

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL

**Tratamento de efluente líquido da indústria cítrica por lodo
ativado por batelada (LAB): Tratabilidade e microbiologia.**

ALEXANDRE NUNES PONEZI

Orientador: Prof. Dr. Roberto Feijó de Figueiredo

Dissertação de Doutorado apresentada à Comissão de pós-graduação da Faculdade de Engenharia Civil da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Engenharia Civil, na área de concentração de Saneamento e Ambiente.

Campinas
Agosto de 2000

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL

Atesto que esta é a versão definitiva da dissertação/tese.	
	15/3/01
Prof. Dr. Roberto Feijó de Figueiredo	
Matrícula: 45373	

**Tratamento de efluente líquido da indústria cítrica por lodo
ativado por batelada (LAB): Tratabilidade e microbiologia.**

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

ALEXANDRE NUNES PONEZI

Campinas
Agosto de 2000



UNIDADE C D E
 N.º CHAMADA:
T/UNICAMP
P773t
 V. Ex.
 TOMBO BC/ 46745
 PRO. 16.392107
 C ☐ D ☒
 PREÇO R\$ 11,00
 DATA 04/08/07
 N.º CPD

CM00158391-1

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
 BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA - BAE - UNICAMP

P773t Ponezi, Alexandre Nunes
 Tratamento de efluente líquido da indústria cítrica por
 lodo ativado por batelada (LAB): tratabilidade e
 microbiologia / Alexandre Nunes Ponezi.--Campinas, SP:
 [s.n.], 2000.

Orientador: Roberto Feijó de Figueiredo.
 Tese (doutorado) - Universidade Estadual de
 Campinas, Faculdade de Engenharia Civil.

1. Águas residuais – Purificação – Tratamento
 biológico. 2. Águas residuais - Microbiologia. 3. Enzimas
 - Análise. I. Figueiredo, Roberto Feijó. II. Universidade
 Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Civil. III.
 Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL

**Tratamento de efluente líquido da indústria cítrica por lodo
ativado por batelada (LAB): Tratabilidade e microbiologia.**

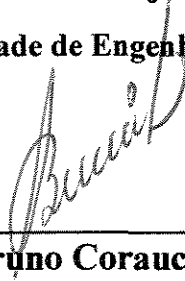
ALEXANDRE NUNES PONEZI

Dissertação de Doutorado aprovada pela Banca Examinadora, constituída por:



Prof. Dr. Roberto Feijó de Figueiredo

Presidente e Orientador/ Faculdade de Engenharia Civil FEC/UNICAMP



Prof. Dr. Bruno Coraucci Filho

Faculdade de Engenharia Civil FEC/UNICAMP



Prof. Dr. Ranulfo Monte Alegre

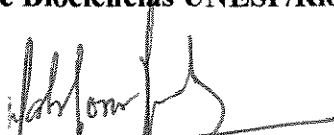
Faculdade de Engenharia de Alimentos FEA/UNICAMP

Campinas, 31 de agosto de 2000



Prof.a Dra. Dejanira de Francechi de Angelis

Instituto de Biociências UNESP/Rio Claro



Prof. Dr. Carlos Gomes da Neve Mendes

Faculdade de Engenharia Civil FEC/UNICAMP

Campinas, 31 de agosto de 2000

Dedicatória

**Aos meus Pais, Avós e minha
família, Marta, Nina e Tami.**

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Roberto Feijó de Figueiredo pela orientação e apoio no desenvolvimento do trabalho.

Ao Prof. Dr. Bruno Coraucci Filho pela Co-orientação e apoio no desenvolvimento da parte prática do trabalho.

Aos professores do Departamento de Hidráulica e Saneamento da FEC pelas informações dadas no decorrer do desenvolvimento do trabalho.

Aos amigos do CPQBA/UNICAMP pelo apoio, treinamento e compreensão durante todos estes anos.

À FAPESP pelo apoio dado no auxílio no desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço principalmente à minha amiga e esposa Marta Cristina Teixeira Duarte pela ajuda dada na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS	xxv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xxxi
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES.....	xli
Resumo.....	xlvi
Abstract.....	xxvi
1. INTRODUÇÃO.....	3
2. OBJETIVOS	7
2. 1. OBJETIVO GERAL	7
2. 2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
3. 1. Caracterização de Águas Residuárias.....	12
3. 2. Princípios de Tratamento de Águas Residuárias	13
3. 3. Ecologia de Reatores Biológicos	15

3. 3. 1. Os Protistas	15
3. 3. 2. Estrutura das Células Procarióticas	17
3. 3. 3. Estrutura das Células Eucarióticas	18
3. 3. 4. Interação entre as Comunidades Microbianas	22
3. 3. 4. 1. Natureza Geral das Interações Microbianas	22
3. 3. 5. Ecossistemas Microbianos em Operações Bioquímicas	25
3. 3. 6. Cinética dos Sistemas Bioquímicos	29
3. 3. 6. 1. Propriedade Geral das Enzimas	29
3. 3. 6. 2. Mecanismos de Ação da Enzima	33
3. 3. 6. 3. Velocidade das Reações Enzimáticas	34
3. 3. 6. 4. A equação de Michaelis & Menten	35
3. 3. 6. 5. Transformações da Equação de Michaelis & Menten: O Gráfico Duplo- Recíproco	41
3. 3. 7. Classificação das Enzimas	43
3. 3. 8. Inibidores Enzimáticos	43
3. 3. 8. 1 Testes Cinéticos para Distinguir Inibição Competitiva e Não Competitiva	45
3. 4. Princípios Biológicos do Tratamento de Águas Residuárias	47
3. 4. 1. Tratamento Biológico Aeróbio	49
3. 4. 2. Microbiologia de Lodos Ativados	49
3. 4. 2. 1. Nutrição	50
3. 4. 2. 2. Respiração	53
3. 4. 2. 3. Crescimento Bacteriano	54

3. 4. 2. 4. Reprodução	56
3. 5. Microrganismos no Processo de Lodos Ativados.....	57
3. 5. 1. Principais Microrganismos Envolvidos no Processo de Lodo Ativado	60
3. 5. 1. 1. Bactérias.....	60
3. 5. 1. 2. Fungos.....	61
3. 5. 1. 3. Microfauna	61
3. 6. Sistemas de Lodos Ativados	62
3. 6. 1. Impactos Ambientais do Sistema de Lodos Ativados.....	65
3. 6. 2. Fases do Sistema de Lodos Ativados	68
3. 6. 3. Principais Componentes do Sistema de Lodos Ativados do Tipo Convencional.....	69
3. 6. 4. Tipos de Reatores Utilizados em Sistema de Tratamento por Lodos Ativados.....	70
3. 6. 4. 1. Reatores de Mistura Completa e Fluxo Contínuo	70
3. 6. 4. 2. Reatores Tipo “Plug-Flow”.....	71
3. 6. 4. 3. Reatores Intermitentes	72
3. 7. Lodos Ativados Intermitentes.....	73
3. 7. 1. Períodos de Operação de Sistema de Lodos Ativados por Batelada.....	74
3. 7. 2. Vantagens em Relação ao Sistema Convencional.	76
3. 7. 3. Desvantagens em Relação ao Sistema Convencional	78
3. 8. Considerações Sobre o Projeto para Sistema de Lodos Ativados	78
3. 8. 1. Seleção do Tipo de Reator.....	78
3. 8. 2. Critério de Carga.....	79
3. 8. 3. Produção de Lodo	83

3. 8. 4. Necessidade de Oxigênio	84
3. 8. 5 Necessidade de Nutrientes	84
3. 8. 6. Controle de Organismos Filamentosos	85
3. 8. 7. Características do Efluente Líquido Final	85
3. 9. Parâmetros Operacionais da Estação de Tratamento de Águas Residuárias	86
3. 9. 1. Índice Volumétrico do Lodo	87
3. 9. 2. Velocidade de Sedimentação Zonal.....	88
3. 9. 3. Índice Volumétrico do Lodo com Agitação.....	88
3. 9. 4. Razão Alimento/ Microrganismo (F/M)	89
3. 9. 5. Idade do Lodo (Tempo Médio de Detenção Celular)	90
3. 9. 6. Tratamento do Lodo.....	90
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	93
4. 1. Água Residuária Gerada na Indústria.....	93
4. 2. Descrição e Montagem da Unidade Piloto	94
4. 3. Operação do Sistema.....	95
4. 4. Dosagem de Nutrientes	98
4. 5. Correção de pH.....	99
4. 6. Adaptação do Lodo.....	99
4. 7. Amostragem.....	103
4. 8. Coleta, Acondicionamento e Conservação do Efluente Bruto.....	103
4. 9. Análises do Efluente Industrial e do Efluente do Sistema LAB.....	103
4. 9. 1. Parâmetros Físico-Químicos e Biológicos	103

4. 9. 2. Análise dos Subprodutos Gerados Durante o Processo de Tratamento	104
4. 9. 2. 1. Pré-tratamento das Amostras	105
4. 9. 2. 2. Extração de Compostos Presentes no Efluente Cítrico	105
4. 9. 2. 3. Análise dos Bioprodutos Exógenos do Efluente Após o Tratamento	106
4. 9. 3. Determinação de Proteínas	107
4. 9. 3. 1. Preparo do Reagente Coomassie Brilliant Blue G-250	108
4. 9. 3. 2. Elaboração da Reta Padrão de Proteína.....	108
4. 9. 4. Atividade enzimática.....	108
4. 9. 4. 1. Ensaio para atividade de enzimas proteolíticas.....	108
4. 9. 4. 2. Ensaio para Atividade de Enzimas Pectinolíticas	109
4. 9. 5. Determinação de açúcares redutores totais (ART)	110
4. 9. 5. 1. Preparo do reagente do ADNS.....	110
4. 10. Isolamento e Quantificação de Microrganismos	110
4. 10. 1. Caracterização Morfológica dos Microrganismos.....	110
4. 10. 2. Identificação dos Microrganismos.....	110
5. Resultados e Discussão.....	111
5. 1. Características do Despejo Cítrico	111
5. 2. Adaptação do Lodo.....	112
5. 3. Comportamento do Lodo Durante o Experimento	113
5. 4. Dosagem de Nutrientes	117
5. 5. Comportamento do pH.....	122
5. 6. Controle da Concentração de Oxigênio Dissolvido nos Reatores.....	122

5. 7. Sólidos Sedimentáveis	123
5. 8. Sólidos Suspensos	123
5. 9. Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	131
5. 10. Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)	131
5. 11. Análise da Biodegradação do Efluente Cítrico Durante o Período de Reação por Espectrofotometria de Massa.	145
5. 12. Isolamento e Quantificação dos Microrganismos Presentes nos Reatores Durante o Período de Tratamento.....	160
5. 13. Dosagem de Proteínas, Recuperação de Enzimas e Teste de Atividade Enzimática.....	177
5. 14. Efeito do Período de Repouso nos Reatores para Nova Recarga.....	179
6. Conclusões.....	185
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	189
Anexo I	197

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação internacional das enzimas -----	43
Tabela 2 - Agrupamento de organismos de diversos gêneros presentes em sistema LAB. -----	62
Tabela 3 - Possíveis métodos de controle de ruídos de aeradores. -----	66
Tabela 4 - Grau de aerossolização de germes por vários tipos de aeradores. -----	67
Tabela 5 - Tempo de duração de cada ciclo na primeira etapa dos experimentos. -----	96
Tabela 6 - Tempo de duração de cada ciclo na segunda etapa dos experimentos. -----	96
Tabela 7 - Valores médios dos parâmetros obtidos na caracterização do efluente cítrico bruto. -----	111
Tabela 8 - Concentração de sólidos suspensos no lodo durante o período de adaptação. -----	113
Tabela 9 - Comportamento do lodo durante o período de experimento. -----	118
Tabela 10 - Relação entre DBO: N: P no efluente industrial cítrico e concentrações necessárias para correção desses parâmetros durante o experimento. -----	121
Tabela 11 - Remoção de Sólidos Sedimentáveis (SS) nos reatores. -----	124

Tabela 12 – Porcentagem de remoção de sólidos suspensos totais (SST) nos reatores após o ciclo de 8 h, com um volume de 10 L de despejo cítrico. -----	125
Tabela 13 - Porcentagem de remoção de sólidos suspensos fixos (SSF) nos reatores. -----	126
Tabela 14 - Porcentagem de remoção de sólidos suspensos voláteis (SSV) nos reatores. -----	127
Tabela 15 – Remoção de DQO (mgO_2 /L) nos reatores durante o período de experimento. ----	132
Tabela 16 - Remoção de DBO (mgO_2 /L) nos reatores durante o período de experimento. -----	133
Tabela 17 – Porcentagem de remoção de SST, SSF, e SSV nos reatores após a redução dos volumes aplicados. -----	134
Tabela 18 – Porcentagem de remoção de DQO e DBO nos reatores após a redução dos volumes aplicados. -----	135
Tabela 19 – Porcentagem de remoção de SST, SSF, e SSV nos reatores após o aumento do tempo de detenção hidráulico. -----	140
Tabela 20 – Porcentagem de remoção de DQO e DBO, nos reatores após o aumento do tempo de detenção hidráulico. -----	141
Tabela 21 - Compostos químicos no efluente cítrico bruto, identificados através de espectrofotômetro de massa. -----	149
Tabela 22 - Compostos químicos no efluente cítrico bruto, identificados em espectrofotômetro de massa após o período de reação de 3 horas. -----	151
Tabela 23 - Compostos químicos no efluente cítrico bruto, identificados em espectrofotômetro de massa após o período de reação de 6 horas. -----	153
Tabela 24 - Compostos químicos no efluente cítrico bruto, identificados em espectrofotômetro de massa obtidos após o período de reação de 9 horas. -----	155

Tabela 25 - Compostos químicos no efluente cítrico bruto, identificados em espectrofotômetro de massa após o período de reação de 12 horas. -----	157
Tabela 26 - Compostos químicos no efluente cítrico bruto, identificados em espectrofotômetro de massa após o período de reação de 15 horas. -----	159
Tabela 27 - Unidades formadoras de colônias (UFC) isoladas dos reatores após o período de enchimento e durante o período de reação de 15 horas. -----	160
Tabela 28 - Identificação dos microrganismos encontrados nos reatores no tratamento de efluente cítrico. -----	162
Tabela 29 - Quantidade e tipos de colônias isoladas durante o período de reação. -----	163
Tabela 30 - Efeito do período de repouso na eficiência de remoção de sólidos nos reatores durante o período do experimento. -----	180
Tabela 31 - Efeito do período de repouso na eficiência de remoção de DQO nos reatores durante o período de repouso. -----	183
Tabela 32 - Efeito do período de repouso nos reatores em relação ao número de microrganismos durante o período de repouso. -----	184

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama típico de uma células Procarióticas. -----	17
Figura 2 - Diagrama típico de uma células Eucariótica-----	19
Figura 3 - Diagrama ilustrativo da interação da complexidade dos ecossistemas microbianos. --	23
Figura 4 - Esquema representativo da velocidade de reações químicas não catalisada (A) e catalisada (B). -----	36
Figura 5 - Efeito da concentração de substrato na velocidade inicial de uma reação catalisada enzimaticamente. -----	36
Figura 6 - Gráfico representativo da equação proposta por Lineweaver-Burk. -----	42
Figura 7 - Inibição competitiva -----	46
Figura 8 - Inibição não competitiva -----	46
Figura 9 - Modelo de curva de crescimento bacteriano em culturas puras. -----	54
Figura 10 - Esquema do processo de lodos ativados. -----	56
Figura 11 - Ciclo das condições impostas no reator de uma SRB-----	74
Figura 12 - Esquema de tratamento do despejo cítrico.-----	97

Figura 13 - Fluxograma da metodologia de adaptação do lodo. -----	101
Figura 14 – Fluxograma representativo da separação e purificação de enzimas do efluente tratado. -----	107
Figura 15 - Concentração de SST nos reatores durante o período de adaptação do lodo.-----	115
Figura 16 - Concentração de SSF nos reatores durante o período de adaptação do lodo. -----	115
Figura 17 - Concentração de SSV nos reatores durante o período de adaptação do lodo. -----	115
Figura 18 - Concentração de SST do lodo durante o período do experimento. -----	119
Figura 19 - Concentração de SSF no lodo durante o período do experimento.-----	119
Figura 20 - Concentração de SSV no lodo durante o período do experimento. -----	119
Figura 21 – Concentrações de nitrogênio e fósforo necessárias para atender a relação DBO:N:P e concentrações dos mesmos nutrientes no efluente bruto.-----	121
Figura 22 – Eficiência de remoção de sólidos suspensos totais (SST) nos reatores após o período de reação de 8 h, com um volume de 10 L de despejo cítrico. -----	129
Figura 23 - Eficiência de remoção de sólidos suspensos fixos (SSF) nos reatores após o período total de reação de 8 h, com um volume total de 10 L de despejo cítrico. -----	129
Figura 24 - Eficiência de remoção de sólidos suspensos totais (SSV) nos reatores após o período total de reação de 8 h, com um volume total de 10 L de despejo cítrico. -----	129
Figura 25 – Porcentagem de remoção de DQO (mgO_2/L) nos reatores após a redução do volume de resíduo industrial aplicado. -----	137
Figura 26 - Porcentagem de remoção de DBO (mgO_2/L) nos reatores após a redução do volume de resíduo industrial aplicado. -----	137

Figura 27- Porcentagem de remoção de DQO (mgO_2/L) nos reatores após o aumento do tempo de detenção hidráulico. -----	143
Figura 28– Porcentagem de remoção de DBO (mgO_2/L) nos reatores após o aumento do tempo de detenção hidráulico. -----	143
Figura 29 - Espectrograma do efluente cítrico bruto analisado através de detetor de massa. ---	148
Figura 30 - Espectrograma do efluente cítrico analisado através de detetor de massa após o período de 3 horas de reação -----	150
Figura 31- Espectrograma do efluente cítrico analisado através de detetor de massa após o período de 6 horas de reação -----	152
Figura 32 - Espectrograma do efluente cítrico analisado através de detetor de massa após o período de 9 horas de reação -----	154
Figura 33 - Espectrograma do efluente cítrico analisado através de detetor de massa após o período de 12 horas de reação -----	156
Figura 34 - Espectrograma do efluente cítrico analisado através de detetor de massa após o período de 15 horas de reação. -----	158
Figura 35 - Gráfico representativo do número de colônias ($\text{UFC} \times 10^6/\text{mL}$) isoladas dos reatores após o período de enchimento e durante o período de reação de 15 horas. -----	161
Figura 36 - <i>Serratia marcescens</i> (LAB-1) bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio -agar nutriente) -----	167
Figura 37 - <i>Geotrichum klebahnii</i> (LAB- 2) Levedura isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio -agar nutriente) -----	167

Figura 38 - (LAB-3) Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente)-----	169
Figura 39 - <i>Pseudomonas stutzeri</i> (LAB-4) Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente) -----	169
Figura 40 - (LAB-5) Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente)-----	171
Figura 41 - (LAB-6) Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente)-----	171
Figura 42 - (LAB-7) Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente)-----	173
Figura 43 - (LAB-8a) <i>Achromobacter xylosoxidans</i> subsp. <i>denitrificans</i> Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio -agar nutriente)-----	173
Figura 44 - (LAB-9) <i>Pseudomonas stutzeri</i> Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente) -----	175
Figura 45 - (LAB-10) <i>Clavibacter michiganensis</i> Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente) -----	175
Figura 46 - Eficiência de remoção de sólidos suspensos totais (SST) após o período de repouso. -----	181
Figura 47 - Eficiência de remoção de sólidos suspensos fixos (SSF) após o período de repouso. -----	181

Figura 48 - Eficiência de remoção de sólidos suspensos voláteis (SSV) após o período de repouso. -----	181
Figura 49 - Efeito do período de repouso na eficiência de remoção de DQO nos reatores durante o período de experimento. -----	183
Figura 50 - Número de unidades formadoras de colônias (UFC) isoladas do lodo dos reatores após o período de repouso. -----	184

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

K _m	Constante de Michaelis e Menten
V _{máx.}	Velocidade máxima
[S]	Concentração de substrato
[E]	Concentração de enzima
[ES]	Concentração enzima substrato
[P]	Produto
E _t	Concentração total de enzima (soma enzima livre e combinada)
V _o	Velocidade inicial de reação
UFC	Unidade formadora de colônia
DBO	Demanda biológica de oxigênio
DQO	Demanda Química de oxigênio
SSTA	Sólidos suspensos totais amostrados
F/M	Razão alimento microrganismo
S _o	DBO afluente ou concentração de DQO, g/m ³
θ _H	Tempo de detenção hidráulico do tanque de aeração = V _r / Q _a , d
V _r	Volume do tanque de aeração, m ³
Q _a	Vazão do esgoto afluente, m ³ / d

X	Concentração de sólidos suspensos voláteis no tanque de aeração, g/m^3
θ_c	Tempo de detenção celular, baseado no volume do tanque de aeração, d,
Q_d	Vazão de descarte de lodo, m^3/d
X_d	Concentração de sólidos suspensos voláteis no descarte de lodo, g/m^3
Q_e	Vazão do efluente tratado, m^3/d ,
X_e	Concentração de sólidos suspensos voláteis no efluente tratado, g/m^3
θ_{ct}	Tempo de detenção celular baseado no sistema total, d
X_t	Massa total de sólidos suspensos voláteis no sistema, incluindo os sólidos no tanque de aeração, no tanque de sedimentação e nas instalações de retorno de lodo, g.
Y	Coeficiente de produção celular, g de células produzidas/g de matéria orgânica removida,
E	Eficiência do processo. %,
K_d	Coeficiente de decaimento endógeno, tempo^{-1} .
P_x	Descarte de lodo ativado produzido por dia, medido em termos de sólidos suspensos voláteis, kg/d ,
Y_{obs}	Coeficiente de produção celular observado, g/g ,
Q_a	Vazão de esgoto afluente, m^3/d ,
S	DBO efluente ou concentração de DQO, g/m^3 ,
LAB	Lodo ativado por batelada
FID	Cromatografia gasosa com detetor de ionização de chama
MSD	Cromatografia gasosa com detetor seletivo de massa
FPLC	Sistema de cromatografia líquida de baixa pressão
ADNS	Ácido dinitro salicílico

SSV	Sólidos suspensos voláteis
SST	Sólidos suspensos totais
SSF	Sólidos suspensos fixos
TR/TE	Relação tempo de reação/tempo de enchimento do reator
NEM	n-etilmaleimida
PMFS	Fenilmetanosulfonil fluoreto
NBS	n-bromosuccinamida

Resumo

PONEZI, ALEXANDRE NUNES - Tratamento de efluente líquido por lodo ativado por batelada (LAB): Tratabilidade e microbiologia. Campinas, Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas, 2000. n° pág. 210. Dissertação de Doutorado.

