhamento da DQO 8,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio Padrão
0	9759,93	9266,03	9266,03	9430,66	285
2	7417,86	6684,96	6812,42	6971,75	392
4	4916,45	4135,76	3625,92	4226,04	650
6	3084,22	1586,56	2000,81	2223,86	773
8	1475,03	535,02	630,61	880,22	517
10	614,68	535,02	-	574,85	56
12	933,33	375,69	407,56	572,19	313
16	885,53	535,02	375,69	598,75	261
20	1236,05	853,67	662,48	917,40	292
23	1522,83	1299,78	789,94	1204,18	376
24	8772,12	8118,89	8278,21	8389,74	341
26	6621,23	6111,39	5952,07	6228,23	350
28	4916,45	3753,38	4263,22	4311,02	583
30	2893,03	1745,89	2096,40	2245,10	588
32	869,60	311,96	120,77	434,11	389
34	1060,79	375,69	375,69	604,06	396
36	1156,38	535,02	471,29	720,89	378
40	1236,05	662,48	280,10	726,21	481
44	1347,57	694,34	662,48	901,46	387
48	1666,22	981,13	949,26	1198,87	405

Tabela 19 - STV para o controle com o lodo em condições normais

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio Padrão
0	16,6602	17,0522	16,3675	16,69	0,3435
12	15,5088	16,0010	15,1008	15,54	0,4508
23	15,1104	15,5133	14,3395	14,99	0,5964
36	15,6218	16,0209	15,2596	15,63	0,3808
48	14,9730	15,3922	14,1033	14,82	0,6574

Tabela 20 - STV para 0,5 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio Padrão
0	16,6602	17,0522	16,3675	16,69	0,3435
12	15,8688	15,9588	16,1834	16,00	0,1621
23	15,2817	15,3377	14,5766	15,07	0,4242
36	16,0001	16,0811	15,8765	15,99	0,1030
48	15,1777	15,3030	14,4599	14,98	0,4549

Tabela 21 - STV para 2,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio Padrão
0	16,6602	17,0522	16,3675	16,69	0,3435
12	15,5977	15,9772	14,5954	15,39	0,7139
23	15,2057	15,3300	15,0041	15,18	0,1645
36	16,0105	15,8505	15,7764	15,88	0,1196
48	15,2978	15,0244	14,9905	15,10	0,1685

Tabela 22 - STV para 4,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio Padrão
0	16,6602	17,0522	16,3675	16,69	0,3435
12	15,6584	15,9790	13,6750	15,10	1,2480
23	15,1993	15,3937	15,0041	15,20	0,1948
36	15,8775	15,9842	15,8311	15,90	0,0785
48	15,1495	15,2399	15,0082	15,13	0,1168

Tabela 23 - STV para 8,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em condições normais

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio Padrão
0	16,6602	17,0522	16,3675	16,69	0,3435
12	15,5044	16,0155	15,3566	15,63	0,3457
23	14,9899	15,5034	14,6515	15,05	0,4289
36	15,7005	16,0015	15,6688	15,79	0,1836
48	15,0085	15,4067	14,9766	15,13	0,2396

**ANEXO 2. RESULTADOS ANALÍTICOS DOS ENSAIOS COM
LODO SOB CONDIÇÕES DE RESPIRAÇÃO
ENDÓGENA**

Tabela 24 - Acompanhamento da DQO para o controle com o lodo em respiração endógena

Tempo	Ensaio 1 (mg/L)	Ensaio 2 (mg/L)	Ensaio 3 (mg/L)	Ensaio 4 (mg/L)	Média (mg/L)	Desvio Padrão
0	9011,11	9297,89	9552,81	9839,60	9425,35	354
2	9074,84	9552,81	9552,81	9520,95	9425,35	234
4	6334,45	7768,37	7640,91	7832,10	7393,96	711
6	3880,84	6908,02	6621,23	6780,56	6047,66	1449
8	3371,00	2861,16	3243,54	3594,06	3267,44	307
10	1459,10	1363,51	598,75	662,48	1020,96	453
12	120,77	1044,86	821,80	439,42	606,71	409
16	726,21	1044,86	630,61	630,61	758,07	196
20	662,48	1267,91	917,40	758,07	901,46	266
23	1236,05	1459,10	949,26	1204,18	1212,15	209
24	7895,83	8087,02	7385,99	7481,59	7712,61	334
26	5633,42	6684,96	4932,39	4964,25	5553,75	820
28	3116,08	4518,14	3052,35	3147,95	3458,63	707
30	1714,02	3179,81	1522,83	1618,43	2008,77	785
32	471,29	1395,37	471,29	566,88	726,21	448
34	471,29	981,13	598,75	535,02	646,54	229
36	694,34	758,07	535,02	630,61	654,51	95
40	821,80	949,26	789,94	535,02	774,00	174
44	789,94	1044,86	1076,72	885,53	949,26	135
48	949,26	1140,45	1012,99	1044,86	1036,89	80