Este estudo, em escala piloto de laboratório, teve por objetivos verificar a aplicabilidade do processo de Lodos Ativados por Batelada (LAB) no tratamento das águas residuárias do processamento de frutas cítricas, bem como determinar as características microbiológicas do lodo e estudos dos subprodutos formados para este tipo de efluente.

Para o desenvolvimento do experimento foram utilizados dois reatores construídos em acrílico aos quais foi aplicado ar comprimido. Os resultados mostraram que os reatores comportaram-se satisfatoriamente na eficiência de remoção de DBO e DQO, alcançando valores de 79 e 78% respectivamente. Foi observado também um aumento da remoção da matéria orgânica com o aumento do período de detenção hidráulico de 8 para 14 horas e redução do volume do despejo cítrico em 4 litros. A remoção de sólidos suspensos foi de 98% em ambos os reatores durante todo o período de experimento. As características microbiológicas do lodo foram determinadas por microscopia e contagem de colônias em placas de Petri. Os estudos da microbiologia do sistema permitiu distinguir os diferentes tipos de microrganismos presentes durante o processo de reação. O número e tipos de colônias variaram conforme o tempo,

ocorrendo uma sucessão destes durante a biodegradação do efluente. As análises de biodegradação do efluente cítrico durante o período de reação feitas através de espectrofotometria de massa, permitiram verificar a degradação dos compostos desse efluente pelos microrganismos. A recuperação de enzimas do efluente tratado mostrou ser possível com uma recuperação de 0,68mg/mL de enzimas pectinolíticas, e 0,50mg/mL de enzimas proteolíticas, embora com baixa atividade. O período de repouso para nova recarga de efluente mostrou ser crítico para a manutenção da eficiência de remoção da matéria orgânica nos reatores. Períodos acima de 4 horas de repouso ocasionaram uma queda na eficiência de cerca de 50% na DQO e uma diminuição do número de microrganismos.

Palavras Chave: Sistema de Lodo Ativado por Batelada; Efluente cítrico; Microbiologia;

ABSTRACT

PONEZI, ALEXANDRE NUNES - Treatment of liquid wastewater for activated sludge (SRB): Treatment and microbiology. Campinas, University of Civil Engineering, State University of Campinas, 2000. pp - 210. Dissertation of Doctorate.

The aim of this study, in pilot scale of laboratory, was to verify the applicability of the Activated Sludge Process (SRB) on the wastewaters treatment of the processing of citric fruits, as well as to determine the microbiological characteristics of the sludge and to study the by-products formed for this wastewater.

For this purpose two reactors were built in acrylic and compressed air was applied. The results showed that the reactors were efficient in the removal of DBO and DQO, reaching values of 79 and 78% respectively. It was also observed an increase of the removal of the organic matter with the increase of the hydraulic detention period from 8 to 14 hours, and reduction of the volume of the citric spilling to 4 liters. The removal of suspended solids was of 98% in both reactors during the experiment. The microbiological characteristics of the sludge were observed by microscopie and counting of colonies in Petri dishes plates. The studies of the microbiology of the system allowed to distinguish the different types of microorganisms during the reaction process. The number and types of colonies varied according to the time, occurring a succession of these during the biodegradation of the wastewater. The analyses of biodegradation of the citric wastewater during the reaction period by means of mass espectrofotometry, allowed to verify the degradation of the compounds by the microorganisms. The recovery of the enzymes from the treated wastewater showed to be possible with a recovery of 0,68mg/mL of pectinolytic enzymes,

and 0,50mg/mL of proteolitics enzymes. The rest period for new wastewater recharge showed to be critical for the maintenance of the efficiency of organic matter removal in the reactors. Periods above 4 hours of rest caused a fall in the efficiency about 50% in DQO and a decrease of the number of microorganisms.

Words Key: Activated sludge process; Citric wastewater; Microbiology.

“Waste treatment is a means of maintaining or recovering man’s most precious and most abused natural resource, fresh water. Fresh water supplies were all important in the establishment and growth of civilizations. Much of man’s bitterest fighting has been incited by altercations over rights, and the course of history may well be written around the theme of primitive and modern man’s need water.”

Nandor Porges

(O tratamento dos detritos é um modo de manter e recuperar a mais preciosa e mais abusada fonte natural do homem, a água fresca. Os suprimentos de água fresca foram muito importantess no estabelecimento e no crescimento das civilizações. Muitas das lutas mais amargas do homem foram incitadas pela disputa a respeito dos direitos sobre águas e o curso da história pode ser muito bem descrito em torno do tema da primitiva e moderna necessidade do homem pela água.)

Nandor Porges

1. INTRODUÇÃO

A utilização de microrganismos na preservação e recuperação de ecossistemas que sofreram, e continuam sofrendo, as consequências das atividades humanas, constitui um instrumento para a biotecnologia ambiental de inestimável valor. O emprego de microrganismos em saneamento não se restringe somente às tecnologias de tratamento de resíduos líquidos e sólidos, pois tradicionalmente, é prática comum avaliar e certificar a qualidade da água para o abastecimento público através de indicadores microbianos, ou realizar testes de toxicidade cuja resposta microbiana resulta na definição do caráter tóxico de uma amostra ambiental. Recentemente, tem-se observado um maior interesse no desenvolvimento de sistemas biológicos (biorreatores) capazes de promover a degradação de poluentes recalcitrantes e perigosos ao meio ambiente, pela ação de determinadas espécies de microrganismos. A versatilidade metabólica de bactérias e fungos é atualmente explorada pelo menos em duas áreas de maior impacto para o saneamento ambiental: tratamento biológico (biotratamento) de resíduos líquidos e sólidos através de biorreatores com as mais variadas configurações; e biorremediação (VAZOLLER, 1997).

A capacidade microbiana em catabolizar diferentes compostos orgânicos naturais ou sintéticos, e inorgânicos, extraído destes substratos fontes nutricionais e energéticas, é o que possibilitou o uso de agentes biológicos como solução aos problemas gerados pelo lançamento de rejeitos ao meio ambiente. A habilidade dos microrganismos para degradar diferentes compostos é consequência da evolução dos sistemas enzimáticos das células destes organismos. Esta resposta

ao metabolismo de certos microrganismos, sem dúvida, tem conferido algumas vantagens adicionais à biotecnologia ambiental, tais como a exploração de novos nichos ecológicos (VAZOLLER, 1997).

Os processos biológicos de tratamento devem atender alguns aspectos sanitários importantes como: remoção da matéria orgânica, degradação de compostos químicos orgânicos recalcitrantes, dentre outros. Esses processos incorporam uma variedade de espécies microbianas, e portanto, uma versatilidade metabólica bastante grande. Os agentes biológicos mais importantes na degradação da matéria orgânica poluente são as bactérias, que se desenvolvem no sistema mediante condições controladas de operação dos reatores, do tipo da água residuária a ser tratada, e presença ou não de oxigênio.

Os processos biológicos de tratamento estão relacionados diretamente ao metabolismo microbiano que selecionam. Em outras palavras, os biorreatores que operam sob condições de aeração, possibilitam o desenvolvimento de microrganismos aeróbios que oxidam as moléculas orgânicas através da respiração aeróbia (processos biológicos aeróbios de tratamento). Nos biorreatores anaeróbios, por sua vez, são selecionados microrganismos capazes de crescer através da fermentação ou da respiração anaeróbia (processos biológicos anaeróbios de tratamento). Em geral os microrganismos atuam em conjunto nos processos biológicos, formando uma verdadeira cadeia alimentar de espécies diferentes, com interações nutricionais facultativas e obrigatórias que estimulam a formação de flocos, agregados ou filmes microbianos (biofilmes). São exemplos comuns os seguintes processos: lodos ativados, filtros biológicos, lagoas aeradas, lagoas de estabilização, sistemas de desnitrificação, biodigestores anaeróbios e aterros sanitários (VAZOLLER, 1997).

A evolução tecnológica do biotratamento aeróbio e anaeróbio tem resultados em diversas soluções para as águas residuárias, porém mais restritas para os resíduos sólidos. Os obstáculos ao desenvolvimento de novos processos biotecnológicos podem ser identificados pela falta de conhecimento dos fundamentos dos sistemas biológicos empregados na “purificação” dos ambientes afetados por poluentes. A pequena compreensão dos sistemas biológicos não impede

sua aplicação com bons resultados para o ambiente, mas com certeza, não permite a exploração máxima do potencial microbiano (VAZOLLER, 1997).

No Brasil, atualmente, os esforços desenvolvidos para a elucidação da microbiologia ambiental são incipientes se comparados àqueles nos países desenvolvidos. Os estudos se concentram em maior intensidade na microbiologia de águas de abastecimento, controle de qualidade de mananciais e avaliação experimental da biodegradação de compostos poluentes, e em menor escala na microbiologia dos processos de tratamento de resíduos, que necessariamente envolve técnicas de identificação microbiana avançadas, estudos fisiológicos e conhecimento dos processos de engenharia sanitária. Porém é evidente o grande interesse às linhas de pesquisa que contemplam a avaliação microbiológica de biorreatores aplicados ao tratamento de resíduos, não somente pela sua importância intrínseca, mas também devido ao melhor conhecimento da diversidade microbiana existente nos ecossistemas brasileiros (VAZOLLER, 1997).

Um estudo mais detalhado dos microrganismos envolvidos no processo de biodegradação da matéria orgânica, através de tratamento biológico aeróbio de resíduos por Lodos Ativos por Batelada (LAB), se faz necessário para um melhor entendimento do processo de biodegradação do efluente, durante os ciclos do sistema de lodo ativado por batelada, principalmente durante a fase de repouso do lodo.

Nesse trabalho serão estudados os microrganismos envolvidos no processo de biodegradação de um efluente cítrico, dando maior ênfase ao sistema de lodos ativados por batelada, tecnologia que vem ganhando espaço na solução de problemas ambientais, no Brasil e no mundo, apoiada na sua grande facilidade e flexibilidade operacional, e excelente relação custo/benefício. Serão também abordados os aspectos microbiológicos do sistema LAB, bem como a recuperação de produtos biologicamente ativos oriundos do processo.

2. OBJETIVOS

2. 1. OBJETIVO GERAL

Este trabalho visa o uso do reator biológico de lodo ativado de fluxo intermitente, conhecido como Lodo Ativado por Batelada (LAB) no tratamento de um efluente líquido industrial, utilizando-se do conhecimento da microbiologia envolvida no processo e os aspectos de sua biodegradabilidade.

2. 2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Serão abordados os seguintes parâmetros:

- a) montagem, partida e operação do sistema LAB;
- b) quantificação e identificação dos principais microrganismos encontrados no efluente bruto, e daqueles envolvidos no processo biológico nas diversas etapas do ciclo de tratamento, e no equilíbrio;
- c) estudo da viabilidade celular nas diversas etapas do ciclo de tratamento;

- d) estudo da viabilidade do lodo na etapa de repouso, observando o comportamento deste sob condições diversas;
- e) verificação da eficiência do processo na degradação do efluente líquido industrial, incluindo a variação da concentração de subprodutos produzidos durante os ciclos;
- f) correlacionar os itens “C” e “B”
- g) recuperação e identificação de enzimas extracelulares (se existentes) oriundas do sobrenadante à etapa de sedimentação.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Conforme estudo feito por BRANCO (1991), os dois principais motivos para que haja um sistema eficiente de tratamento de esgotos, são:

- a) proteção da saúde pública, reduzindo as chances de transmissão de doenças de veiculação hídrica por organismos patogênicos; e
- b) controle da poluição das águas superficiais e subterrâneas.

No projeto de sistemas de tratamento para o controle da poluição ambiental, a legislação vigente exige que os recursos hídricos sejam protegidos por sistemas de tratamento de efluentes e determinados padrões de classificação dos corpos d'água. Nesses sistemas, leva-se em conta não apenas as concentrações das substâncias a serem lançadas num corpo d'água (padrões de emissão), mas também a massa de contaminantes que possa ser lançada nele, de modo a não prejudicar seus possíveis usos.

Os órgãos ambientais de fiscalização, antes de licenciarem cada novo empreendimento que utilize os recursos hídricos, verificam se serão atendidos os padrões de emissão e se a classificação do corpo d'água, segundo a legislação vigente, não será ultrapassada, concedendo então, a licença de instalação e operação.

Conforme citado por ECKENFELDER (1989), a escolha dos processos a serem utilizados no tratamento de águas residuárias, de um modo geral, depende dos seguintes itens:

a) características das águas residuárias: deve-se considerar a forma do poluente (suspensos, coloidais ou dissolvidos), a biodegradabilidade e a toxicidade dos componentes orgânicos e inorgânicos;

b) qualidade necessária do afluente: deve-se considerar os limites impostos pela legislação quanto aos padrões de emissão do efluente tratado; e

c) os custos e a disponibilidade de área para qualquer eventual problema. A análise detalhada do custo - benefício deve ser feita antes da seleção do projeto final.

Dependendo da natureza da indústria, vários constituintes devem ser removidos desse despejo industrial, antes de ser lançado ao corpo receptor, como:

a) orgânicos solúveis, causando a depleção do oxigênio dissolvido. Os corpos d'água necessitam manter um oxigênio dissolvido mínimo, portanto, a quantidade de orgânicos solúveis está restrita à capacidade de assimilação ou às limitações específicas do efluente;

b) sólidos suspensos, o depósito de sólidos em trechos estacionários do rio prejudica a vida aquática normal. Serão formados mantos de lodo que contêm sólidos orgânicos, resultando na depleção do oxigênio e na produção de gases nocivos;

c) compostos orgânicos indicadores, os fenóis e outros compostos orgânicos descartados nos despejos industriais, causam gosto e odor na água. Se esses contaminantes não forem removidos antes do descarte, é necessário um tratamento adicional, principalmente se a água do corpo receptor desse despejo for usada para o abastecimento público;

d) metais pesados, cianetos e orgânicos tóxicos. A “United States Environmental Protection Agency” (USEPA) tem definida uma lista de limites da quantidade de elementos e compostos orgânicos tóxicos e de compostos químicos inorgânicos no efluente industrial;

e) cor e turbidez. Apresentam problemas estéticos e podem não ser nocivos para vários usos da água que os contém. Em algumas indústrias de papel e celulose, não estão disponíveis métodos econômicos para remoção de cor;

f) nitrogênio e fósforo. Quando os efluentes são descartados em lagos ou qualquer outra área de recreação, é indesejável a presença de nitrogênio e fósforo, uma vez que provoca o aumento da eutrofização e estimula o crescimento indesejável de algas;

g) substâncias refratárias resistentes à biodegradação. Podem ser indesejáveis para determinadas necessidades de qualidade de água. O alquilbenzenossulfonato (ABS) que existe nos detergentes, é substancialmente não degradável e freqüentemente produz espuma nos cursos d'água. Alguns compostos refratários orgânicos são tóxicos para a vida aquática;

h) óleo e material flutuante. Produzem condições desagradáveis e em muitos casos são limitados por regulamentos; e

i) materiais voláteis. O gás sulfídrico e outros orgânicos voláteis criam problemas de poluição atmosférica e são usualmente restritos por regulamentos.

Os rios possuem a capacidade de promover a sua autodepuração, através de estabilização biológica da matéria orgânica contida nos despejos lançados. Isto se dá através da respiração celular das bactérias que oxidam os compostos orgânicos. Em rios poluídos, há uma deficiência de oxigênio, causando a destruição da vida aquática e impossibilitando o uso direto ou indireto dessas águas. Assim, é importante se fazer o tratamento de qualquer tipo de esgoto antes que seja lançado em corpos d'água receptores.

O tratamento biológico feito em estações de tratamento de esgotos simula o princípio da autodepuração citado. Um dos mais utilizados é o sistema de lodos ativados, onde a biomassa microbiana promove o tratamento, permitindo uma eficiência elevada.

Os processos biológicos têm como objetivo principal a decomposição de materiais orgânicos através do metabolismo celular dos microrganismos. Estes processos, que são os mais importantes no tratamento dos esgotos sanitários e despejos industriais biodegradáveis, fundamentam-se no aproveitamento do trabalho natural de biodegradação dos organismos para a estabilização da matéria orgânica dos esgotos.

Os principais microrganismos envolvidos no processo de biodegradação da matéria orgânica são: as bactérias, os fungos, os protozoários e rotíferos, e as algas, os quais são comumente encontrados nos despejos sanitários e industriais.

3. 1. Caracterização de Águas Residuárias

As águas residuárias são geralmente caracterizadas em termos de sua composição física (cor, odor, sólidos e temperatura), química (compostos orgânicos e inorgânicos) e biológica (bactérias, fungos, protozoários, plantas, animais e vírus)., variando em sua composição dependendo da indústria (METCALF & EDDY, 1991).

O tratamento secundário de águas residuárias se preocupa com a remoção de materiais orgânicos biodegradáveis, sólidos suspensos e microrganismos patogênicos. Atualmente esse tratamento engloba também a remoção de nutrientes e poluentes prioritários. Dentre os constituintes mais importantes, de interesse no tratamento de esgotos podemos citar:

a) sólidos suspensos: podem levar ao desenvolvimento de depósitos de lodo e condições anaeróbias quando o esgoto não tratado é descartado ao meio ambiente;

b) matérias orgânicas biodegradáveis: são compostas principalmente de proteínas, carboidratos e gorduras e são medidas geralmente em termos de DBO (demanda bioquímica de oxigênio);

c) patógenos: causadores de doenças contagiosas as quais podem ser transmitidas por organismos patogênicos presentes nos esgotos;

d) nutrientes: compostos como o nitrogênio, o fósforo e o carbono são nutrientes essenciais para o crescimento de todos os organismos vivos, quando são descartados em quantidades excessivas podem contaminar as águas subterrâneas;

e) poluentes prioritários: compreendem os compostos orgânicos e inorgânicos que podem causar carcinogenicidade, mutagenicidade e toxicidade. A maioria destes compostos podem ser encontrados em águas residuárias;

f) matérias orgânicas refratárias: são matérias orgânicas resistentes aos tratamentos de águas residuárias (fenóis, pesticidas agrícolas);

g) metais pesados: são geralmente adicionados aos efluentes por atividade comercial e industrial, e

h) constituintes inorgânicos dissolvidos: cálcio, sódio e sulfato devem ser removidos caso o esgoto seja reutilizado.

3. 2. Princípios de Tratamento de Águas Residuárias

Os sistemas de tratamento podem ser constituídos de diversas unidades, incluindo vários processos, tais como: processos físicos, químicos, biológicos ou combinações destes.

A classificação dos processos de tratamento segundo BRANCO (1991), pode ser feita em função da remoção de:

a) sólidos grosseiros e em suspensão, que são sedimentáveis em tempos econômicos;

b) óleos e graxas, minerais, vegetais e animais;

- c) substâncias flutuantes objetáveis;
- d) sólidos coloidais ou óleos emulsificados;
- e) patógenos;
- f) matéria orgânica e inorgânica dissolvida ou semi- dissolvida;
- g) substâncias odoríferas, inflamáveis ou tóxicas;
- h) substâncias tóxicas, mutagênicas ou carcinogênicas ao homem e meio ambiente.

METCALF & EDDY (1991), propõem níveis de tratamento que podem incluir:

a) Tratamento preliminar: remoção de sólidos em suspensão e material grosseiro incluem o uso de grades, caixa de areia e flutuadores;

b) Tratamento primário: remoção de sólidos suspensos e de matéria orgânica. Esta remoção é geralmente feita através de processos físicos como a sedimentação com ou sem a precipitação química, a digestão e a remoção da umidade do lodo;

c) Tratamento secundário convencional: este tratamento é direcionado à remoção da matéria orgânica biodegradável e sólidos suspensos. Este tratamento inclui o tratamento biológico por lodos ativados, reatores de filme - fixo ou sistemas de lagoas e sedimentação;

d) Controle e remoção de nutrientes: têm importância no descarte desses nutrientes em corpos d'água onde podem causar ou acelerar a eutrofização, a nitrificação dos corpos d'água e uma recarga de águas subterrâneas que podem ser utilizadas diretamente para fornecimento público. Estes nutrientes podem ser removidos diretamente através de processos biológicos;

e) Tratamento avançado: esse termo é definido como o nível de tratamento necessário, além do tratamento secundário convencional, para remover constituintes como nutrientes, componentes tóxicos dentre outros. Outras unidades operacionais podem ser empregadas no tratamento, como a coagulação química, floculação e sedimentação, seguida pela filtração e carvão ativado;

f) Tratamento de despejos tóxicos: muitas substâncias tóxicas como os metais pesados, são reduzidos por alguma forma de tratamento físico-químico, como coagulação química, floculação, sedimentação e filtração. Algum grau de remoção também é conseguido através do tratamento secundário;

3. 3. Ecologia de Reatores Biológicos

3. 3. 1. Os Protistas

Os Protistas são organismos microscópicos, cuja organização interna e estrutura pode ser observada somente através de microscopia eletrônica. São divididos em dois grupos, os Procariontes (bactérias) e os Eucariontes (fungos, protozoários, algas, plantas e animais). Os vírus são parasitas intracelulares e não pertence a estes dois grupos.

BROCK & MADIGAN (1991) e BITON (1994), descrevem as principais características para diferenciação destes dois grupos:

- 1) as células Eucarióticas são mais complexas que as Procarióticas;
- 2) nos Eucariontes, o material genético (DNA) encontra-se em organelas específicas associados com histonas e outras proteínas;
- 3) nos Eucariontes, as organelas celulares são protegidas por membranas;
- 4) os Procariontes dividem-se através de fusão binária, enquanto os Eucariontes esta divisão é feita através de mitose;
- 5) várias estruturas celulares não estão presentes nos Procariontes como por exemplo o complexo de Golgi, retículo endoplasmático, mitocôndria e os cloroplastos.

Os Procariontes podem ser divididos em dois grupos: bactérias e algas verde-azuis (cianofícias). As cianofícias são facilmente identificadas através de sua cor. Estes organismos são fotossintéticos, unicelulares, com reprodução por fissão binária. Podem ser encontradas em qualquer parte do ambiente terrestre.

As bactérias são organismos unicelulares representados por um grande número de indivíduos encontrados nos mais diversos ambientes. (GRADY & LIM, 1980; BITON 1994).

Os Eucariotos são geralmente divididos em três grupos: algas, protozoários e fungos. As algas são organismos fotossintéticos (apresentam cloroplastos), podendo ser unicelulares ou multicelulares sem diferenciação dos tecidos da célula. Estes organismos podem ser encontrados tanto em água doce como salgada, e participam de um importante processo do ciclo do oxigênio (GRADY & LIM, 1980).

Os protozoários são organismos não fotossintéticos, móveis, unicelulares, divididos em quatro grandes grupos: Mastigóforos, Sarcodinas, Saprozoa, e Ciliados. Os Mastigóforos são representados por organismos flagelados geralmente parasitas de animais. O grupo Sarcordina pode ser representada por ameba encontrada em solos e água, sendo que algumas espécies podem ser parasitas do homem. Os organismos Saprozóicos podem ser divididos em osmofílico ou parasitas. A principal espécie são os coccídios que são usualmente parasitas de pássaros e podem infectar tanto o homem como animais superiores (*Plasmodium*). Os ciliados englobam uma grande variedade de outros grupos, podendo ser encontrados nos mais diversos ambientes. Estes organismos fazem parte de um importante processo bioquímico, auxiliando no processo de biofloculação e clarificação de águas dos processos de tratamento de efluentes. (GRADY & LIM, 1980; BITON 1994).

Os fungos são organismos não fotossintéticos, multinucleados, com crescimento através de micélio conhecido como filamento. Sua reprodução é feita através de esporos. Estes organismos podem ser observados macroscopicamente e são encontrados nos mais diversos tipos de ambientes, com requerimento nutricional pouco exigente (GRADY & LIM, 1980).

Dentre os fungos podemos também encontrar o grupo das leveduras, que diferentemente dos fungos filamentosos são organismos unicelulares com um sistema de reprodução por fusão binária. Estas células podem ser encontradas tanto no solos como na água (GRADY & LIM, 1980).

3. 3. 2. Estrutura das Células Procarióticas

A Figura 1 ilustra uma célula Procariótica e suas estruturas internas. As bactérias e as algas Cianofícias, com tamanho igual ou inferior a 5µm de diâmetro possuindo estrutura celular mais simplificada que as Eucarióticas, são conhecidas como células Procarióticas. Estas estão envolvidas por membrana celular, com apenas duas regiões internas bem definidas, o núcleo e o citoplasma, os quais apresentam estrutura fina relativamente uniforme e não são separados por outras membranas (GRADY e LIM, 1980).

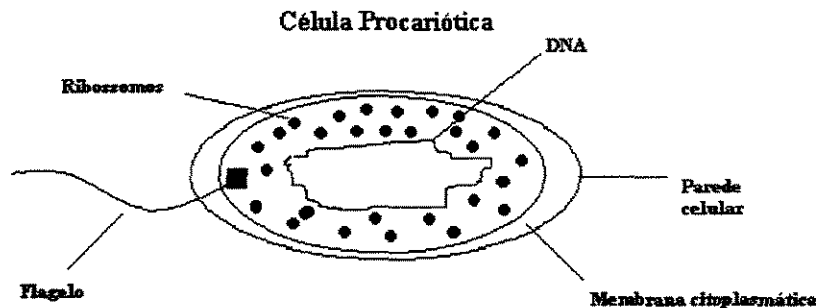


Figura 1 - Diagrama típico de uma células Procarióticas.

(adaptado de R. Mitchell, Introduction to Environmental Microbiology, 1972)

O núcleo das células Procarióticas contém uma única e simples molécula de DNA não ligada a proteína, e a divisão celular das células Procarióticas se dá pela replicação desta molécula, seguida de separação do material genético originando células filhas.

O principal elemento estrutural dentro da região citoplasmática são os ribossomos. Estes são menores que os das células Eucarióticas, e são estruturas livres, não ligada ao retículo endoplasmático como ocorre nos organismos Eucarióticos. Os organismos Procarióticos são desprovidos de mitocôndrias e cloroplastos, e as enzimas responsáveis pela respiração e fotossíntese estão alocadas na membrana celular, que regulam a passagem de material para dentro ou para fora da célula (GRADY & LIM, 1980).

A maioria das células dos organismos Procarióticos possui uma rígida parede celular com estrutura química mais complexa que a dos organismos Eucarióticos. Estas células não apresentam movimento amebóide e a digestão dos nutrientes insolúveis é feita extracelularmente pela excreção de enzimas hidrolíticas. O produto obtido é transportado para o interior da célula através de várias mecanismos (GRADY & LIM, 1980).

Os Procariotes usualmente movem-se através de flagelos, que neste caso são estruturas mais simples que as encontradas nos Eucariotes. O número e posição dos flagelos são usualmente utilizadas para a identificação do tipo de organismo (monotricus, lofotricos e peritricos).

3. 3. 3. Estrutura das Células Eucarióticas

Geralmente, as células Eucarióticas possuem diâmetro médio de 20µm, podendo chegar até 80 µm. Estes organismos possuem membrana celular com regiões internas bem definidas, o que não ocorre com os Procariontes. Dentro destas regiões podemos observar o núcleo, mitocôndrias, cloroplastos (nos organismos fotossintéticos), lisossomos e vacúolo (GRADY & LIM, 1980). A Figura 2, ilustra uma célula Eucariótica e suas estruturas.

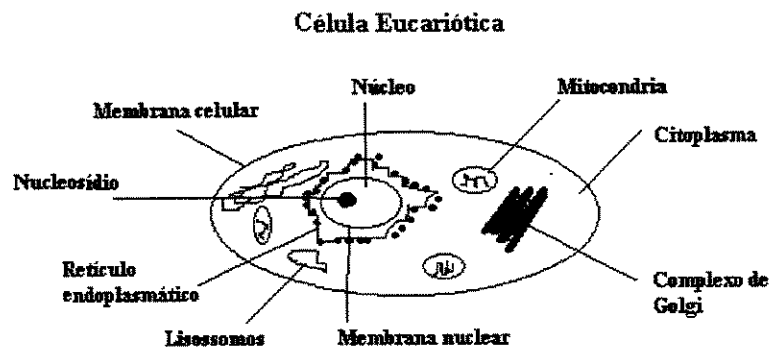


Figura 2 - Diagrama típico de células Eucariótica
(adaptado de R. Mitchell, Introduction to Environmental Microbiology, 1972)

a) Membrana Plasmática - A membrana plasmática possui tamanho de cerca de 40 a 80 Angstrons, é semipermeável e composta basicamente de proteínas e fosfolípidos com orientação hidrofóbica. Cátions como Ca^{2+} e Mg^{2+} fazem parte desta membrana, atuando como estabilizantes. O transporte de nutrientes através da membrana plasmática é feito através de mecanismos conhecidos como difusão, transporte ativo e endocitose (GRADY & LIM, 1980).

Difusão - os nutrientes atravessam a membrana por diferença iônica, o que depende da natureza e concentração deste nutriente.

Transporte ativo - hidrofóbico - os compostos são transferidos através da membrana com gasto de energia (ATP). Este tipo de mecanismo de transporte é feito através de carreadores específicos, geralmente proteínas, onde os nutrientes (açúcares, aminoácidos e íons) são levados para o interior da célula e armazenados em organelas específicas. Os compostos químicos considerados tóxicos também são transportados para as células dos microrganismos desta maneira. Este mecanismo é conhecido como bioacumulação.

Endocitose - somente em células Eucarióticas - as substâncias são transportadas pela membrana através de endocitose seguida de difusão ou transporte ativo. Na endocitose estão

envolvidos os mecanismos de fagocitose (transporte de partículas) e pinocitose (transporte de substâncias líquidas).

b) Parede Celular - Algumas células Eucarióticas são envoltas por uma membrana rígida conhecida como parede celular, a qual funciona como mecanismo de proteção a altas pressões osmóticas (osmoregulação), e impede que a célula possua movimento amebóide. Sua composição é formada praticamente de mucopolissacarídeos, também chamados de peptidoglicanos. Os Protistas podem ser distinguidos através da composição da parede celular através do teste de Gram, onde pode-se identificar a estrutura da parede celular bacteriana pela sua hidrofobicidade (Gram +) ou hidrofiliabilidade (Gram -) (GRADY & LIM, 1980).

As células animais não possuem parede celular, mas em outros organismos eucarióticos elas estão presentes como celulose (plantas, algas e fungos), quitina (fungos), sílica (diatomáceas), ou polissacarídeos como glucanas e mananas (leveduras).

c) Núcleo - Nos organismos Eucariontes o núcleo contém o material genético da célula e é separado do citoplasma por membrana nuclear. O núcleo é constituído de subunidades estruturais conhecidas como cromossomos (DNA) ligado a uma proteína chamada de histonas. A reprodução destes organismos é assexuada ocorrendo divisão celular inicializada no núcleo por processo de mitose, originando dois núcleos idênticos com posterior bipartição da célula (GRADY & LIM, 1980).

d) Mitocôndria e Cloroplastos - São organelas responsáveis pela geração de energia para a célula. A respiração celular se dá na mitocôndria e nos cloroplastos, através da fotossíntese. Ambas as organelas são envoltas por fina membrana as quais possuem internamente enzimas catalisadoras das reações necessárias para a geração e transformação de energia (GRADY & LIM, 1980).

e) Vacúolo e Lisossomos - Responsáveis pela ingestão e digestão de alimentos. Células sem parede rígidas podem envolver alimentos sólidos (fagocitose) e conduzi-los para o

interior da célula em compartimento especial chamado vacúolo. Dentro da célula os vacúolos entram em contato com os lisossomos que contém enzimas hidrolíticas (digestivas). As enzimas entram no vacúolo e irão agir sobre as partículas de alimentos (GRADY & LIM, 1980).

f) Retículo Endoplasmático e Complexo de Golgi - O retículo endoplasmático é composto por um sistema de membrana contínuo acompanhando a membrana da célula. Os Ribossomos estão alinhados a esta superfície e são estruturas responsáveis pela síntese de proteínas. O complexo de Golgi é uma organela em forma de disco contendo membranas alinhadas contínuas. Lisossomos também estão presentes nesta estrutura.

g) Citoplasma - O citoplasma possui estrutura fina semipermeável, composta principalmente de nutrientes dissolvidos. O citoplasma está em movimento contínuo, que resulta também em movimento de suas estruturas internas. Este movimento também está associado com a locomoção da célula, e é conhecido como movimento amebóide. O movimento amebóide se dá pelo deslocamento temporário da membrana celular em direção ao alimento, através de mecanismo conhecido como pseudópodos (falsos pés). Além de pseudópodes, as células microbianas podem mover-se através de flagelos ou cílios. Existem vários tipos de arranjos flagelares como os Monotricus (flagelo polar único), os Lofotricus (tufo de flagelos localizados em um polo da célula), ou os Peritricus (flagelos distribuídos ao redor da célula) (GRADY & LIM, 1980).

Os flagelos são compostos de proteínas conhecidas como flagelinas presas no corpo basal da célula. As bactérias flageladas podem atingir velocidade de até 100 $\mu\text{m/s}$. Esta locomoção se dá pela busca de nutrientes conhecidos como quimiotaxia (químicos), fototaxia (luz), e aerotaxia (oxigênio). A quimiotaxia é um movimento da célula ao composto químico, geralmente nutriente, também pode ser um movimento de fuga de um composto perigoso para a célula, este mecanismo é conhecido como quimiotaxia negativa (GRADY & LIM, 1980).

Do ponto de vista ecológico a quimiotaxia promove vantagem para a bactéria para a detenção de alimento como fonte de carbono e energia. Compostos tóxicos (hidrocarbonos,

metais pesados, etc) inibem a quimiotaxia pelo bloqueio dos quimiorreceptores, afetando a detecção do alimento, e causam bloqueio da mobilidade celular tornando esta susceptível ao ataque de predadores aquáticos naturais (GRADY e LIM, 1980).

Os cílios possuem dupla função sendo a primeira de locomoção e a segunda de transporte de nutrientes para a membrana celular.

3. 3. 4. Interação entre as Comunidades Microbianas

3. 3. 4. 1. Natureza Geral das Interações Microbianas

Segundo (GRADY & LIM, 1980), as unidades de tratamento de efluentes possuem uma comunidade de microrganismos que atuam independentemente como espécies isoladas. Esta comunidade varia com o tipo de efluente conforme a qualidade e característica do material, ou pelas qualidades físicas ambientais.

A comunidade microbiana geralmente adapta-se às mudanças ambientais ocorridas durante o período do tratamento, causadas pelas variações industriais. Sobre algumas circunstâncias, esta comunidade pode ser restrita e com características instáveis, devido aos processos industriais. Geralmente, a comunidade é complexa, com um grande número de espécies microbianas formando um ecossistema integrado. Aparentemente este sistema parece estável (macroscopicamente). Entretanto, tal meio sofre constantes mudanças no plano microscópico, com grande diversidade de reações bioquímicas e grande interação entre os microrganismos (GRADY & LIM, 1980). As interações são caracterizadas pelos efeitos que um organismo causa a outro, sendo denominadas de interações neutras, benevolentes ou antagônicas.

BROCK (1966; 1974) Apud: GRADY & LIM (1980) descreve que a complexidade dos sistemas microbianos pode ser resumida através da Figura 3, onde o ecossistema é representado por três espécies: A, B, e C. A Figura 3 representa uma interação mútua entre os organismos

$A \leftrightarrow B$, $A \leftrightarrow C$, $B \leftrightarrow C$. Entretanto esta interação pode não envolver cooperação, sendo que um organismo pode interferir na interação entre duas espécies. Segundo o autor, existem cerca de 81 tipos de interações possíveis no sistema, mas nem todas ocorrem ao mesmo tempo.

Os 3 principais tipos de interações descritas por BROCK (1966; 1974) Apud: GRADY & LIM (1980) entre os microrganismos são descritas a seguir.

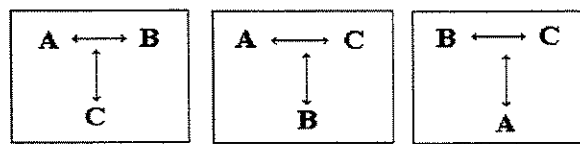


Figura 3 - Diagrama ilustrativo da interação dos ecossistemas microbianos.

(fonte: BROCK, T. D. 1966 Apud: GRADY & LIM, 1980)

a) Interação neutra

Os microrganismos presentes não interagem entre si. Este tipo de interação se dá geralmente pela diferença entre as necessidades metabólicas dos organismos presentes.

b) Interações benevolentes

Os dois principais tipos de interações benevolentes são o comensalismo e o mutualismo. O comensalismo se dá quando um organismo beneficia um outro sem afetá-lo. Um exemplo pode ser dado pela degradação da celulose, onde microrganismos celulolíticos degradam a celulose transformando-a em glicose que será utilizada por outro microrganismo.

Uma outra forma de comensalismo pode ser dada pela produção de um fator de crescimento ou nutriente excretado no ambiente por um organismo, que não pode ser sintetizado por um segundo organismo, que removerá estes metabólitos para uso.

Na maioria das vezes o comensalismo envolve alterações fisiológicas ambientais, tornando o ambiente apto para o crescimento de outros organismos. Isto ocorre, por exemplo, em ambientes anaeróbios onde a presença do oxigênio é fator limitante para o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios estritos. Organismos anaeróbios facultativos absorvem o oxigênio presente no meio, tornando o ambiente favorável ao desenvolvimento dos estritos. O mesmo ocorre no tratamento de efluentes industriais onde a presença de substâncias tóxicas como o fenol são degradadas por determinados organismos até níveis aceitáveis, favorecendo o desenvolvimento da comunidade microbiana (GRADY e LIM, 1980).

O mutualismo não é tão comum quanto o comensalismo, pelo fato desta interação ser benéfica a ambos organismos, havendo troca de material entre os mesmos. Um terceiro termo utilizado para interações benevolentes é simbiose. Os termos mutualismo e simbiose estão geralmente associados às associações e interações físicas entre os microrganismos para compartilhamento de funções fisiológicas (GRADY e LIM, 1980).

c) Interações Antagônicas

As interações antagônicas são simples competições de um predador complexo. Um tipo de antagonismo é a competição entre dois microrganismos por uma única fonte de energia presente no meio em baixas quantidades. Um dos organismos conseguirá alcançar o substrato primeiro, e atacará o outro tornando-se predominante naquele momento. Este tipo de competição pura ocorre em sistemas fechados como reatores biológicos não completamente misturados (GRADY e LIM, 1980).

Interações antagônicas podem ocorrer devido a alterações no ambiente, de maneira similar a que ocorre com as interações benevolentes, onde microrganismos anaeróbios facultativos consomem todo o oxigênio do meio, interferindo no crescimento de organismos aeróbios. Similarmente, a presença de algas no meio resulta na produção de oxigênio, evitando o crescimento de anaeróbios.

Várias interações antagônicas envolvem a relação de compostos químicos com efeitos deletérios sobre alguns organismos. Isto é chamado de amensalismo. Um caso típico dessa interação é a produção de antibióticos por um organismo, capaz de matar ou inibir o crescimento de outros. Este tipo de interação é muito utilizada em plantas industriais farmacêuticas para a produção de antibióticos.

O mesmo ocorre com organismos fermentativos e acidófilos, onde no primeiro caso é produzido álcool em grandes quantidades inibindo o crescimento de outros, e no segundo ocorre a produção de ácidos orgânicos capazes de baixar o nível de pH a valores insustentáveis para o crescimento (GRADY & LIM, 1980).

Organismos capazes de produzir enzimas líticas também são exemplos de interações antagônicas. As enzimas líticas atuam na membrana celular causando seu rompimento e morte da célula. (MITCHELL, 1972; GRADY & LIM, 1980).

3. 3. 5. Ecossistemas Microbianos em Operações Bioquímicas

Segundo GRADY & LIM, 1980, um ecossistema é usualmente definido como a interação entre elementos biológicos e ambiente, em um universo limitado. Consequentemente, essas operações bioquímicas podem desenvolver um único ecossistema governado por sistemas de plantas físicas para o recebimento de águas residuárias, resultando em modificações bioquímicas ocasionadas pelos microrganismos residentes neste sistema.

PIKE & CRURDS (1971) mencionam que apenas 8% das bactérias isoladas de lodos ativados possuem a capacidade de se desenvolver em laboratório sem a presença de outras bactérias, que produzem e secretam no meio fatores de crescimento necessários para o seu desenvolvimento. Do mesmo modo, os predadores (protozoários) desempenham importante papel nas interações entre as bactérias, consumindo as bactérias livres ou dispersas dos flocos promovendo um efetivo controle sobre o lodo.

Autores como GRADY & LIM, 1980; METCALF & EDDY, 1991; BITON, 1994. citam que os mecanismos seletivos dos fatores ambientais também são importantes nestes ecossistemas. O tipo de substrato e sua interação com a comunidade bacteriana, pode ser um fator importante dentro de um ecossistema, assim como a concentração de oxigênio dissolvido é um fator limitante para o seu desenvolvimento em processos aeróbios.

Outros fatores importantes são pH e temperatura. Baixos valores de pH favorecem o desenvolvimento de fungos filamentosos, e altas temperaturas podem influenciar no desenvolvimento de protozoários. Também o regime hidráulico empregado e a taxa de aeração utilizada influenciam o número de microrganismos filamentosos e as bactérias formadoras de flocos.

A comunidade biológica deste ecossistema, entretanto, irá sofrer uma adaptação fisiológica e genética para cada tipo de efluente a ser tratado. Os principais tipos de ecossistemas microbianos estão descritos a seguir.

a) Reatores Anaeróbios

Os reatores anaeróbios são geralmente operados com fluxo contínuo providos de tanque de reação, capazes de estabilizar a matéria orgânica insolúvel.