Tabela 25 - Acompanhamento da DQO para 0,5 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Média	Desvio Padrão
0	8628,73	9106,70	9106,70	8756,19	8899,58	245
2	9297,89	9552,81	9361,62	9457,22	9417,38	112
4	6238,85	8819,92	7736,51	7863,97	7664,81	1067
6	3753,38	6143,26	6461,91	6589,37	5736,98	1336
8	2638,11	3848,98	3434,73	3912,71	3458,63	587
10	1331,64	1522,83	821,80	981,13	1164,35	320
12	789,94	949,26	981,13	758,07	869,60	112
16	343,83	789,94	630,61	949,26	678,41	258
20	598,75	1108,59	949,26	694,34	837,73	233
23	981,13	1459,10	1140,45	1299,78	1220,11	206
24	7768,37	8182,62	7354,13	7067,34	7593,11	487
26	6206,99	7449,72	4645,60	4199,49	5625,45	1490
28	3753,38	4804,93	2924,89	3211,68	3673,72	829
30	1905,21	3243,54	917,40	1140,45	1801,65	1050
32	343,83	1076,72	88,90	152,64	415,52	454
34	471,29	789,94	311,96	152,64	431,45	272
36	726,21	694,34	375,69	248,23	511,12	236
40	917,40	1012,99	853,67	184,50	742,14	377
44	821,80	1044,86	853,67	407,56	781,97	268
48	1204,18	1395,37	1044,86	630,61	1068,75	325

Tabela 26 - Acompanhamento da DQO para 2,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Média	Desvio Padrão
0	8373,81	8851,78	9393,49	9584,68	9050,94	548
2	8437,54	8565,00	9011,11	9170,43	8796,02	350
4	7481,59	8214,48	7322,26	7672,78	7672,78	389
6	4741,20	4868,66	4486,28	4581,87	4669,50	169
8	2415,05	3211,68	2701,84	2861,16	2797,43	332
10	789,94	1140,45	1140,45	1363,51	1108,59	237
12	949,26	885,53	789,94	885,53	877,56	66
16	789,94	853,67	885,53	789,94	829,77	48
20	1076,72	1076,72	1108,59	1012,99	1068,75	40
23	1331,64	1236,05	789,94	1076,72	1108,59	237
24	7768,37	8214,48	7258,53	7354,13	7648,88	437
26	6206,99	7067,34	3211,68	3307,27	4948,32	1982
28	3753,38	4645,60	2064,54	2160,13	3155,91	1259
30	1905,21	2829,30	1395,37	1490,97	1905,21	655
32	343,83	789,94	248,23	120,77	375,69	291
34	439,42	375,69	535,02	598,75	487,22	99
36	535,02	439,42	566,88	471,29	503,15	58
40	662,48	726,21	853,67	471,29	678,41	159
44	503,15	981,13	1076,72	1044,86	901,46	268
48	821,80	1236,05	917,40	1236,05	1052,82	215

Tabela 27 - Acompanhamento da DQO para 4,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Média	Desvio Padrão
0	8883,65	8915,51	9361,62	9266,03	9106,70	243
2	9106,70	9170,43	9074,84	9361,62	9178,40	128
4	5219,17	7258,53	7609,05	7609,05	6923,95	1148
6	3434,73	4518,14	3530,33	3721,52	3801,18	493
8	2606,24	2255,73	2383,19	2478,78	2430,98	148
10	758,07	821,80	407,56	981,13	742,14	242
12	216,37	662,48	598,75	1044,86	630,61	339
16	789,94	917,40	662,48	885,53	813,83	115
20	726,21	853,67	1012,99	1172,32	941,29	194
23	1044,86	1236,05	949,26	1140,45	1092,65	123
24	8087,02	7895,83	6971,75	7449,72	7601,08	497
26	6079,53	6748,69	4103,90	4741,20	5418,33	1210
28	3625,92	4263,22	3116,08	3020,49	3506,43	570
30	1777,75	2287,59	1044,86	535,02	1411,30	776
32	280,10	566,88	248,23	184,50	319,93	169
34	503,15	726,21	248,23	375,69	463,32	204
36	439,42	503,15	343,83	535,02	455,35	84
40	407,56	789,94	598,75	535,02	582,81	159
44	789,94	1044,86	853,67	789,94	869,60	121
48	1076,72	1299,78	1076,72	1140,45	1148,42	105