O reator comumente é operado com alto tempo de residência hidráulica, recebendo sólidos orgânicos e produzindo efluente contendo baixa quantidade de matéria orgânica e uma substancial quantidade de metano e dióxido de carbono na forma de gás. A comunidade microbiana neste caso é relativamente simples, constituída principalmente de bactérias que representam uma interação complexa entre si. Estudos da natureza das bactérias metanogênicas tem mostrado a dificuldade de se trabalhar com estes organismos anaeróbios, devido a sua baixa velocidade de crescimento (GRADY & LIM, 1980; METCALF & EDDY, 1991).

No processo de digestão anaeróbia, os compostos são hidrolisados a frações menores como ácidos, dióxido de carbono e hidrogênio na forma de gás. Dois grupos de bactérias estão envolvidos nesta transformação com um delicado balanço de interações entre elas. O primeiro grupo refere-se a bactérias não metanogênicas, predominantemente Gram-negativas anaeróbias do tipo *Bacillus*, que convertem os compostos orgânicos em ácidos, principalmente ácido acético e butílico, dióxido de carbono e hidrogênio na forma de gás. O segundo grupo refere-se a bactérias metanogênicas, que utilizam estes compostos na produção de gás metano. Estes organismos são muito sensíveis às mudanças de pH produzidos pelo primeiro grupo de bactérias. Quando a produção de ácidos orgânicos é maior que sua remoção, isto pode inibir o crescimento das bactérias metanogênicas, transformando a interação comensalismo em amensalismo. Um delicado balanço entre estes dois grupos de organismo é de extrema importância no tratamento de efluentes líquidos e controle do processo (GRADY & LIM, 1980).

b) Lodo Ativado

Lodo ativado é o nome utilizado para descrever um tratamento bioquímico aeróbio, que utiliza microrganismos floculentos para a remoção de matéria orgânica e material coloidal em suspensão. O emprego de sedimentação gravitacional é um importante passo deste sistema pois separa a biomassa do efluente tratado (GRADY & LIM, 1980; METCALF & EDDY, 1991).

Os principais organismos encontrados no sistema de Lodo Ativado podem ser separados em 4 grandes grupos: organismos formadores de flocos, saprófitos, predadores e organismos particulares.

Os organismos formadores de flocos são os mais importantes no processo pois sem eles o lodo não pode ser separado do efluente tratado. São representados principalmente pela bactéria *Zooglea ramigera*, porém existe um grande número de bactérias capazes de formar flocos. A classificação destes organismos é complicada devido ao fato de protozoários e fungos também poderem formar flocos (PIKE & CURDS, 1971; PIKE, 1975).

Os organismos saprófitos são aqueles responsáveis pela degradação da matéria orgânica, e é um grupo formado principalmente por bactérias, inclusive as formadoras de flocos. Os saprófitos podem ser subdivididos em dois grupos: primários e secundários. Os primários são responsáveis pela degradação do substrato original e o segundo grupo utiliza os metabólitos formados para sua sobrevivência, indicando uma interação de comensalismo entre estes indivíduos. A maioria dos saprófitos são *Bacillus* Gram-negativos, sendo também representados por fungos, leveduras e protozoários flagelados (GRADY & LIM, 1980; BITON, 1994).

O grupo dos predadores é representado por protozoários. Estes organismos representam cerca de 5% da biomassa sólida do sistema de Lodo Ativados. Os ciliados são os protozoários predominantes neste grupo, tanto em número como em forma, e atuam em uma importante etapa do processo, que é a formação dos flocos e a eliminação das bactérias dispersas no meio, tornando a comunidade estável (GRADY & LIM, 1980; BITON, 1994).

Os organismos particulares são representados por aqueles que podem dificultar a operação do sistema, como é o caso de algumas bactérias e fungos filamentosos que podem causar problema na sedimentação do lodo quando presentes em grande número. Este processo é conhecido como "bulking filamentoso", e os principais microrganismos envolvidos são as bactérias *Sphaerotilus natans* e o fungo *Geotrichium* (GRADY & LIM, 1980; BITON, 1994).

c) Filtros de contato

Os filtros de contato ou reatores de contato são reatores bioquímicos onde as bactérias crescem fixadas a uma superfície sólida por onde passa a água residuária a ser tratada, promovendo nutrientes para a comunidade microbiana, e biodegradação do material orgânico e coloidal (METCALF & EDDY, 1991).

Os filtros de contato geralmente possuem uma comunidade mais diversificada que a apresentada pelo sistema de lodo ativados. Neste sistema podemos encontrar uma grande

variedade de organismos vivos como: Nematóides, Rotíferos, caramujos, e larvas de certos insetos, responsáveis pelo fenômeno de mudança do suporte do filtro. A comunidade bacteriana deste sistema é composta de organismos saprófitos primários e secundários, as quais liberam para o meio enzimas extracelulares que irão atuar no material orgânico, reduzindo-o a pequenas frações que posteriormente podem ser metabolizadas (GRADY & LIM, 1980; BITON, 1994).

Cerca de 90 tipos de fungos já foram encontrados neste sistema sendo apenas 20 deles considerados como uma população permanente. Vários Protozoários também podem ser encontrados, com uma predominância de Sarcodinas, Mastigóforos, e Ciliados. Durante os meses de verão, Cianofícias e Diatomáceas podem ser observadas na superfície do filtro. (GRADY & LIM, 1980; BITON, 1994).

3. 3. 6. Cinética dos Sistemas Bioquímicos

A cinética do crescimento de microrganismos em sistemas bioquímicos pode ser acompanhado por dois parâmetros: o primeiro é dado pela utilização de culturas puras e o segundo aplicado para o crescimento de culturas microbianas mistas. Ambos os parâmetros são baseados no trabalho de MONOD (1949).

A razão pela qual os microrganismos se desenvolvem estão ligadas às suas interações com o suplemento de energia e a utilização destes através da produção de enzimas. As enzimas constituem a maior e mais altamente especializada classe de proteínas. Elas catalisam milhares de reações químicas que no seu conjunto constituem o metabolismo intermediário das células (BITON, 1994; LEHNINGER, 1985).

3. 3. 6. 1. Propriedade Geral das Enzimas

LEHNINGER (1985) descreve que as enzimas são as unidades funcionais do metabolismo celular. Atuando em sequências organizadas, catalisando centenas de reações em etapas através

das quais moléculas de nutrientes são degradadas, energia química é conservada e transformada, e as macromoléculas celulares são formadas a partir de precursores simples.

Entre as várias enzimas que participam do metabolismo há uma classe especial, chamada de enzimas regulatórias, que atuam em vias metabólicas capazes de modificar sua velocidade catalítica em concordância com as necessidades da célula. Através da ação delas os sistemas enzimáticos são altamente coordenados produzindo um inter-relacionamento harmonioso entre diferentes atividades metabólicas necessárias para a manutenção da vida.

As enzimas catalisam reações químicas, que de outra maneira, ocorreriam apenas a velocidades extremamente baixas. Elas não mudam o ponto de equilíbrio das reações que catalisam. Elas são catalisadores verdadeiros porque não são consumidas ou alteradas permanentemente durante a catálise. Desde que todas as enzimas conhecidas são proteínas, qualquer fator que possa prejudicar a estrutura nativa da proteína também pode afetar a atividade catalítica. Portanto, o aquecimento das enzimas, tratamento com ácidos ou bases fortes, ou exposição a agentes desnaturadores, destrói a sua atividade catalítica (LEHNINGER, 1985).

As enzimas têm pesos moleculares que variam de 12.000 a mais de 1 milhão. São constituídas de uma ou mais cadeias polipeptídicas, podendo possuir também outros componentes químicos necessários para sua atividade, denominados de cofatores. O cofator pode ser um metal como Mg, Mn, Zn, ou Fe, ou uma molécula orgânica complexa, usualmente chamada de coenzima. Algumas enzimas requerem tanto um íon metálico como uma coenzima. Muitas vezes o cofator é ligado firmemente à parte protéica da enzima. Neste caso, o cofator é chamado de grupo prostético. Geralmente os cofatores são estáveis quando expostos ao calor, enquanto a parte protéica da enzima é lábil nas mesmas condições (LEHNINGER, 1985).

O sítio ativo - um conceito importante para se diferenciar uma enzima de uma proteína é que as enzimas possuem um sítio ativo. Este sítio ativo é formado por aminoácidos ligados na estrutura terciária da proteína, conferindo a esta um poder catalítico a determinados substratos. Os aminoácidos presentes no sítio ativo não encontram-se ligados na forma contínua como ocorre na

cadeia primária das proteínas, mas ligados a determinados pontos na estrutura polipeptídica da cadeia protéica da enzima. (GRADY & LIM, 1980; LEHNINGER, 1985).

Para a maioria das enzimas, o sítio ativo corresponde a cerca de 5% de sua superfície total. Ao redor de 20 tipos de aminoácidos podem ser encontrados nos sítios ativos das enzimas, e na maioria dos casos estes aminoácidos são cisteína, histidina, aspartato, glutamato, e lisina. Todos eles participam da ligação da enzima com o substrato durante o processo catalítico (LEHNINGER, 1985).

Consequentemente, a estrutura do sítio ativo da enzima apresenta uma grande especificidade ao substrato, isto é, confere à enzima grande habilidade na identificação do substrato na presença de um grande número de outras moléculas. A especificidade é provavelmente uma das grandes propriedades dos organismos vivos, e as enzimas são bons exemplos desta especificidade biológica.

A ligação com o substrato geralmente inicia-se através de uma colisão randômica entre o substrato e o sítio ativo da enzima. Nesta ligação estão envolvidos alguns processos bioquímicos como a orientação da molécula da enzima na direção do sítio ativo, ligações do tipo pontes de hidrogênio, ligações iônicas e mudança na carga dos aminoácidos envolvidos na ligação. A ligação com o substrato também pode ser ativada pelo próprio substrato e os mecanismos desta ativação podem ocorrer por: 1) mudanças na conformação da enzima induzindo-a à ligação do substrato com seu sítio ativo possibilitando o ataque catalítico; 2) a enzima pode tornar-se um doador ou receptor de prótons aumentando a reatividade química com o substrato; 3) a enzima pode assumir uma reação de substituição nucleofílica, onde sua interação com o substrato ocorre em regiões eletropositivas (deficiente em elétrons), ou eletronegativas (rica em elétrons), onde o sítio ativo da enzima possui grupos de polaridade oposta a estas regiões, doando ou recebendo elétrons (LEHNINGER, 1985).

Sensibilidade à temperatura - adicionalmente a esta especificidade e à diversidade das enzimas, elas também são caracterizadas pela sua sensibilidade à temperatura. A dependência de

temperatura para a ativação das enzimas em organismos homeotérmicos (Animais e aves), não é prática comum pois estes organismos mantêm sua temperatura independentemente das condições ambientais. O que não ocorre com as plantas, Protistas e bactérias, que dependem das condições atmosféricas ambientais (LEHNINGER, 1985).

Tecnologicamente, temperaturas mais elevadas promovem aumento na atividade catalítica das enzimas devido ao aumento da energia cinética envolvida na reação, dada pelo aumento das colisões entre as moléculas. Geralmente a velocidade de uma reação química dobra quando a temperatura sobe 10°C. Entretanto, temperaturas elevadas podem desnaturar as enzimas causando ruptura na cadeia de hidrogênio e, conseqüentemente diminuindo as interações enzima-substrato e a integridade da estrutura da enzima. A temperatura de desnaturação da enzima varia de enzima para enzima e de microrganismo para outro. Em organismos homeotérmicos a atividade máxima das enzimas ocorre à temperatura de 37°C, desnaturando à temperatura de 50 - 55°C. Nos outros organismos a faixa de temperatura para a desnaturação das enzimas pode variar desde temperaturas baixas em torno de 25°C até 80°C em organismos termofílicos (LEHNINGER, 1985).

Sensibilidade à pH - As enzimas também são sensíveis às variações de pH. Geralmente, a atividade das enzimas estão ligadas ao ambiente em que os organismos melhores se adaptam. Este ambiente pode variar a valores de pH relativamente baixos 3 - 4, passando a pH neutro e indo até valores mais elevados acima de 9. Mudanças nestes ambientes podem causar diminuição na atividade da enzima podendo até causar sua desnaturação em casos mais extremos (LEHNINGER, 1985).

As enzimas têm um pH ótimo característico, no qual a sua atividade é máxima. As curvas de variação da atividade enzimática em diferentes valores de pH refletem o pH no qual importantes grupos doadores ou receptores de prótons no sítio catalítico estão em seus estados de ionização adequados. O pH ótimo de uma enzima não é necessariamente idêntico ao pH do meio em que normalmente se encontram; este pode estar pouco acima ou abaixo do valor do pH ótimo.

A atividade catalítica das enzimas pode portanto, ser regulada ao menos em parte por variações do pH do meio em que se encontram (LEHNINGER, 1985).

3. 3. 6. 2. Mecanismos de Ação da Enzima

LEHNINGER (1985) descreve que há quatro fatores principais pelos quais as enzimas aceleram a velocidade das reações químicas, que são:

Proximidade e orientação do substrato em relação ao grupo catalítico - A enzima pode ligar a molécula de substrato de tal forma que a ligação suscetível está não só muito próxima do grupo catalítico, mas também precisamente orientada em sua direção, aumentando sensivelmente a possibilidade do complexo ES (enzima/ substrato) entrar no estado de transição.

Tensão e distorção: ajuste induzido - A ligação do substrato pode induzir uma mudança conformacional na molécula da enzima. Isto coloca a estrutura do sítio ativo sob tensão e também distorce o substrato ligado, o que ajuda a elevar o complexo ES para o estado de transição. Estas mudanças são chamadas pelo nome de ajuste induzido da enzima ao substrato.

Catálise ácido base geral - O sítio ativo da enzima pode fornecer grupos R de resíduos específicos de aminoácidos que são bons doadores ou receptores de prótons. Tais grupos ácidos ou bases são potentes catalisadores de muitas reações orgânicas em sistemas aquosos.

Catálise covalente - Algumas enzimas reagem com seus substratos formando complexos ES ligados covalentemente e muito instáveis, os quais sofrem reações adicionais formando os produtos de maneira muito mais rápida do que a reação não catalisada.

Embora esses quatro fatores sejam considerados como contribuições de diferentes magnitudes para a aceleração da velocidade produzida por diferentes tipos de enzimas, em nenhum caso temos conhecimento exato do mecanismo pelo qual uma enzima produz a aceleração da velocidade característica da catálise enzimática (LEHNINGER, 1985).

A energia de ativação necessária para as possíveis reações termodinâmicas que ocorrem nos meios catalíticos reduzindo a energia de ativação e assim facilitando sua reação pode ser encontrado nas enzimas. Este tipo de reação catalítica das enzimas se dá através de reações conhecidas como cinética enzimática, a qual pode ser demonstrada através de modelos matemáticos que serão descritos a seguir:

3. 3. 6. 3. Velocidade das Reações Enzimáticas

As enzimas são catalisadores verdadeiros, com propriedade de aumentar a velocidade de reações químicas específicas, que, sem elas, ocorreriam muito lentamente. Elas não alteram o ponto de equilíbrio das reações que aceleram, e também não são usadas ou transformadas por estas reações (LEHNINGER, 1985).

A velocidade das reações catalíticas das enzimas, está intimamente ligada a quantidade de energia associada a moléculas individuais em uma população microbiana, à temperatura constante. As variações da quantidade de energia necessária para a ativação e temperatura, podem ser representadas graficamente por uma curva em forma de sino (Figura 4). Algumas moléculas são muito ricas em energia, algumas muito pobres, mas a maioria tem conteúdo de energia próximo a um valor médio. Uma reação química, tal como $A \rightarrow P$, ocorre por uma certa fração das moléculas de A, em qualquer instante considerado, possui mais energia interna que o restante da população, energia suficiente para elevar a reação ao topo da curva de energia, chamado de estado de transição (Figura 4).

A energia de ativação de uma reação é a quantidade de energia em calorías necessária para levar todas as moléculas de 1 mol de uma substância, a uma dada temperatura, ao estado de transição, no topo da barreira energética. Neste ponto há igual probabilidade delas sofrerem a reação e formarem os produtos ou voltarem ao conjunto de moléculas de A que ainda não reagiram. A velocidade de qualquer reação química é proporcional à concentração de moléculas em estado de transição. Sendo mais elevada quando as moléculas de A estiverem no estado de

transição rico em energia, e baixo quando estas apresentarem uma pequena fração de A no estado de transição (LEHNINGER, 1985).

Existem dois caminhos gerais pelos quais a velocidade de reação química pode ser aumentada. Um é o aumento da temperatura, isso aumenta o movimento térmico das moléculas e assim aumenta a fração que possui energia interna suficiente para entrar no estado de transição. Geralmente a velocidade de reação química dobra quando a temperatura sobe 10°C.

O segundo caminho para acelerar a reação química é adicionar um catalisador. Os catalisadores aceleram as reações químicas fazendo com que a reação ocorra por um caminho mais baixo através da barreira energética. Geralmente, o catalisador combina transitoriamente com o reagente A, produzindo um novo complexo ou composto (catalisador - reagente), cujo estado de transição tem uma energia de ativação menor que a do estado de transição de A na reação não catalisada (Figura 4).

O complexo reage agora formando o produto P e deixando o catalisador livre, o qual pode se combinar com outra molécula de A e repetir o ciclo. O mesmo ocorre com a velocidade de reação catalisada por enzimas, onde a velocidade de reação varia pela concentração de substrato. Esta influência da concentração do substrato na velocidade inicial de uma reação enzimática pode ser representada através da equação de Michaelis & Menten (LEHNINGER, 1985).

3. 3. 6. 4. A equação de Michaelis & Menten

Segundo LEHNINGER (1985), o qual descreve a equação de Michaelis & Menten cita que, muitas enzimas mostram uma curva hiperbólica típica relacionando a velocidade de reação à concentração de substrato, com aproximação lenta e gradual do estado de saturação da enzima pelo substrato como apresentada na Figura 5.

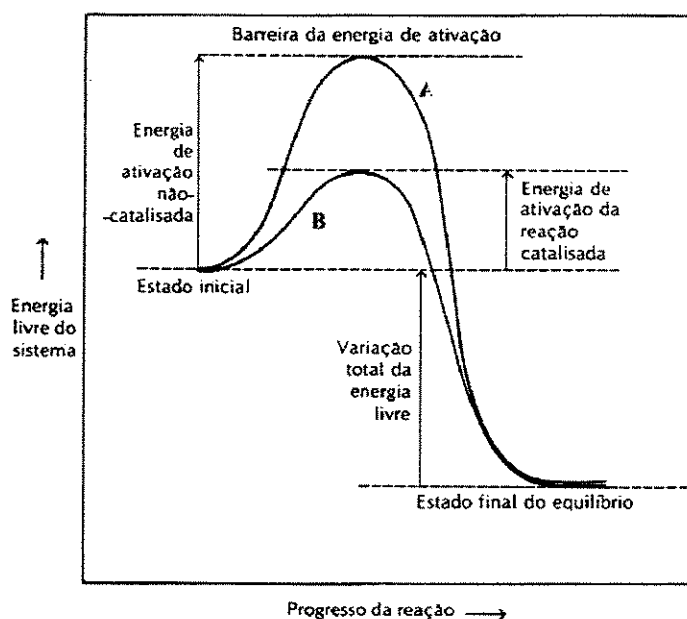


Figura 4 - Esquema representativo da velocidade de reações químicas enzimáticas não catalisada (A) e catalisada (B). (fonte: LEHNINGER, princípios de bioquímica, 1985)

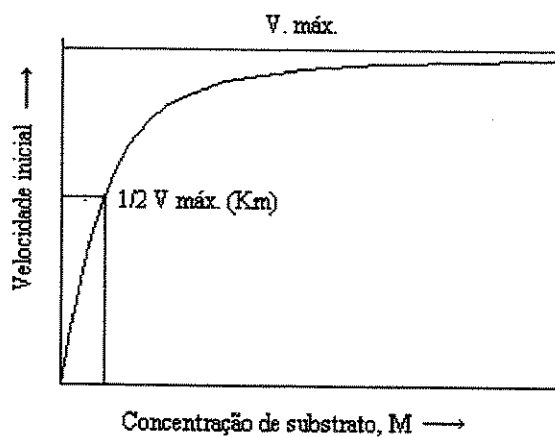


Figura 5- Efeito da concentração de substrato na velocidade inicial de uma reação catalisada enzimaticamente.

Observamos que existem dois pontos cardiais neste gráfico: (1) K_m que é, a concentração de substrato necessária para atingir a metade da velocidade máxima, e (2) $V_{máx.}$, ou seja, a velocidade máxima para qual a velocidade da reação tende, em concentrações infinitamente altas de substrato. Michaelis & Menten demonstraram que muitas informações úteis adicionais podem ser deduzidas da curva hiperbólica de saturação das enzimas, quando elas são traduzidas em uma forma matematicamente simples. A equação de Michaelis & Menten é a expressão algébrica da forma hiperbólica dessas curvas, na qual os termos importantes são a concentração do substrato (S), a velocidade inicial (V), $V_{máx.}$ e K_m . Esta equação é fundamental a todos os estudos da cinética enzimática porque permite o cálculo quantitativo de características enzimáticas e análise da inibição da enzima.