Tabela 28 - Acompanhamento da DQO para 8,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Média	Desvio Padrão
0	8437,54	8437,54	9170,43	9329,76	8843,81	474
2	6971,75	6971,75	9106,70	9011,11	8015,32	1206
4	4454,41	4454,41	5219,17	5378,50	4876,62	492
6	2223,86	2223,86	4358,82	4390,68	3299,30	1242
8	1554,70	1554,70	2478,78	2478,78	2016,74	534
10	88,90	88,90	343,83	758,07	319,93	316
12	758,07	758,07	407,55	821,80	686,37	188
16	503,15	503,15	726,21	630,61	590,78	108
20	503,15	503,15	1012,99	1012,99	758,07	294
23	1236,05	1236,05	917,40	1044,86	1108,59	156
24	8118,89	8182,62	7481,59	7577,18	7840,07	362
26	6270,72	6621,23	3434,73	3530,33	4964,25	1717
28	3912,71	3562,19	1076,72	1172,32	2430,98	1516
30	1363,51	1873,35	152,64	88,91	869,60	890
32	407,56	375,69	88,90	88,91	240,26	175
34	375,69	216,37	248,23	343,83	296,03	76
36	535,02	407,56	280,10	152,64	343,83	165
40	662,48	726,21	535,02	471,29	598,75	116
44	566,88	1395,37	598,75	503,15	766,04	421
48	1204,18	1267,91	1044,86	949,26	1116,55	146

Tabela 29 - STV para o controle com o lodo em respiração endógena

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Média	Desvio Padrão
0	13,9320	14,1320	14,0720	14,0453	14,05	0,0838
12	13,1180	12,7140	12,8720	12,9013	12,90	0,1662
23	10,7320	12,1000	10,8640	11,2320	11,23	0,6161
36	12,2120	13,7680	13,0260	13,0020	13,00	0,6355
48	11,4140	11,8860	11,3040	11,5347	11,53	0,2525

Tabela 30 - STV para 0,5 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Média	Desvio Padrão
0	13,9320	14,1320	14,0720	14,0453	14,05	0,0838
12	12,4880	12,4320	12,4880	12,4693	12,47	0,0264
23	10,9180	10,8900	11,1180	10,9753	10,98	0,1015
36	11,7720	13,5300	13,4820	12,9280	12,93	0,8177
48	11,8520	10,4780	10,3440	10,8913	10,89	0,6815

Tabela 31 - STV para 2,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Média	Desvio Padrão
0	13,9320	14,1320	14,0720	14,0453	14,05	0,0838
12	12,3640	12,5980	12,7760	12,5793	12,58	0,1687
23	11,3340	10,9840	11,3400	11,2193	11,22	0,1664
36	13,2120	12,9280	13,4860	13,2087	13,21	0,2278
48	11,5580	11,1300	11,3960	11,3613	11,36	0,1764

Tabela 32 - STV para 4,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Média	Desvio Padrão
0	13,9320	14,1320	14,0720	14,0453	14,05	0,0838
12	12,4720	12,5660	12,6720	12,5700	12,57	0,0817
23	11,2760	11,5960	10,6760	11,1827	11,18	0,3813
36	10,9740	13,5120	13,5900	12,6920	12,69	1,2152
48	10,9980	11,8800	11,3480	11,4087	11,41	0,3626

Tabela 33 - STV para 8,0 mg/L de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Tempo	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Média	Desvio Padrão
0	13,9320	14,1320	14,0720	14,0453	14,05	0,0838
12	13,0280	13,2260	12,7600	13,0047	13,00	0,1910
23	11,4920	10,8940	11,0920	11,1593	11,16	0,2487
36	11,6960	13,8600	12,1580	12,5713	12,57	0,9305
48	11,3300	11,0500	11,0700	11,1500	11,15	0,1275

**ANEXO 3. RESULTADOS ANALÍTICOS DOS ENSAIOS
PRELIMINARES COM BAIXA CONCENTRAÇÃO
DE ÁCIDO FÓLICO COMO LODO SOB
CONDIÇÕES DE RESPIRAÇÃO ENDÓGENA**

Tabela 34 - Acompanhamento da DQO para o controle com o lodo em respiração endógena