A dedução da equação de Michaelis & Menten começa com duas reações básicas envolvendo a formação e quebra do complexo enzima-substrato:



Se $[E_t]$ representa a concentração total da enzima (soma da enzima livre e combinada), e $[ES]$ a concentração do complexo enzima-substrato, $[E_t] - [ES]$ representa a concentração da enzima livre ou não combinada. A concentração de substrato $[S]$, é ordinariamente, maior que $[E_t]$, de forma que a quantidade de S ligado por E é, a qualquer tempo, negligível se comparada com a concentração total de S. A dedução começa considerando as velocidades de formação e quebra de ES:

1 - Velocidade de formação de ES: a velocidade de formação de ES na reação (3.1) é:

$$\text{velocidade de formação} = k_1([E_t] - [ES]) [S] \quad (3.3)$$

onde k_1 é a constante de velocidade da reação (3.1). A velocidade de formação de ES a partir de E + P por inversão da reação (3.2) é muito pequena e pode ser negligenciada.

2 - Velocidade de quebra de ES: a velocidade de quebra de ES é:

$$\text{velocidade de quebra} = k_{-1} [\text{ES}] + k_2 [\text{ES}]$$

onde k_{-1} e k_2 são as constantes de velocidade da reação inversa (3.1) e da reação direta (3.2), respectivamente.

3- O equilíbrio estacionário: quando a velocidade de formação de ES é igual a velocidade de quebra de ES, a concentração de ES será constante e o sistema de reação estará no equilíbrio estacionário:

$$\text{velocidade de formação de ES} = \text{velocidade de quebra de ES}$$

$$k_1 ([E_t] - [\text{ES}]) [\text{S}] = k_{-1} [\text{ES}] + k_2 [\text{ES}] \quad (3.4)$$

4 - Separação das constantes de velocidade: o lado esquerdo da equação (3.4) é multiplicado e obtemos:

$$k_1 [E_t] [\text{S}] - k_1 [\text{ES}] [\text{S}]$$

e o lado direito é simplificado, dando:

$$[k_{-1} + k_2] [\text{ES}]$$

Temos então:

$$k_1 [E_t] - k_1 [\text{ES}] [\text{S}] = [k_{-1} + k_2] [\text{ES}]$$

Quando transpostos os termos e mudando o sinal de $-k_1 [\text{ES}] [\text{S}]$, obtemos:

$$k_1 [E_t] [\text{S}] = k_1 [\text{ES}] [\text{S}] + [k_{-1} + k_2] [\text{ES}]$$

Esta expressão pode ser simplificada:

$$k_1 [E_t] [S] = (k_1 [S] + k_{-1} + k_2) [ES]$$

Resolvendo esta equação para [ES], temos:

$$[ES] = \frac{k_1 [E_t] [S]}{k_1 [S] + k_{-1} + k_2}$$

Simplificando e combinando as constantes de velocidade em uma única expressão:

$$[ES] = \frac{[E_t][S]}{[S] + [k_2 + k_{-1}] / k_1} \quad (3.5)$$

5 - Definição da velocidade inicial V_0 em termos de [ES]. A velocidade inicial, de acordo com a teoria de Michaelis & Menten, é dada pela velocidade de uma quebra na reação (3.2), cuja constante de velocidade é k_2 . Assim, temos:

$$V_0 = k_2 [ES]$$

Mas como [ES] é todo um lado da equação (3.5), substituindo seu valor nela obtemos:

$$V_0 = \frac{k_2 [E_t] [S]}{[S] + [k_2 + k_{-1}] / k_1} \quad (3.6)$$

Definindo a constante de Michaelis & Menten, como $K_m = [k_2 + k_{-1}] / k_1$ e definindo $V_{\max} = k_2 [E_t]$, isto é, a velocidade da reação quando toda a enzima presente está na forma de ES. Substituindo estes termos na equação (3.6) obtemos:

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

Esta é a equação de Michaelis & Menten, a equação da velocidade para reações enzimáticas com um substrato. Ela dá a relação quantitativa entre a velocidade inicial V_0 , e a

velocidade máxima $V_{\text{máx}}$, e a concentração inicial do substrato, todas relacionadas através da constante K_m de Michaelis & Menten.

Uma relação numérica importante emerge da equação de Michaelis & Menten o caso especial da velocidade inicial de reação ser exatamente igual à metade da velocidade máxima, isto é, quando $V_0 = 1/2 V_{\text{máx}}$. Então:

$$\frac{V_{\text{máx}}}{2} = \frac{V_{\text{máx}}[S]}{K_m + [S]}$$

Dividindo esta equação por $V_{\text{máx}}$ temos:

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

Resolvendo para K_m , temos:

$$K_m + [S] = 2[S]$$

$$K_m = [S] \text{ quando } V_0 \text{ é igual a } 1/2 V_{\text{máx}}.$$

A equação de Michaelis & Menten pode ser transformada em equações equivalentes que são úteis na determinação prática do K_m e da $V_{\text{máx}}$ e na análise da ação de inibidores.

A equação de Michaelis & Menten é básica em todos os aspectos da cinética da ação enzimática. Conhecendo o K_m e $V_{\text{máx}}$ podemos calcular a velocidade de uma reação enzimática em qualquer concentração de substrato. Assim podemos calcular quantitativamente para a maioria das reações enzimáticas os valores pretendidos.

O elemento chave na equação de Michaelis & Menten é o K_m . Em condições definidas de pH e temperatura, o K_m de uma enzima para um dado substrato é característico, e dado em tabelas em livros específicos. Um valor aproximado do K_m pode ser obtido por um método gráfico

simples como apresentado na Figura 3, entretanto é difícil determinar a $V_{\text{máx}}$ precisamente a partir deste gráfico, devido ao fato da curva apenas aproximar-se do valor de $V_{\text{máx}}$, sem nunca atingi-lo. Pode-se obter um valor mais preciso do K_m construindo-se um gráfico diferente com os mesmos dados experimentais, partindo-se a equação proposta por Lineweaver-Burk conhecido como duplo-recíproco obtido através de uma transformação algébrica da equação de Michaelis & Menten.

3. 3. 6. 5. Transformações da Equação de Michaelis & Menten: O Gráfico Duplo-Recíproco

A equação de Michaelis & Menten

$$V_o = \frac{V_{\text{máx}}[S]}{K_m + [S]} \quad (3.7)$$

pode ser transformada algebricamente em outras formas que são mais úteis no tratamento gráfico dos dados experimentais. Uma transformação muito empregada é obtida de forma simples, invertendo-se ambos os lados da equação de Michaelis & Menten (3.7):

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_m + (S)}{V_{\text{máx}}[S]}$$

Separando os componentes do numerador no lado direito da equação obtemos:

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_m}{V_{\text{máx}}[S]} + \frac{(S)}{V_{\text{máx}}(S)}$$

Simplificando:

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_m}{V_{\text{máx}}} \frac{1}{(S)} + \frac{1}{V_{\text{máx}}} \quad (3.8)$$

A equação (3.8) é a transformação proposta por Lineweaver-Burk. As enzimas que obedecem exatamente a equação de Michaelis & Menten dão uma linha reta quando lançarmos este gráfico $1/V_0$ contra $1/(S)$ (Figura 6). Essa linha tem inclinação igual a $K_m/V_{\text{máx}}$; o intercepto no eixo $1/V_0$ é igual a $1/V_{\text{máx}}$ e o intercepto no eixo $1/(S)$ é igual a $-1/K_m$. O gráfico duplo recíproco tem a grande vantagem de permitir uma determinação acurada de $V_{\text{máx}}$ o que pode ser feita apenas aproximadamente em um gráfico V_0 contra (S) , como mostrado na Figura 5 da equação de Michaelis & Menten.

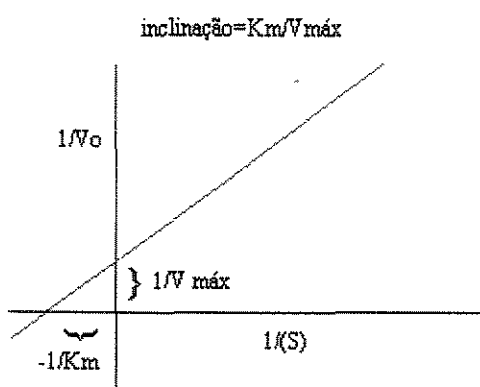


Figura 6 - Gráfico representativo da equação proposta por Lineweaver-Burk.

(fonte: LEHNINGER, Princípios de Bioquímica, 1985).

Outras transformações da equação de Michaelis & Menten têm sido feitas. Cada uma delas apresenta alguma vantagem particular na análise dos dados experimentais de cinética enzimática.

O gráfico duplo-recíproco dos resultados cinéticos das reações enzimáticas é muito útil na análise de inibição de enzimas.

3. 3. 7. Classificação das Enzimas

Autores como DIXON & WEBB (1979); GRADY & LIM (1980) e LEHNINGER (1985), descreveram em seus trabalhos que as enzimas são denominadas de acordo com a substância sobre a qual atuam (substrato), ou de acordo com a natureza da reação catalisada. Devido ao grande número de enzimas conhecidas hoje, foram adotadas nomenclatura e classificação sistemáticas. As enzimas são agrupadas em seis classes principais dependendo do tipo de reação que elas catalisam (Tabela 1).

Tabela 1 - Classificação internacional das enzimas

Número	Tipo de enzima	Ação Catalítica
1	Óxido-redutases	Reação de transferência de elétrons
2	Transferases	Transferência de grupos funcionais
3	Hidrolases	Reações de hidrólise
4	Liasas	Adição de duplas ligações
5	Isomerases	Reações de isomerização
6	Ligases	Formação de ligações com clivagem do ATP

As enzimas são classificadas por letras (EC) seguida de números divididos em 4 partes, por exemplo EC 3.4.17.1, onde, os 3 primeiros números definem a classe, subclasse e sub-subclasse, e o último é um número serial o qual indica quando a enzima foi adicionada a lista oficial de classificação.

3. 3. 8. Inibidores Enzimáticos

A maioria das enzimas pode ser inibida por certos reagentes químicos. Existem dois grandes tipos de inibidores enzimáticos: irreversíveis e reversíveis. Inibidores irreversíveis são

aqueles que combinam com o grupo funcional, ou o destroem comprometendo sua atividade catalítica (DIXON & WEBB, 1979; LEHNINGER, 1985).

Existem dois tipos de inibidores reversíveis: os competitivos e os não competitivos. O inibidor competitivo compete com o substrato pela ligação no sítio ativo mas, uma vez ligado, não pode ser transformado pela enzima. A inibição competitiva pode ser revertida ou diminuída pelo simples aumento da concentração do substrato. Por exemplo, se uma enzima está 50% inibida em uma dada concentração de substrato e de inibidor competitivo, nós podemos diminuir a porcentagem de inibição pelo aumento da concentração do substrato (DIXON & WEBB, 1979; LEHNINGER, 1985).

Os inibidores competitivos geralmente têm estrutura terceira tridimensional, parecida com a do substrato. Devido a esta semelhança, o inibidor competitivo "engana" a enzima que, assim, liga-se a ele. A inibição competitiva é facilmente reconhecível experimentalmente pela determinação do efeito da concentração do inibidor na relação entre concentração de substrato e velocidade inicial. A transformação "duplo-recíproco" da equação de Michaelis & Menten é muito útil na determinação do tipo de inibição reversível com que trabalhamos: se competitiva ou não competitiva (LEHNINGER, 1985).

Na inibição não competitiva o inibidor liga-se à enzima mas em local diferente do sítio ativo, através desta ligação ele altera a conformação da molécula da enzima produzindo inativação reversível do sítio catalítico. Os inibidores não competitivos ligam-se reversivelmente tanto à enzima livre como ao complexo ES (enzima/substrato) para formar complexos inativos EI (enzima/inibidor) e ESI (enzima/substrato/inibidor). Da mesma forma que os inibidores competitivos, também podemos quantificá-lo por gráficos "duplo-recíproco" através dos dados cinéticos (LEHNINGER, 1985).

Os inibidores não competitivos mais importantes são intermediários metabólicos que ocorrem naturalmente e podem combinar reversivelmente com certas enzimas regulatórias,

ocupando sítios específicos na molécula dessas enzimas, e assim mudar a atividade dos sítios catalíticos das mesmas (LEHNINGER, 1985).

3. 3. 8. 1 Testes Cinéticos para Distinguir Inibição Competitiva e Não Competitiva

Segundo LEHNINGER (1985), o gráfico duplo-recíproco construído com os dados referentes à velocidade das reações enzimáticas, é um método fácil para determinar se um inibidor enzimático é competitivo ou não competitivo. Realizando dois conjuntos de experimentos de medida da velocidade, a concentração da enzima é mantida constante em ambos. Em um conjunto de experimentos a concentração do substrato é mantida constante e, por medidas apropriadas, determina-se o efeito provocado pelo aumento da concentração de inibidor na velocidade inicial V_0 . Num outro conjunto de experimentos, a concentração de inibidor é mantida constante e a concentração de substrato é variada. Os recíprocos $1/V_0$ das velocidades iniciais V_0 são lançados em gráfico contra os recíprocos das concentrações do substrato $1/[S]$.

A Figura 7 mostra um conjunto de retas obtidas na ausência de um inibidor e em duas diferentes concentrações de um inibidor competitivo. Inibidores competitivos dão um conjunto de retas com interseção comum no eixo dos valores de $1/V_0$, mas com inclinações diferentes. Como a interseção no eixo $1/V_0$ é igual a $1/V_{\max}$, podemos ver que $V_{\max}$ não se modifica na presença de um inibidor competitivo. Isso quer dizer que, independentemente da concentração de inibidor, haverá sempre uma concentração suficientemente alta de substrato que deslocará o inibidor competitivo do sítio ativo da enzima.

Na inibição não competitiva, gráficos semelhantes construídos com os resultados cinéticos dão o conjunto de retas mostrado na Figura 8, ocorrendo a interseção comum no eixo dos valores $1/[S]$, indicando que o K_m para o substrato não é alterado por um inibidor não competitivo, mas a $V_{\max}$ diminui.

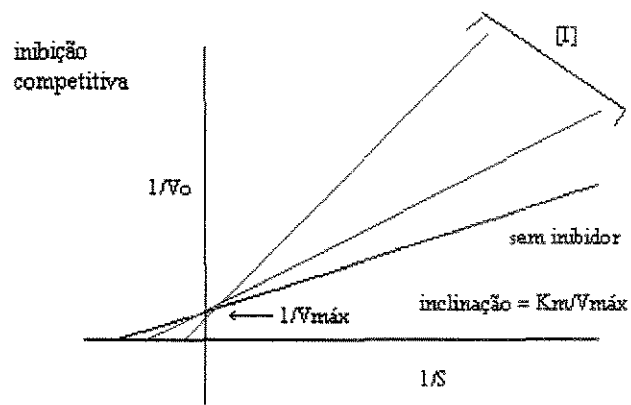


Figura 7- Gráfico representativo de inibição competitiva.
(fonte: LEHNINGER, Princípios de Bioquímica, 1985)

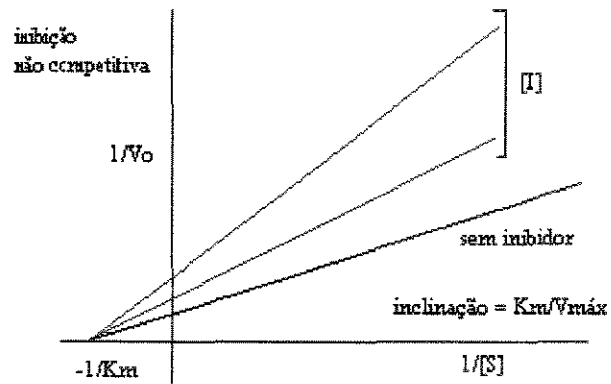


Figura 8- Gráfico representativo de inibição não competitiva
(fonte: LEHNINGER, Princípios de Bioquímica, 1985)

3. 4. Princípios Biológicos do Tratamento de Águas Residuárias

O tratamento biológico de águas residuárias baseia-se no princípio da autodepuração dos corpos d'água, onde a oxidação da matéria orgânica se dá pela digestão desse material pelos microrganismos presentes na água (BRANCO, 1986).

As bactérias, fungos, vermes e outros microrganismos responsáveis por essas oxidações, nutrem-se para viver, alimentam-se de matéria orgânica e respiram oxigênio. Existem dois caminhos para que ocorra a oxidação biológica: aeróbio e anaeróbio, realizados, respectivamente, por organismos que respiram oxigênio dissolvido (OD) e os que utilizam outros tipos de receptores de hidrogênio. Em ambos os casos, as bactérias desempenham um importante papel como intermediários da reação.

No processo de depuração natural (autodepuração) que ocorre nos cursos d'água, ambas as formas de oxidação estão presentes: a aeróbia, junto à superfície líquida e a anaeróbia, no fundo, especialmente nos depósitos de lodo orgânico ou em toda a massa d'água, quando a carga de poluição é suficientemente grande para consumir todo o oxigênio. Do mesmo modo, o tratamento dos esgotos pode seguir um desses dois caminhos. O grau de tratamento exigido corresponde à parcela de carga poluidora que o corpo d'água por si próprio não tenha capacidade de depurar, porém sem prejuízo para a vida aquática (BRANCO, 1986).

BRANCO (1986) menciona que a concentração de oxigênio dissolvido em qualquer massa d'água isenta de matérias redutoras (despejos, matéria orgânica em decomposição), está em equilíbrio permanente com a pressão parcial do oxigênio atmosférico. Essa concentração é proporcional à temperatura da água e pode ser expressa em termos de porcentagem de saturação. Quando essa água recebe determinada carga poluidora, uma parte de seu oxigênio vai ser consumido pela oxidação biológica da matéria reduzida. Nessas condições, a água não se encontra mais saturada de oxigênio, apresentando um déficit de saturação. Posteriormente, esse déficit de saturação tende a ser compensado através de dois fenômenos: a re-aeração, a partir do oxigênio

atmosférico (exógeno) e a re-oxigenação, a partir da produção fotosintética, pelos organismos clorofilados que habitam na água (endógeno). A tendência final será a recuperação das condições iniciais, ou seja, a saturação de oxigênio, completando o processo geral de autodepuração.

Os processos biológicos, embora coagulem ou removam sólidos coloidais não sedimentáveis, têm como objetivo principal a decomposição de materiais orgânicos através do metabolismo celular dos microrganismos. Estes processos, que são os mais importantes no tratamento dos esgotos sanitários e despejos industriais biodegradáveis, fundamentam-se no aproveitamento do trabalho natural de biodegradação dos microrganismos para a estabilização da matéria orgânica dos esgotos (LEME, 1984).

A eficácia dos processos de tratamento secundário é, em sua maior parte, dependente do crescimento e do metabolismo microbianos. As atividades químicas dos germes são responsáveis em auto grau, pela estabilização do efluente final. O mesmo é verdade para a liquefação, a gaseificação e a mineralização dos constituintes do sedimento.

Do ponto de vista ecológico, os esgotos representam um dos ambientes microbiológicos mais complexos. As populações totais, assim como a distribuição dos tipos fisiológicos, sofrem grandes variações. A variedade de substratos suscetíveis aos processos de degradação por esta flora microbiana mista é significativa. Ocorrem interações entre as espécies, produzindo resultados que não são típicos das culturas puras (PELCZAR et al., 1981).

Nos sistemas de tratamento secundário podemos observar dois tipos de produtos finais. Nas condições anaeróbias, estas resultam numa variedade de produtos oxidados incompletamente, já nas condições aeróbias, levam à obtenção de produtos mais inteiramente oxidados. A eficácia da aeração, a capacidade metabólica dos microrganismos e o tempo de tratamento determinarão a extensão da oxidação.

3. 4. 1. Tratamento Biológico Aeróbio

Segundo BRANCO (1986), no processo aeróbio procura-se intensificar a proliferação de certos microrganismos, especialmente bactérias que além da propriedade de oxidar aerobicamente a matéria orgânica, possuem característica de importância especial para esse tipo de tratamento, que é a de formarem massas capazes de absorver partículas em suspensão.

Sendo os processos biológicos aeróbios destinados principalmente ao tratamento da fase líquida contendo partículas finas em suspensão, é de todo interesse que se verifique a floculação desse material, dando origem a massa de maior tamanho e densidade, tal como é realizado na coagulação e decantação das águas de abastecimento, para remoção das partículas suspensas. Neste caso são aplicados coagulantes químicos. No caso dos esgotos, este processo se dá por certos tipos de microrganismos com propriedades coloidais, capazes de oxidar aerobicamente as partículas orgânicas absorvidas.

3. 4. 2. Microbiologia de Lodos Ativados

Os rios possuem capacidade auto-depuradora, que se realiza através da estabilização biológica (biodegradação) da matéria orgânica proveniente dos despejos neles lançados. Em condições aeróbias, o mecanismo envolvido na biodegradação processada por bactérias é a respiração celular que promove a oxidação dos compostos orgânicos com quebra das moléculas complexas, que se transformam em moléculas mais simples e mais estáveis. Portanto, o oxigênio é o principal aceptor dos elétrons gerados a partir da degradação desses compostos (LEHNINGER, 1985). Além disso, durante o metabolismo respiratório, ocorre a liberação de energia necessária para o crescimento e manutenção das células.

No caso de lançamento contínuo de despejos “*in natura*” num corpo receptor, pode ocorrer o esgotamento do oxigênio disponível em solução, como consequência da estabilização da matéria orgânica, criando condições anaeróbias. Com isto, ocorre o desaparecimento de

microrganismos aquáticos originais e a morte dos peixes e dos vegetais, deixando o corpo receptor inviável para o uso como fonte de abastecimento de água potável e para recreação. Portanto existe grande interesse, tanto de ordem econômica quanto sanitária e social, em que os despejos sejam submetidos a tratamento adequado antes de seu lançamento nos corpos d'água (BRANCO, 1986).

O tratamento biológico dos despejos realiza-se pela reprodução artificial do mecanismo de biodegradação que ocorre no rio, passando a funcionar apenas como dispersor, no meio ambiente, de despejos tratados. Um dos processos mais utilizados de tratamento biológico é o de lodos ativados. Trata-se de processo fermentativo aeróbio contínuo com ou sem reciclo de biomassa, que se constitui num inóculo permanente e adaptado (BRANCO, 1986).

BRANCO (1986) e HAWKES (1963) mencionam que para se compreender melhor a Microbiologia envolvida neste sistema de tratamento, é necessário compreender melhor os mecanismos de nutrição, respiração e de crescimento bacteriano.

3. 4. 2. 1. Nutrição

De acordo com suas necessidades nutricionais e energéticas, os seres vivos são classificados em dois grandes grupos: os autotróficos e os heterotróficos. Os seres autotróficos (vegetais), são os que utilizam compostos inorgânicos (CO_2 e H_2), sintetizando a partir destes na presença de luz (fotossíntese), substâncias orgânicas. Os seres heterotróficos (animais), requerem substratos orgânicos para deles retirar a energia necessária ao seu desenvolvimento.

Contudo esta classificação é bastante simples e insuficiente para explicar a grande variedade de caminhos nutricionais que os organismos utilizam. Com base em dois parâmetros importantes, isto é, a natureza da fonte energética e da fonte principal de carbono, é possível reunir os microrganismos em quatro categorias nutricionais bem distintas (STANIER et al. 1976), a saber:

a) **Fotoautotróficos**, que se servem da luz como fonte de energia e de CO_2 como principal fonte de carbono. São exemplos desta categoria os organismos fotossintéticos, os vegetais superiores, as algas, algumas bactérias conhecidas como fotossintetisantes e certos protozoários;

b) **Fotoheterotróficos**, que tem a luz como fonte de energia, e um composto orgânico como fonte principal de carbono. Podem ser classificados como parte desta categoria as bactérias púrpuras e verdes;

c) **Quimioautotróficos**, que utilizam uma fonte de energia química e o CO_2 como principal fonte de carbono. A energia é obtida pela oxidação de compostos inorgânicos reduzidos, tais como NH_3 , NO_2 , H_2 , formas reduzidas do S (H_2S , S_2O_3), e compostos ferrosos. Somente bactérias pertencem a esta categoria nutricional, devido à capacidade de crescerem em meios minerais simples, e na ausência de luz. Estes organismos também são conhecidos como quimiolitotróficos;

d) **Quimioheterotróficos**, que usam uma fonte de energia química e um composto orgânico como principal fonte de carbono. Para estes organismos não está clara a distinção entre fonte de energia e fonte de carbono, notada nas três categorias anteriores. Neste caso, tanto a fonte de carbono quanto a de energia podem ser derivadas do metabolismo de uma substância orgânica simples. Este grupo é representado por metazoários, protozoários, fungos e a grande maioria das bactérias.

Os organismos desta categoria nutricional podem ser subdivididos de outra maneira. Uma delas baseia-se no estado físico do nutriente orgânico que entra na célula. Assim, são chamados de **osmotróficos**, as bactérias e fungos que retiram seus nutrientes do meio sob forma dissolvida, e de **fagotróficos**, as que usam partículas sólidas como alimento através da fagocitose.

Outra subdivisão adotada está relacionada com a utilização da matéria orgânica, em estado de putrefação ou não. Os organismos **holozóicos**, maioria dos animais superiores e alguns

protozoários, utilizam a matéria orgânica viva. Os **sapróbicos**, utilizadores de matéria orgânica morta em putrefação, são os saprozóicos, a maioria dos protozoários e alguns animais superiores. Os saprofíticos compreendem as bactérias e fungos. Estes dois últimos são diferentes entre si apenas porque os primeiros ingerem matéria particulada e o segundo, dissolvida.

A grande versatilidade nutricional dos microrganismos para seu crescimento e manutenção faz com que a classificação de alguns grupos possa estar incluída em mais de uma categoria.

BRANCO (1986) comenta que a oxidação da matéria orgânica do esgoto depende da presença de microrganismos em grande quantidade, os quais devem reproduzir-se. Em outras palavras, devem dar origem a novos organismos às custas do material retirado do meio, através do processo de nutrição. Pode-se dizer, portanto, que nem toda a carga orgânica do esgoto, representada pela sua DBO, é oxidada, pois uma parte considerável da mesma é simplesmente transformada em massa de bactérias. Os organismos responsáveis por essa atividade podem ser autotróficos ou heterotróficos, compreendendo-se nessa classificação vários graus de necessidade com relação aos nutrientes minerais e orgânicos. O alimento orgânico é constituído principalmente pelas partículas de substâncias decomponíveis, oxidáveis, que representam o material poluidor do esgoto.

LEME (1984) menciona que o trabalho bacteriano de biodegradação da matéria orgânica está conjugado com o metabolismo das bactérias, que pode ser definido como a soma de todas as reações bioquímicas de um organismo (utilização de alimento, crescimento, multiplicação do organismo e a disposição da energia). As bactérias necessitam de alimentos para o seu desenvolvimento, porém como não possuem clorofila, não podem utilizar o sol como fonte de energia e nenhuma outra fonte de energia, exceto a que obtém através do seu metabolismo. Os principais componentes para a nutrição e desenvolvimento dos microrganismos podem ser agrupados em dois tipos: os macronutrientes (oxigênio, carbono, nitrogênio fósforo e enxofre) e os micronutrientes (K, Na, Mg, Mn, Ca e Fe).

Na maioria das vezes, os nutrientes minerais necessários ao conjunto de microrganismos do esgoto encontram-se presentes nos mesmos. Apenas os compostos de nitrogênio e de fósforo podem estar em concentrações insuficientes, havendo a necessidade de suplementação artificial (BRANCO, 1986).

3. 4. 2. 2. Respiração

O processo de respiração dos microrganismos aeróbios heterotróficos pode ser entendido como um processo de oxidação de combustíveis orgânicos (substratos) pelo oxigênio molecular. Consequentemente, na respiração, o oxigênio serve como aceptor final de elétrons. A energia obtida com a oxidação do substrato é armazenada sob a forma de ligações químicas de alta energia, que será posteriormente utilizada pela célula. A formação dessas ligações é o processo conhecido como fosforilação oxidativa, onde a adenosina difosfato (ADP) é convertida em adenosina trifosfato (ATP), sendo esta última o composto que armazena a energia obtida na respiração (VAZOLLÉR et al. 1989).

O processo respiratório compreende as seguintes etapas: glicólise (degradação de uma molécula de glicose em duas de ácido pirúvico), ciclo do ácido tartárico e cadeia respiratória.

Através da respiração aeróbia, os organismos que formam os flocos oxidam a matéria orgânica que retiram do esgoto. O oxigênio necessário deve estar no próprio esgoto, que constitui o oxigênio dissolvido (OD), podendo ser enriquecido pela atividade de microrganismos fotosintetizantes, por contato direto com o ar ambiente ou por introdução mecânica, de acordo com o tipo de tratamento aeróbio (BRANCO, 1986).

Assim, o esgoto ao ser intensamente aerado na fase inicial do tratamento, sofre grande redução de sua DBO e, portanto, do seu conteúdo de matéria orgânica. Porém, essa matéria orgânica é inicialmente armazenada nas células sob a forma de glicogênio, e não é imediatamente metabolizada. Só posteriormente, com a continuação do processo de tratamento, é que essa será

transformada em material para gerar novos microrganismos ou oxidada para a produção de energia necessária a essa mesma síntese ou às atividades locomotoras (BRANCO, 1986).

Portanto, o fornecimento de ar tem por função suprir o meio em oxigênio, de modo suficiente para que os microrganismos possam respirar, oxidando suas reservas de glicogênio (no caso das bactérias) ou de outros compostos (no caso de protozoários, e outros organismos).

3. 4. 2. 3. Crescimento Bacteriano

O crescimento dos microrganismos em culturas puras, pode ser observado segundo o modelo da curva de MONOD (1941) apud VAZOLLÉR et al. (1989). (Figura 9)

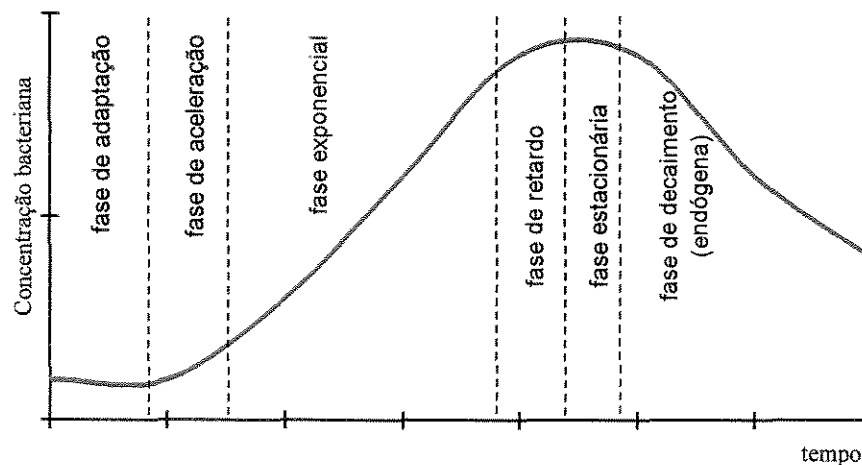


Figura 9 - Modelo de curva de crescimento bacteriano em culturas puras proposto por Monod.

Fonte adaptada: METCALF & EDDY (1991).

O modelo acima apresenta as seguintes etapas ou fases:

Fase Lag ou de aclimação: não ocorre aumento do número de microrganismos, enquanto os mesmos elaboram o arsenal enzimático necessário ao consumo dos substratos. A velocidade de crescimento é nula.

Fase de aceleração: inicia-se o crescimento microbiano, face ao consumo de substrato. A velocidade de crescimento aumenta com o tempo.

Fase Log ou exponencial: frente às condições adequadas de vida, tais como substrato abundante, baixa concentração de metabólitos tóxicos, entre outros, o microrganismo cresce com velocidade máxima, que pode ser representada por uma função exponencial.

Fase de desaceleração ou retardo: a velocidade de crescimento, que era máxima na fase anterior, passa a diminuir, uma vez que o substrato disponível começa a se tornar limitante e já existe acúmulo considerável de excreções tóxicas.

Fase estacionária: a velocidade de crescimento dos microrganismos volta a ser nula, devido ao esgotamento dos substratos ou ao acúmulo de substâncias tóxicas em níveis incompatíveis com o desenvolvimento microbiano.

Fase de declínio: ocorre a diminuição do número de microrganismos (velocidade de crescimento negativa) causada pela sua morte e lise.

Na fase estacionária e de declínio, o microrganismo consome suas reservas protoplasmáticas (emagrecimento celular), sendo este processo conhecido como metabolismo endógeno. Estas duas fases podem ser também chamadas de fases endógenas. Embora a curva de crescimento tenha sido descrita para culturas puras, é também bastante utilizada para culturas mistas, tais como aquelas de lodos ativados (VAZOLLÉR et al., 1989).

Neste processo, a depuração biológica ocorre no tanque de aeração alimentado com o despejo a ser tratado (afluente). O lodo biológico encontra-se misturado com o meio líquido. Em sua maior parte, ele é formado por uma população mista de bactérias agregadas sob a forma de

flocos biologicamente ativos, de onde vem o nome de lodos ativados. Um esquema de lodos ativados completo é mostrado na Figura 10 (ALVARENGA & ALEM SOBRINHO, 1977).

3. 4. 2. 4. Reprodução

A reprodução se dá através de brotamento no caso de leveduras e fungos, ou por bipartição, no caso da maioria das bactérias. No processo de tratamento biológico de esgotos, a reprodução dos microrganismos está associada a formação de flocos. Estes, por sua vez, são de grande importância na remoção dos sólidos suspensos, devido a maior facilidade de sedimentação (BRANCO, 1986).

A formação dos flocos é propiciada pelo envoltório ou bainha de consistência gelatinosa das células, rica em polissacarídeos. Sendo essa bainha embebível e parcialmente solúvel em água, pode aumentar consideravelmente em espessura, chegando a formar grandes massas gelatinosas, que contém milhares de bactérias em seu interior. Essas massas são conhecidas como Zooglea (BRANCO, 1986).

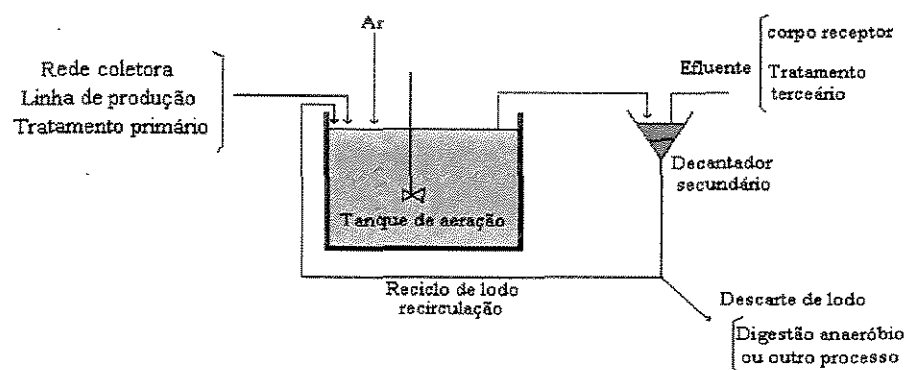


Figura 10- Esquema do processo de lodos ativados.

A floculação está relacionada com a fase de crescimento das bactérias. Não há formação de flocos na fase de crescimento celular, ou fase de proliferação, que se observa quando o meio é rico em nutrientes. Isto também se estende à fase de decaimento, onde a proliferação é apenas proporcional à quantidade de matéria nutritiva. Somente na fase endógena observa-se a formação de flocos, sendo que com o esgotamento dos nutrientes as bactérias passam a viver de suas reservas nutritivas. Isto coincide com o decaimento da curva de reprodução. Portanto, a floculação está condicionada, além dos fatores coloidais, à capacidade energética do meio em que vivem (BRANCO, 1986).

No processo aeróbio de tratamento de esgotos, a aeração produz a oxidação rápida da matéria orgânica através de uma intensa proliferação de bactérias aeróbias, as quais consomem os nutrientes, entrando em fase endógena por superpopulação. Nessa fase se dá a floculação, que permite a precipitação das partículas restantes em suspensão. Nessas condições, pode-se ter as seguintes situações:

- a) aeração deficiente, que poderá manter um excesso de matéria nutritiva, e portanto um excesso de valor energético, impedindo uma boa floculação;
- b) aeração excessiva, que intensifica a floculação, mas que dará origem a flocos de baixa capacidade depuradora, em virtude de um metabolismo muito reduzido das bactérias que os formam.

3. 5. Microrganismos no Processo de Lodos Ativados

Embora o meio ambiente seja aquático, os organismos presentes em sistemas de lodos ativados não são necessariamente os mesmos de ambientes naturais de águas doces. Isto porque o processo apresenta características específicas, como turbulência devido a aeração, e turbidez, devido a presença de material em suspensão.

Apenas a microfauna é encontrada neste processo, pois a turbulência não permite o desenvolvimento de organismos maiores. A turbidez do meio evita a penetração de luz, evitando o desenvolvimento de algas. Dentre a microbiota normalmente são encontrados vários tipos de bactérias filamentosas, e, às vezes, fungos e leveduras formando a biomassa. As bactérias são organismos sapróbicos, consumidores primários que degradam a matéria orgânica do despejo promovendo sua estabilização. (PIKE & CARRINGTON, 1972).

As bactérias filamentosas presentes tanto no floco como dispersas no meio, igualmente degradam a matéria orgânica, mas seu crescimento deve ser controlado, pois pode causar problemas na decantação do lodo (PIPES, 1967). Como representantes da microfauna encontram-se protozoários e micrometazoários.

A presença de microfauna é um importante indício de funcionamento do processo, e, uma vez que um observador experiente pode identificá-la com certa facilidade, é utilizada como indicador biológico. A identificação de bactérias é um processo em geral mais lento e oneroso em relação à de protozoários, o que dificulta sua utilização como indicadores. Para serem utilizados nas estações de tratamento, os métodos de análise devem ser simples.

A observação qualitativa e quantitativa da microfauna vem sendo realizada no controle do processo de lodos ativados. Entretanto, ainda se encontra pouco desenvolvida como instrumento de diagnóstico, pois existem problemas de amostragem, contagem e aproveitamento dos dados obtidos, devido a complexidade das interações.

As populações de bactérias (decompositoras primárias) fixam um substrato complexo, geralmente variável em qualidade e quantidade. A partir desses organismos decompositores vive uma fauna de consumidores primários, também sujeitos à predação entre si como é o caso dos protozoários. As interações, tanto de competição quanto de predação são muito diversificadas (DRAKDES, 1980).

Outro fator importante a se considerar na observação ao microscópio é a avaliação da concentração de bactérias filamentosas. Estas encontram-se quase sempre presentes nos flocos bacterianos; porém, sua quantidade em relação aos flocos deve ser limitada para que não ocorram problemas na decantação do lodo, ou entumescimento filamentoso do lodo, conforme citado por PIPES (1967). A má decantação do lodo pode, contudo, ter outras origens, tais como o aumento exagerado de um tipo de bactéria, a *Zooglea ramigera*, ou de fungos filamentosos (EIKELBOOM & BUIJESSEN, 1981).

O aspecto do lodo em geral pode ser descrito da seguinte forma: As bactérias se agregam formando flocos biológicos, que também congregam bactérias filamentosas. Na superfície desses flocos fixam-se os protozoários sésseis, ciliados pedunculados ou peritríquias. Há protozoários que vivem em estreita ligação com os flocos, alimentando-se destes e mantendo-se sempre em torno deles, sem estar, fisicamente ligados (ciliados hipotríquias). Finalmente, existem os ciliados livre-nadantes que se movem nos espaços entre os flocos, os flagelados e as amebas, podendo estes dois últimos estar preferencialmente tanto na superfície do floco quanto no espaço entre eles, dependendo da espécie. Os micrometazoários (rotíferos e pequenos vermes) também se locomovem, em geral, nos espaços entre os flocos (WARD & WHIPPLE, 1959 apud VAZOLLÉR, 1989; SEZGIN et al., 1978).

A determinação precisa de todas as espécies presentes é difícil de ser realizada num trabalho de controle. Assim, utilizam-se contagens simplificadas de microfauna, arranjadas em classes ou em grandes grupos. A natureza da microfauna presente é característica da idade do lodo, que é o tempo médio de permanência do lodo no reator. É também característica da saprobicidade, o nível de qualidade da água refletido pelas espécies que constituem a comunidade presente, de acordo com a matéria orgânica biodegradável, expressa em DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio). Esta representa o resultado analítico da quantidade de oxigênio necessário para oxidar biologicamente uma determinada quantidade de matéria orgânica ao longo de cinco dias de incubação a 20°C. Assim, uma determinada comunidade é indicadora do nível sapróbico de um determinado meio.

No tratamento aerado de despejos, como é o caso do processo de lodos ativados, o meio no tanque de aeração, segundo a saprobicidade, pode variar de oligossapróbica (condições excelentes de depuração, com DBO₅ média em torno de 2,5 mg/L), a polisapróbica (condições inferiores de depuração, com DBO₅ média em torno de 50 mg/L). As condições intermediárias de nível de qualidade de efluentes são: β- mesosapróbica (DBO₅ média de 5 mg/L) e α- mesosapróbica (DBO₅ média em torno de 10 mg/L). As condições α e β- mesosapróbicas são as mais freqüentes em tratamentos aerados de despejos (SLÁDECEK, 1972 apud VAZOLLÉR, 1989).

As espécies microbianas reagem individualmente aos fatores tróficos ou físico-químicos de seleção do meio, segundo as suas características próprias. O fato da microfauna sofrer a ação simultânea de todos os parâmetros do processo e de se substituir em condições não ideais, torna-a um indicador extremamente sensível. A microfauna é indicadora, portanto, do conjunto de parâmetros de funcionamento do processo de lodos ativados, uma vez que sua natureza varia com o nível de depuração, com a concentração de oxigênio dissolvido, com a presença de substâncias tóxicas, entre outros, dentro do tanque de aeração (BICH, 1978).

3. 5. 1. Principais Microrganismos Envolvidos no Processo de Lodo Ativado

3. 5. 1. 1. Bactérias

As bactérias unicelulares mais freqüentes encontradas nos lodos ativados, pertencem aos gêneros *Achromobacterium*, *Chromobacterium* (*Flavobacterium*) e *Pseudomonas*, além da *Zoogloea ramigera*, considerada por muito tempo como a única responsável pela floculação. Estes organismos são bastonetes gram-negativos, com ação proteolítica. A *Zoogloea* possui forma mais gelatinosa, e é reconhecível ao microscópio por formar estruturas cêntricas (VAZOLLÉR, 1989).

Dentre as bactérias filamentosas, a espécie *Sphaerotilus natans* é a mais comum em lodos ativados, caracterizando-se pela presença de bainha e ramificação falsa. São filamentos finos com septos não visíveis. Há outras bactérias que podem estar presentes no processo, como *Triotrix*, *Beggiatoa* e *Nocardia*, entre outros. Um crescimento excessivo de bactérias filamentosas dificulta a decantação do lodo, causando um estado chamado entumescimento filamentoso do lodo. Por isso, é necessário um controle constante da concentração de filamentos como prevenção de um problema que, se não cuidado a tempo, pode levar a perda de sólidos em suspensão pelo efluente (VAZOLLÉR, 1989).