Tempo (h)	Ensaio 1 (mg/L)	Ensaio 2 (mg/L)	Ensaio 3 (mg/L)	Ensaio 4 (mg/L)	Média (mg/L)	Desvio Padrão
0	8883,65	8851,78	9584,68	8628,73	8987,21	414
4	5920,20	5792,74	6684,96	5920,20	6079,53	408
8	1267,91	566,88	2255,73	2096,40	1546,73	784
12	1905,21	789,94	1427,24	1204,18	1331,64	465
16	758,07	1076,72	1809,62	1331,64	1244,01	444
20	1937,08	1586,56	2160,13	2160,13	1960,97	271
24	1682,16	1809,62	2287,59	2765,57	2136,23	494

Tabela 35 - Acompanhamento da DQO para 500 ppb de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Tempo (h)	Ensaio 1 (mg/L)	Ensaio 2 (mg/L)	Ensaio 3 (mg/L)	Ensaio 4 (mg/L)	Média (mg/L)	Desvio Padrão
0	8596,86	8788,05	9138,57	8565,00	8772,12	263
4	5474,09	5537,82	6653,10	5729,01	5848,50	547
8	1140,45	789,94	2351,32	2606,24	1721,99	892
12	789,94	949,26	1427,24	1044,86	1052,82	271
16	343,83	343,83	2319,46	821,80	957,23	936
20	1236,05	1236,05	2383,19	1554,70	1602,49	542
24	1108,59	1236,05	2638,11	2192,00	1793,68	742

Tabela 36 - Acompanhamento da DQO para 5,0 ppm de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Tempo (h)	Ensaio 1 (mg/L)	Ensaio 2 (mg/L)	Ensaio 3 (mg/L)	Ensaio 4 (mg/L)	Média (mg/L)	Desvio Padrão
0	8437,54	8692,46	9106,70	8883,65	8780,08	284
4	6270,72	5537,82	6430,04	7354,13	6398,18	746
8	1012,99	1299,78	2287,59	2192,00	1698,09	638
12	917,40	917,40	1714,02	1108,59	1164,35	377
16	726,21	726,21	1427,24	1363,51	1060,79	387
20	2446,92	2446,92	1905,21	1841,48	2160,13	332
24	2128,27	2128,27	2446,92	2542,51	2311,49	215

Tabela 37 - Acompanhamento da DQO para 500 ppm de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Tempo (h)	Ensaio 1 (mg/L)	Ensaio 2 (mg/L)	Ensaio 3 (mg/L)	Ensaio 4 (mg/L)	Média (mg/L)	Desvio Padrão
0	9011,11	9011,11	9361,62	8628,73	9003,14	299
4	5952,07	5920,20	6557,50	6684,96	6278,68	399
8	1012,99	1108,59	2478,78	2096,40	1674,19	726
12	789,94	-	1745,89	758,07	1097,96	561
16	885,53	694,34	1267,91	1140,45	997,06	257
20	2128,27	1076,72	1937,08	2223,86	1841,48	524
24	2606,24	1905,21	2733,70	1937,08	2295,56	436

Tabela 38 - STV para o controle com o lodo em respiração endógena

Tempo (h)	Ensaio 1 (g/L)	Ensaio 2 (g/L)	Ensaio 3 (g/L)	Ensaio 4 (g/L)	Média (g/L)	Desvio Padrão
0	11,0240	10,7180	12,9960	11,7580	11,6240	1,0134
24	10,4460	11,8608	12,0240	11,8880	11,5547	0,7426

Tabela 39 - STV para 500 ppb de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Tempo (h)	Ensaio 1 (g/L)	Ensaio 2 (g/L)	Ensaio 3 (g/L)	Ensaio 4 (g/L)	Média (g/L)	Desvio Padrão
0	11,0240	10,7180	12,9960	11,7580	11,6240	1,0134
24	10,6200	12,7517	12,3960	11,5640	11,8329	0,9495

Tabela 40 - STV para 5,0 ppm de ácido fólico com o lodo em respiração endógena

Tempo (h)	Ensaio 1 (g/L)	Ensaio 2 (g/L)	Ensaio 3 (g/L)	Ensaio 4 (g/L)	Média (g/L)	Desvio Padrão
0	11,0240	10,7180	12,9960	11,7580	11,6240	1,0134
24	11,6840	11,3223	11,6120	11,5280	11,5366	0,1564

Tabela 41 - STV para 500 ppm de ácido fólico

Tempo (h)	Ensaio 1 (g/L)	Ensaio 2 (g/L)	Ensaio 3 (g/L)	Ensaio 4 (g/L)	Média (g/L)	Desvio Padrão
0	11,0240	10,7180	12,9960	11,7580	11,6240	1,0134
24	10,8360	11,8129	12,5560	11,1900	11,5987	0,7552