3. 5. 1. 2. Fungos

Os fungos não são muito comuns em lodos ativados e, quando presentes, pertencem ao grupo dos Deuteromicetos (fungos imperfeitos). Com maior frequência são encontradas espécies de gênero *Geotrichum*. Quando se desenvolvem em excesso, também são passíveis de provocar entumescimento do lodo. Podem predominar em processos em que se verifique acentuada queda de pH (VAZOLLÉR, 1989).

3. 5. 1. 3. Microfauna

Os organismos freqüentemente encontrados em sistema de lodo ativados podem ser agrupados de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2- Agrupamento de organismos de diversos gêneros presentes em sistema LAB.

Grupos	Gêneros freqüentes
Classe Ciliata	
a) Ciliados livre-nadantes	<i>Paramecium, Colpidium, Litonotus, Tracchelophyllum, Amphileptus, Chilodonella</i>
b) Ciliados pedunculados	<i>Vorticella, Opercularia, Epistylis, Charchesium</i> , e as suctórias <i>Ascineta e Podophrya</i>
c) Ciliados livres, predadores do floco	<i>Aspidisca, Euplotes, Stylonychia, Oxytricha</i>
Classe Mastigophora - Flagelados	<i>Bodo, Cercobodo, Mona sp, Oicomonas sp, Euglena sp, Cercomonas sp, Paramonas</i>
Classe sarcodina - amebas	<i>Amoeba, Arcella, Actinophrys, Valhikampfi, Astramoeba, Diffugia, Cochliopodium</i>
Classe Rotífera - rotíferos	<i>Philodina, Rotaria, Epiphanes</i>
Classe Nematoda - nematóides	<i>Rhabditis</i>
Filo anelida - anelídeos	<i>Aelosoma</i>

Fonte adaptada de: VAZOLLÉR, (1989)

3. 6. Sistemas de Lodos Ativados

Segundo JORDÃO & PESSOA (1975), lodo ativado é o floco produzido num esgoto bruto ou sedimentado pelo crescimento de bactérias (zoogleas) ou de outros organismos, na presença de oxigênio dissolvido e acumulado em concentração suficiente, graças ao retorno artificial ou preservação de flocos previamente formados.

No sistema de lodo ativado não há um substrato sólido para a fixação dos microrganismos, ou se há, este é constituído pelas próprias partículas em suspensão no esgoto. Outra característica do processo é que, sendo os flocos móveis e não permanentemente fixos em uma determinada posição da unidade de tratamento, podem ser retirados dos esgotos e transferidos para o esgoto bruto ou em início de depuração, sob forma de retorno de lodo. Dessa forma acelera-se o processo, não só devido a grande capacidade depuradora, como também pela verdadeira

inoculação de microrganismos depuradores que vão se reproduzir no novo meio (BRANCO, 1986).

A introdução constante de ar não só fornece o oxigênio indispensável à atividade respiratória dos microrganismos, como promove a agitação do meio, distribuindo uniformemente por toda a massa líquida, os lodos constituídos pelos flocos. Na oxidação biológica verificada no sistema de lodos ativados, deve-se levar em consideração os seguintes fatos:

- a) a formação de flocos com capacidade adsorvente se encontra na dependência de uma inatividade parcial das bactérias, uma vez que, de outro modo, elas não se aglutinariam. Essa inatividade pode ser proporcionada através de uma nutrição deficiente ou através de uma taxa elevada de oxigenação, o que reduz a quantidade de energia disponível para as bactérias;
- b) a maior taxa de metabolização das bactérias e, conseqüentemente, a maior capacidade de remoção de DBO se dá na fase logarítmica de crescimento e na fase de declínio, enquanto que na fase endógena, as bactérias passam a se auto-digerir, tendo as suas capacidades metabolizadoras muito reduzidas (BRANCO, 1986).

Assim, quando ocorre a oxidação total nos lodos ativados, há a formação de flocos de alta capacidade adsorvente, mas de pequeno poder oxidante. Esse lodo pode se autoconsumir, havendo mais mortes do que crescimento de bactérias o que resultará na formação de CO_2 , água e amônia como subproduto, no esgoto (BRANCO, 1986).

Portanto, deve-se atingir um estágio intermediário através da introdução adequada de esgoto e de oxigênio, de modo a se obter bactérias com capacidade suficiente de depuração, e que ao mesmo tempo não disponham de energia tão intensa que prejudique a formação de flocos adsorventes.

GRAY (1990) menciona que 64% dos sólidos totais são classificados como solúveis, 34% como particulados, 80% como fração particulada orgânica, e apenas 20% como fração solúvel. Segundo o autor, a maior parte da carga orgânica de lodos ativados encontra-se na forma coloidal ou de sólido particulado de grande tamanho.

No primeiro estágio da purificação, o material particulado e coloidal é rapidamente absorvido ou aglomerado num floco microbiano. Enquanto o material solúvel presente pode ser utilizado imediatamente, o coloidal ou a matéria suspensa deve ser solubilizado extracelularmente antes de tornar-se disponível para a oxidação microbiana GRAY (1990).

RICKERT & HUNTER (1983) demonstraram que os sólidos particulados são removidos pelo tratamento biológico de forma mais eficiente do que a fração solúvel, o que mostra a importância dos processos físico-químicos no tratamento de esgotos. A natureza variada da matéria orgânica presente assegura que está sendo oxidada à taxas diferentes.

NEMEROW (1963) comenta que o sistema de lodos ativados tem se mostrado bastante efetivo no tratamento do esgoto doméstico. Neste sistema, são gerados flocos biologicamente ativos, capazes de adsorver matéria orgânica dos despejos e converter em produtos finais simples, como CO_2 , H_2O , NO_3^{2-} , SO_4^{2-} .

Os lodos biológicos desenvolvem-se naturalmente em despejos orgânicos aerados que contém uma considerável porção de matéria coloidal e suspensa. No entanto, para uma remoção eficiente de sólidos orgânicos dissolvidos, são necessárias altas concentrações de flocos, a fim de se promover uma ampla superfície de contato para o desenvolvimento de atividades biológicas aceleradas. Os flocos são massas vivas de organismos e lodo, e são centros altamente ativos de vida biológica. Daí o termo “lodo ativado” (GRAY,1990).

3. 6. 1. Impactos Ambientais do Sistema de Lodos Ativados

Existem muitos impactos ambientais causados por águas residuárias e lodos provenientes de algum tipo de tratamento. Quando se trata do sistema de lodos ativados, o odor, os ruídos e a formação de aerossóis são os principais problemas relacionados. Entretanto, segundo GRAY (1990), muitos destes problemas estão restritos a determinados locais, e raramente têm efeito fora da área da estação de tratamento.

Várias estações de tratamento foram construídas em locais afastados de zonas residenciais. Porém, com o passar do tempo, houve o desenvolvimento e a construção de edificações e consequentemente, um aumento do número de reclamações relacionadas à estação de tratamento. As principais causas dos problemas relatados são:

a) Odor - De acordo com GRAY (1990), a aeração empregada no sistema de lodos ativados é um método em que quaisquer compostos voláteis poderão ser liberados para a atmosfera, havendo a possibilidade de formação de algum tipo de odor. Entretanto, a menos que existam compostos voláteis no efluente industrial, ou que a água residuária seja anaeróbia e sofra degradação parcial no esgoto, não será produzido nenhum odor.

Condições anaeróbias em tanques de aeração resultarão numa variedade de odores desagradáveis devido à quebra de proteínas, carboidratos e lipídeos. A prevenção de odores neste caso pode ser feita pela remoção de compostos voláteis que produzam odores, ou pela prevenção de possíveis condições anaeróbias nos tanques de aeração.

b) Ruído - GRAY (1990) concluiu que todos os sistemas de aeração produzem ruídos devido aos motores ou compressores utilizados. O ruído produzido pelo sistema de lodos ativados próximos de áreas residenciais é irritante principalmente à noite, quando o ruído da atividade urbana é diminuído.

Segundo o autor, este problema pode ser minimizado adotando procedimentos de diminuição da aeração pela redução do número de aeradores em funcionamento durante a noite, devido à redução da demanda de oxigênio no reator. Combinando o suprimento de oxigênio, pode-se reduzir significativamente o nível de ruído, bem como economizar energia. Um outro procedimento que pode ser adotado é o uso de blindagens acústicas isolando os ruídos provenientes dos motores, compressores e caixas de engrenagem. Alguns possíveis métodos de controle podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3 - Metodos possíveis de controle de ruídos de aeradores em sistema LAB.

Tipo de aerador	Ruído dB(A)/ m	Medida corretiva
Aerador vertical borrifando água	107 - 113	abrigo da zona de aeração
Aerador vertical tipo caixa gradeada	75 - 85	caixa de isolamento
Aerador vertical motorizado	70 - 90	caixa de isolamento
Aerador horizontal borrifando água	85 - 90	aerador coberto
Aerador horizontal motorizado	70 - 90	caixa de isolamento
Compressor de ar	85 - 95	caixa de isolamento
Aeração por difusão	60 - 70	inexistente

Fonte: GRAY (1990) citado por YAMASSAKI (1996).

c) Aerossóis - Segundo GRAY (1990), ambos os aeradores, vertical e horizontal, resultam em grandes emissões de bactérias e vírus para a atmosfera. A concentração de microrganismos nos aerossóis e a distância a que podem ser transportados, dependem de muitos fatores, como a velocidade do vento, temperatura, radiação solar e umidade.

A difusão dos microrganismos do tanque de aeração segue a equação de Gauss. Apenas partículas menores que 5µm, são importantes do ponto de vista médico. Uma análise do tamanho das partículas geradas pelos aeradores e testes microbiológicos para verificar a presença de vírus ou bactérias patogênicas devem ser efetuados freqüentemente com o objetivo de monitoração da qualidade destes aerossóis como medida sanitária.

A infecção em animais e no homem, se dá pela inalação de partículas de diâmetro menores que 2-5 μm , sendo retidas no trato respiratório superior, enquanto partículas menores podem ser carregadas diretamente para os alvéolos pulmonares. Uma das propriedades dos aerossóis é que cada pequena gota d'água que forma o aerossol evapora-se rapidamente, levando os microrganismos presentes a uma desidratação em poucos segundos. Assim, apenas as pessoas presentes num raio de aproximadamente 20 metros correriam risco de contaminação. Entretanto, os aerossóis que contenham microrganismos resistentes à desidratação rápida ou aqueles que contenham matéria orgânica que atrasam a desidratação destes, podem aumentar em muito essa distância passando a ser prejudiciais à saúde (YAMASSAKI, 1996).

A Tabela 4 mostra o grau de aerossolização de germes por vários tipos de aeradores.

Tabela 4- Grau de aerossolização de germes por vários tipos de aeradores.

Aparelhos	UFC/m³ de ar/1 m acima do tanque de aeração	UFC/m³ de ar/2 m acima do tanque de aeração
difusor de borracha fina	2.000	600
rotor horizontal	50.000	20.000
rotor vertical	55.000	2.000

Fonte: GRAY (1990) citado por YAMASSAKI (1996).

A formação do aerossol pode ser efetivamente reduzida cobrindo-se os aeradores, isto torna-se particularmente eficiente para aeradores horizontais, mas passa a ser problemático para aeradores verticais, onde poderiam ser usados abrigos ou anteparos de deflecção. Alternativamente, os aeradores verticais podem ser trocados por difusores. Se a formação de aerossol tornar-se um problema quando são usados os difusores, então todo o tanque de aeração deverá ser coberto.

3. 6. 2. Fases do Sistema de Lodos Ativados

O sistema de tratamento por lodos ativados pode ser dividido em 2 fases: aeração e sedimentação do lodo (GRAY, 1990).

Na primeira fase, o esgoto que contém a população mista microbiana é adicionado ao tanque de aeração, sendo fornecido ar através da agitação da superfície ou por difusores, pelo uso de compressor. A aeração tem duas funções, fornecer oxigênio para a respiração dos microrganismos aeróbios no reator e manter os flocos microbianos num estado contínuo de suspensão agitada, promovendo o máximo de contato entre a superfície do floco e o esgoto em tratamento (GRAY, 1990).

Esta ação de mistura contínua é importante não apenas para promover uma alimentação adequada, como também para manter um gradiente máximo de concentração de oxigênio. Isso promove um aumento na transferência de massa, e ajuda a dispersar os produtos finais metabolizados no interior dos flocos (GRAY, 1990).

O esgoto efluente entra no tanque de aeração, deslocando a mistura líquida (mistura do esgoto e da biomassa microbiana) para um tanque de sedimentação. Este é o segundo estágio, onde a biomassa floculada sedimenta rapidamente para formar o lodo depositado, separado do efluente líquido clarificado; estando livre de sólidos, este efluente líquido poderá ser descartado como efluente final (sobrenadante).

Uma parte do lodo é retornada ao tanque de aeração para agir como inoculador de microrganismos, assegurando que exista uma população microbiana adequada para completar a oxidação do esgoto durante o seu tempo de detenção no tanque de aeração. O excesso de lodo requer um tratamento especial antes do descarte. O tanque de sedimentação secundário deve ser capaz de estar de acordo com as grandes variações de vazão e de carga orgânica que ocorrem durante o dia, em épocas de maior consumo de água (GRAY, 1990).

3. 6. 3. Principais Componentes do Sistema de Lodos Ativados do Tipo Convencional

a) **Reator** - pode ser um tanque, uma lagoa ou um valo. O principal critério de um reator é que o conteúdo possa ser misturado adequadamente e aerado. O reator também é conhecido como tanque ou unidade de aeração. O reator possui duas entradas, uma que recebe o esgoto não tratado e outra que recebe o lodo recirculado do tanque de sedimentação secundário (GRAY, 1990).

b) **Lodo ativado** - é a biomassa microbiana mantida no reator. As concentrações relativas de matéria orgânica solúvel e particulada do esgoto não tratado que entram no reator, depende das características da água residuária a ser tratada e do tipo de tratamento que ela recebe antes de entrar no reator. A entrada de microrganismos no reator remove o substrato solúvel pela assimilação, e desse modo fornece carbono e energia para o crescimento dos microrganismos (GRADY JUNIOR & LIM, 1980).

A concentração de sólidos entrando no sedimentador, contudo, depende do tempo de detenção celular (θ_c) do sistema, do tempo de detenção hidráulico (θ_h) do reator e da configuração do reator.

A matéria orgânica particulada é fisicamente capturada na biomassa floculenta, atacada por enzimas exocelulares, e então solubilizada, para torná-la disponível para a assimilação pelos microrganismos. Esta mistura de microrganismos e matéria orgânica não degradada é conhecida de sólidos suspensos do tanque de aeração (SSTA) ou lodo ativado (GRAY, 1990).

A concentração normal dos SSTA varia entre 2.000 - 5.000 mg/L, segundo os dados apresentados por GRAY (1990).

c) Aeração/ sistema de mistura - a aeração e a mistura do lodo ativado e do esgoto são essenciais. Estas etapas podem ser feitas independentemente, por aeração superficial ou por difusão de ar.

KOZIOROWSKI & KUCHARSKI (1972) mencionam que a mistura do esgoto bruto e do lodo ativado deve ser aerada por um período mínimo de 1 hora. Porém, dependendo da concentração do esgoto e do grau de purificação desejado, a aeração pode ocorrer por vários dias.

d) Tanque de sedimentação - a sedimentação secundária ou clarificação do lodo, é feita em uma unidade distinta do tanque de aeração. O tanque de sedimentação separa a biomassa microbiana do efluente tratado, isto é, o lodo move-se para o fundo e o efluente tratado clarificado é removido por cima. Uma porção do lodo deve ser descartada do sistema, para equilibrar o crescimento de microrganismos e, deste modo manter um θ_c constante (GRAY, 1990).

e) Retorno de lodo: o lodo ativado sedimentado é recirculado de volta ao reator para manter a população microbiana em uma determinada concentração desejada, com a intenção de assegurar que o tratamento seja efetivo (GRAY, 1990).

De acordo com GRAY JUNIOR & LIM (1980), a concentração de organismos no dispositivo de recirculação depende da concentração que entra no sedimentador e da taxa da vazão de recirculação, proporcionalmente à taxa da vazão do esgoto afluente ao sistema.

3. 6. 4. Tipos de Reatores Utilizados em Sistema de Tratamento por Lodos Ativados

3. 6. 4. 1. Reatores de Mistura Completa e Fluxo Contínuo

Em reatores completamente misturados, o esgoto sedimentado e o retorno do lodo são rapidamente distribuídos em vários pontos ao longo do tanque de aeração, de tal modo que uma

amostra tomada de qualquer ponto do reator, possa fornecer valores idênticos de SSTA (sólidos suspensos totais no tanque de aeração), DBO e concentração de oxigênio (HORAN, 1990; METCALF & EDDY, 1991).

Os autores mencionam também que a vantagem deste sistema é que a ampla diluição do esgoto afluente ao reator, fornecida pela aeração do tanque, proporciona uma “solução tampão” contra algumas substâncias tóxicas, as quais podem estar presentes no esgoto afluente. Além disso, existe uma distribuição uniforme de carga através do tanque, que assegura uma eficiência no uso de aeradores.

Um fator negativo é que os reatores completamente misturados sofrem curto circuito, e uma pequena fração do esgoto afluente acaba saindo sem receber tratamento adequado. Além disso, os problemas de sedimentação do lodo ativado são comuns pois, em geral, os reatores completamente misturados manifestam baixos valores de concentração de sólidos suspensos.

3. 6. 4. 2. Reatores Tipo “Plug-Flow”

Os reatores “Plug-Flow” são tanques com comprimento extenso em relação à largura. O esgoto sedimentado e o retorno de lodo ativado são introduzidos numa extremidade e removidos em outra. Idealmente, as partículas devem passar pelo comprimento do tanque sem mistura e devem sair na mesma seqüência em que entram. Se as amostras são retiradas longitudinalmente ao longo do reator, existirá um gradiente de decaimento de DBO, um aumento de SSTA e um decaimento da demanda de oxigênio (HORAN 1990; METCALF & EDDY, 1991).

Na prática, um reator “Plug-Flow” consiste de um número de tanques em série, cada qual equipado com seu próprio aerador; dessa maneira, cada tanque se comporta como um reator completamente misturado (HORAN 1990; METCALF & EDDY, 1991).

Como a carga e a demanda de oxigênio não são uniformemente distribuídos ao longo do reator, aeração proporcional ou aeração escalonada (adição gradual) têm sido realizadas na

tentativa para se amenizar o problema. Esta modificação decorre de um decréscimo da intensidade de aeração ao longo do comprimento do tanque, de tal forma que o fornecimento de ar aproxime-se da DBO local, utilizando-se mais eficientemente o oxigênio fornecido. Como os custos de aeração podem demandar mais de 50% dos custos totais da estação e dos custos totais de energia, esse sistema tem boa viabilidade econômica (HORAN 1990; METCALF & EDDY, 1991).

Os reatores tipo “Plug-Flow” apresentam baixa concentração de SST e alta concentração de DBO na entrada, e o inverso na saída, o que facilita a manutenção de boas condições de floculação, evitando-se problemas de sedimentação do lodo ativado (HORAN 1990; METCALF & EDDY, 1991).

3. 6. 4. 3. Reatores Intermitentes

A operação original de lodos ativados foi desenvolvida com reator por batelada, e ficou conhecida pelo nome de sistema de enchimento-descarte (HORAN, 1990; METCALF & EDDY, 1991).

Nesse sistema, o reator é preenchido com o esgoto pré-decantado e aerado por um período suficiente para oxidar a maioria da DBO (aproximadamente 8 horas). A seguir, o conteúdo do reator é deixado em repouso para que o lodo possa sedimentar e o sobrenadante tratado é descartado para o curso d'água. Uma parte do lodo sedimentado é descartada convenientemente, e todo o processo é repetido novamente (Figura 11).

Este tipo de reator necessita de controle operacional eficiente, motivo pelo qual perdeu sua aplicabilidade. Pelo advento do controle por microprocessador, modificação recente desse sistema, conhecido como seqüência de reatores em batelada (SRB), vem ganhando popularidade cada vez maior (METCALF & EDDY, 1991).

Uma SRB permite vários estágios, como a oxidação carbonácea, nitrificação, desnitrificação e remoção de fosfato, para ser executado no mesmo reator. Esta tecnologia é

particularmente apropriada onde existem variações altas de cargas hidráulicas e orgânica, bem como limitações de mão de obra operacional e de manutenção qualificada (METCALF & EDDY, 1991).

3. 7. Lodos Ativados Intermitentes

O sistema consiste de um reator de mistura completa onde ocorrem todas as etapas do tratamento ao mesmo tempo. Isto é conseguido através do estabelecimento de determinados ciclos operacionais com durações definidas. A biomassa microbiológica permanece no reator durante todos os ciclos, eliminando a necessidade de decantadores separados (CHERNICHARO & SPERLING, 1993).

Segundo METCALF & EDDY (1991), os reatores em batelada são descritos como um tipo de reator onde não há fluxo de entrada nem de saída durante as transformações biológicas da matéria orgânica, isto é: vazão afluyente = vazão efluente = 0.

Vários pesquisadores como IRVINE & BUSH (1979) e IRVINE et al. (1979), descrevem o sistema de lodos ativados por batelada como um sistema composto por um ou mais tanques, cada qual possuindo ciclos distintos, compostos basicamente por cinco períodos de operação denominados de acordo com sua função primária. O esquema desses ciclos podem ser observados na Figura 11, onde o sistema de tratamento foi montado com uma sequência de 3 de reatores na bateria (I, II e III) operando em ciclos seqüenciais.

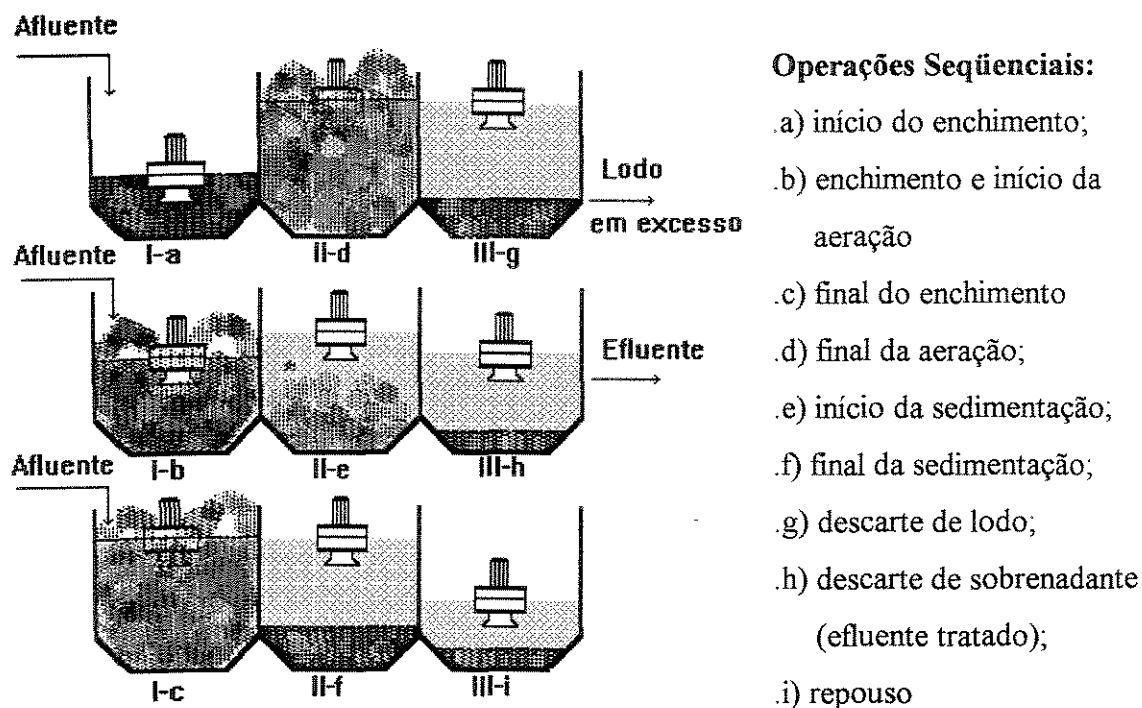


Figura 11- Ciclo das condições impostas no reator de uma SRB

Fonte adaptada de: YAMASSAKI, (1996)

3. 7. 1. Períodos de Operação de Sistema de Lodos Ativados por Batelada

a) período de enchimento - intervalo de tempo necessário para o recebimento do esgoto bruto, podendo-se iniciar a mistura e/ou aplicação de ar, conforme o tipo de remoção desejado, no despejo a ser tratado. É interessante observar que antes do período de enchimento, o tanque contém uma população de organismos ativa e considerável (METCALF & EDDY, 1991).

Se o tanque alcançar a sua capacidade máxima para armazenar o líquido antes de cessar o fluxo do esgoto para aquele dia, deve ser providenciado um ou mais tanques adicionais.

b) período de reação - tempo necessário para ocorrerem as reações desejadas no tratamento, como por exemplo, a oxidação da matéria orgânica e a síntese celular. É o tempo em

que o tanque não recebe o fluxo, porém, durante o enchimento, já tem início o período de reação, uma vez que os microrganismos começam a se reproduzir. O fornecimento do ar e/ou a mistura mecanizada podem ser ajustados para completar as reações desejadas. Por exemplo, a nitrificação pode ser completada e a desnitrificação iniciada e finalizada durante este período (METCALF & EDDY, 1991).

c) período de sedimentação - intervalo de tempo necessário para que ocorra a separação física do material sólido do material líquido, devido à paralisação do sistema de mistura e da aeração, deixando a água clarificada na parte superior do tanque. Deve-se tomar cuidado para não se prolongar o período de sedimentação, a fim de que o lodo sedimentado não flote para a superfície, devido à anaerobiose, que provoca a formação de gases.
(METCALF & EDDY, 1991).

d) período de drenagem - após a separação suficiente dos sólidos, a água clarificada é descartada. O período de descarte termina no período de drenagem, que por sua vez constitui-se do tempo necessário para a descarga do efluente tratado (METCALF & EDDY, 1991).

e) período de repouso - tempo em que o lodo permanece em repouso após a descarga do efluente tratado e antes do novo enchimento. Neste período geralmente são feitas as operações de descarte de lodo (METCALF & EDDY, 1991).

A frequência da operação de descarte de lodo é determinada pelo aumento de sólidos no sistema a cada dia, e pela capacidade de mistura do equipamento de aeração. O projeto do sistema pode prever o descarte de sólidos no final do período de reação.

PIRES & FIGUEIREDO (1995) concluíram que o período de enchimento é um fator importante na remoção da matéria orgânica, mas é limitado, pois a porcentagem de remoção de DBO resulta praticamente igual para períodos de enchimento acima de 60 minutos, com aeração.

DORNELLAS (1995) menciona que no caso de um sistema de tanque único, o ciclo de funcionamento é considerado desde o início do período de enchimento até o final do período de repouso. No caso de tanque múltiplos, a consideração passa a ser do início do período de enchimento do primeiro tanque até o final do período de repouso do último reator da seqüência. O sistema de tanque único é aplicado em situações de fluxo não contínuo, como ocorre em pequenas comunidades e em algumas indústrias. Já o sistema de tanques múltiplos é utilizado em casos de fluxo contínuo, podendo sua operação ser simples ou complexa, sendo função das variações de vazão e carga orgânica e do grau de tratamento desejado.

Segundo CHERNICHARO & SPERLING (1993), o descarte do lodo excedente geralmente ocorre durante o último ciclo (repouso), mas pode se dar em outras fases do processo, como por exemplo, após o período de sedimentação (Figura 3), já que a sua finalidade é a de permitir o ajuste entre dois ciclos de operação de cada reator. A quantidade e frequência de descarte de lodo são estabelecidas em função dos requisitos de performance.

3. 7. 2. Vantagens em Relação ao Sistema Convencional.

ARORA et al. (1985) estudaram algumas instalações nos Estados Unidos da América, concluíram que usando uma seqüência de batelada (SRB) obtêm-se as seguintes vantagens:

- a) o reator do tipo batelada serve como uma unidade de equalização durante o enchimento, portanto, pode facilmente tolerar vazões de pico e cargas de choque de DBO, sem a degradação da qualidade do efluente;
- b) uma vez que a descarga do efluente é periódica, sem limites, o efluente pode ser retido até que se encontre dentro dos requisitos especificados;
- c) durante o início de operação da instalação, quando a vazão é significativamente mais baixa do que a capacidade de projeto, os sensores do nível do líquido podem ser ajustados para o nível mais baixo, de modo que seja utilizada uma fração da capacidade do tanque da SRB. A

extensão dos ciclos de tratamento pode ser a mesma do projeto, sem a aeração demasiada, evitando o desperdício desnecessário de energia;

d) os sólidos no tanque de aeração não sofrem a possibilidade de remoção ou perda por sobrecargas hidráulicas (picos de vazão), quando comparados aos sistemas contínuos;

e) nenhuma bomba de retorno de lodo ativado é necessária, porque a fase de sedimentação ocorre no interior do próprio tanque de aeração;

f) a separação sólido - líquido ocorre sob condições quase ideais, estacionárias. O curto-circuito é inexistente durante o período de sedimentação;

g) o crescimento de microrganismos filamentosos pode ser facilmente controlado pela variação estratégica de operação durante o enchimento.

ARORA et al, (1985) mencionam em seus estudos que a melhor estratégia de operação numa SRB é ter uma maior porção de enchimento não misturado e não aerado, seguido por aeração durante o período de enchimento, num período de 15 a 30 minutos. Uma estação de tratamento do tipo SRB pode ser facilmente projetada para acomodar essas estratégias de operação.

h) o sistema SRB pode ser facilmente operado para obter-se a nitrificação, a desnitrificação ou a remoção de fósforo, sem a adição química. A nitrificação pode ser obtida pelo aumento da duração do período de reação ou pelo aumento da porção do enchimento misturado/aerado, enquanto que a desnitrificação pode ser alcançada pelo aumento da extensão das operações de sedimentação e esvaziamento, ou ambos. A remoção de fósforo pode ser realizada pela seleção de uma estratégia de controle que elimina o nitrogênio oxidado e o OD, durante o enchimento. Estas variações nas estratégias operacionais são exclusivas dos sistemas SRB e podem ser conseguidas facilmente por simples ajustes nos aparelhos,

segundo IRVINE et al. (1985), a presença do ácido ribonucleico (RNA) nos microrganismos na SRB é 3 ou 4 vezes maior do que seria esperado para um sistema convencional de fluxo contínuo. Devido à taxa de crescimento de microrganismos ser dependente do RNA contido nas células, o alto conteúdo intracelular na cultura da SRB é capaz de processar grande quantidade de substrato, em uma taxa maior do que é possível num sistema convencional de fluxo contínuo.

3. 7. 3. Desvantagens em Relação ao Sistema Convencional

DE LUCA et al. (1993) citam que as principais desvantagens de um sistema de tratamento biológico em batelada dizem respeito a tanques múltiplos e controladores em sistemas de grande porte, alto consumo de energia para aeração e mistura, além dos modelos teóricos para projeto necessitarem ainda ser refinados.

CHAMBERS (1993) cita que não é praticável operar o sistema de lodos ativados por batelada sob condições locais, sem controle automático. Os controles devem ser seguros, simples e de fácil compreensão pelos operadores da estação.

3. 8. Considerações Sobre o Projeto para Sistema de Lodos Ativados

Segundo METCALF & EDDY (1991), o projeto de sistema de lodos ativados deve incluir:

3. 8. 1. Seleção do Tipo de Reator

Alguns fatores operacionais estão envolvidos nesta seleção, como: a reação cinética que governa o processo de tratamento, a necessidade de transferência de oxigênio, a natureza do esgoto a ser tratado, as condições ambientais locais e os custos de construção, operação e manutenção.

a) reação cinética que governa o processo de tratamento: os dois tipos de reatores mais usados são o reator de mistura completa e o tipo "plug-flow". Nos últimos tempos estes reatores vem sendo utilizados com o mesmo tempo de detenção hidráulico, devido à taxa de remoção de substratos combinados (solúvel e não solúvel) para os esgotos domésticos.

b) necessidade de transferência de oxigênio: existem várias modificações do processo de lodos ativados, cada qual com melhoramentos nos sistemas de aeração, assim, conforme a seleção feita, a transferência de oxigênio pode ser diferenciada.

c) natureza do esgoto a ser tratado: pelo fato do esgoto afluyente estar disperso de maneira mais ou menos uniforme num reator completamente misturado, os sólidos biológicos no reator podem resistir mais facilmente às cargas de choque resultantes do descarte lento de matéria orgânica e tóxicas que vão para o sistema coletor, se comparados com reatores do tipo "Plug-flow".

d) condições ambientais locais: as condições mais importantes a serem observadas em estações de tratamento são: temperatura, pH e alcalinidade. A mudança na temperatura do esgoto podem afetar a taxa de reação biológica. Valores baixos de pH pode inibir o crescimento de organismos nitrificantes e estimular o crescimento de organismos filamentosos.

e) custos de construção, operação e manutenção: de extrema importância para a escolha do tipo e do tamanho do reator.

3. 8. 2. Critério de Carga

Os dois parâmetros mais comumente usados são a razão alimento/microrganismo (F/M) e o tempo de detenção celular (θ_c), a razão F/M é definida como:

$$F / M = \frac{S_o}{\theta_H \cdot X} \quad (3.9)$$

onde F/M: razão alimento/ microrganismo = kg de substrato no afluente por dia, por kg SSVTA no reator, d⁻¹;

S_o : DBO afluente ou concentração de DQO, g/m³

θ_H : tempo de detenção hidráulico do tanque de aeração = V_r/ Q_a, d

V_r : volume do tanque de aeração, m³

Q_a : vazão do esgoto afluente, m³/ d

X : concentração de sólidos suspensos voláteis no tanque de aeração, g/m³

SANTOS (1984), menciona que a quantidade de substrato (alimento) por dia pode ser medida em termos de DBO ou DQO (Kg/d). A presença de microrganismos nos reatores pode ser expressa como sólidos suspensos voláteis (kg SSVTA) em alguns trabalhos ou simplesmente como sólidos suspensos (kg/SSTA) em outros.

METCALF & EDDY (1991) descreve que a relação da razão de alimento - microrganismo com a taxa específica de utilização U, é dada pela equação:

$$U = \frac{(F / M) \cdot E}{100} \quad (3.10)$$

onde U: taxa de utilização específica de substrato pelos microrganismos e,

E: eficiência do processo (%).

Substituindo a eq. (3.10) e fazendo E = [(S_o-S)/S_o].100. obtém-se a eq. (3.11):

$$U = \frac{S_o - S}{\theta_H \cdot X} \quad (3.11)$$

onde S: DBO efluente ou a concentração de DQO, g/m³.

O tempo de detenção celular pode ser definido de duas maneiras, dependendo do volume considerado:

a) definição baseada no volume do tanque de aeração:

$$\theta_c = \frac{V_r \cdot X}{Q_d X_d + Q_e X_e} \quad (3.12)$$

onde:

θ_c : tempo de detenção celular, baseado no volume do tanque de aeração, d,

V_r : volume do tanque de aeração, m³

X : concentração de sólidos suspensos voláteis no tanque de aeração g/m³

Q_d : vazão de descarte de lodo, m³/d

X_d : concentração de sólidos suspensos voláteis no descarte de lodo, g/m³

Q_e : vazão do efluente tratado, m³/d,

X_e : concentração de sólidos suspensos voláteis no efluente tratado, g/m³

b) definição baseada no volume total do sistema:

$$\theta_{ct} = \frac{X_t}{Q_d X_d + Q_e X_e} \quad (3.13)$$

onde:

θ_{ct} : tempo de detenção celular baseado no sistema total, d

X_t : massa total de sólidos suspensos voláteis no sistema, incluindo os sólidos no tanque de aeração, no tanque de sedimentação e nas instalações de retorno de lodo, g.

Os projetos de reatores devem ser baseados no θ_c apresentado pela eq. (3.12), supondo que toda a conversão do substrato ocorra no tanque de aeração. Em sistemas que possuam tanques de sedimentação separados e linhas de retorno do lodo, a eq. (3.13) pode ser utilizada para determinar a quantidade de sólidos a ser descartada. O volume da quantidade de sólidos contido no tanque de sedimentação pode ser determinado pela medida da profundidade da manta de lodo e a concentração de sólidos da linha de retorno.

Comparando estes parâmetros, a taxa de utilização específica U pode ser considerada uma medida da taxa em que o substrato (DBO) é utilizado por uma massa de organismos, e o θ_c pode ser considerado uma medida da média do intervalo de tempo de detenção dos organismos no sistema. Podemos chegar as seguintes relações:

$$\frac{1}{\theta_c} = Y \frac{F}{M} \frac{E}{100} - K_d = YU - K_d \quad (3.14)$$

onde:

Y : coeficiente de produção celular, g de células produzidas/g de matéria orgânica removida,

E : eficiência do processo. %,

K_d : coeficiente de decaimento endógeno, tempo⁻¹.

YAMASSAKI (1996) cita em seus estudos que há valores típicos para a razão F/M variando de 0,05 a 1,0, baseado em estudos de laboratório e dados operacionais atuais de várias estações de tratamento nos EUA. A mesma autora menciona que tem sido encontrado valores de θ_c entre 3 e 15 d, obtendo-se uma produção de efluente estável, de alta qualidade, e lodo com características de sedimentação excelentes.

Relações empíricas baseadas no tempo de detenção hidráulico e na carga orgânica (DBO) tem sido utilizadas. O tempo de detenção é usualmente amostrado na vazão de esgoto afluente. Comumente, os valores de tempos de detenção variam dentro do intervalo de 4 a 8 horas, no tanque de aeração. A quantidade de carga orgânica, expressa em termos de DBO_5 aplicada

diariamente, pode variar de 0,3 para mais do que 3,0 kg/m³/d. Embora a concentração da mistura líquida, a razão F/M e o θ_c sejam ignorados, quando é usada cada relação empírica, estas relações consideram a necessidade mínima de aeração do volume do tanque, adequada para o tratamento do esgoto doméstico. Porém, são encontrados problemas quanto ao uso destas relações empíricas para o tratamento do esgoto industrial (YAMASSAKI, 1996).

3. 8. 3. Produção de Lodo

É importante conhecer a quantidade de lodo a ser produzida por dia, porque afetará o projeto da manutenção do lodo e das instalações disponíveis necessárias para o seu excesso (descarte). A quantidade de lodo produzida e que deve ser descartada numa unidade diária, pode ser estimada pela seguinte equação:

$$P_x = Y_{obs} Q_a (S_o - S) (10^3 \text{ g/kg})^{-1} \quad (3.15)$$

onde:

P_x : descarte de lodo ativado produzido por dia, medido em termos de sólidos suspensos voláteis, kg/d,

Y_{obs} : coeficiente de produção celular observado, g/g,

Q_a : vazão de esgoto afluente, m³/d,

S : DBO efluente ou concentração de DQO, g/m³,

S_o : DBO afluente ou concentração de DQO, g/m³

O coeficiente de produção celular observado pode ser analisado usando a equação (3.16):

$$Y_{obs} = \frac{Y}{1 + K_d (\theta_c \theta_{cl})} \quad (3.16)$$

O uso de θ_c ou θ_{ct} na eq. (3.16), depende se está sendo considerada uma análise dos sólidos do tanque de aeração ou os sólidos no sistema total. Se uma porcentagem alta de sólidos ficar retida no tanque de sedimentação e na instalação do retorno de lodo, o uso do θ_{ct} é razoável, especialmente se for assumido que a respiração endógena continua, apesar da cultura bacteriana estar em ambiente aeróbio ou anaeróbio (METCALF & EDDY, 1991).

3. 8. 4. Necessidade de Oxigênio

Segundo METCALF & EDDY (1991), a necessidade teórica de oxigênio pode ser determinada através da DBO_5 do descarte e da quantidade de organismos descartados do sistema por dia, pois, se toda a DBO_5 foi convertida a produtos finais, a demanda total de oxigênio será computada pela conversão da DBO_5 a DBO_u , usando um fator de conversão apropriado. Sabe-se que uma porção do descarte é convertida a novas células, subseqüentemente descartadas do sistema; portanto, se a DBO_u das células descartadas é subtraída do total, a quantidade restante representa a quantidade de oxigênio que deve ser fornecida ao sistema.

O fornecimento de ar deve ser adequado para satisfazer a DBO do descarte, satisfazer a respiração endógena através dos organismos do lodo, promover uma mistura adequada, e manter uma concentração mínima de oxigênio dissolvido de 1 a 2 mg/L por todo o tanque de aeração.

3. 8. 5 Necessidade de Nutrientes

RAMALHO (1983) menciona que para a degradação biológica aeróbia dos despejos, é necessário uma quantidade apropriada de certos nutrientes que incluem nitrogênio, fósforo, cálcio, magnésio e vitaminas. Muitos desses nutrientes são necessários em quantidades muito pequenas (traços), e usualmente estão presentes nos esgotos. Entretanto, muitos despejos industriais têm deficiência de nitrogênio e fósforo. Caso exista esta deficiência, a correção é feita pela adição de compostos contendo nitrogênio e fósforo no reator aeróbio.

Se a quantidade de N e P disponíveis no efluente é mais alta do que o total necessário, não preciso adicionar estes compostos. Caso contrário, a adição deve ser feita na forma usual, através do cálculo da quantidade de soluções apropriadas a serem introduzidas no reator biológico.

METCALF & EDDY (1991) caracterizaram baseados na composição média em $C_5H_7NO_2$ do tecido da célula que é necessário adicionar cerca de 12,4% do peso do nitrogênio. A necessidade de fósforo é usualmente assumida como sendo cerca de 1/5 deste valor. Estes valores são típicos, não possuem quantidades fixas, pois tem sido observado que a quantidade e distribuição da porcentagem do nitrogênio e do fósforo no tecido celular varia com a idade da célula e com as condições ambientais.

3. 8. 6. Controle de Organismos Filamentosos

A proliferação de organismos filamentosos na mistura líquida resulta num lodo de baixa sedimentabilidade, fenômeno conhecido como entumescimento do lodo. O sistema completamente misturado de estágio simples, em particular, tende a promover o crescimento de organismos filamentosos devido aos baixos níveis de substrato presentes uniformemente no reator. A grande quantidade da entrada de substrato permite a adsorção rápida dos orgânicos solúveis dentro dos flocos de organismos. A remoção rápida dos orgânicos solúveis faz com que pouco sobre do mesmo para assimilação pelos organismos filamentosos (METCALF & EDDY, 1991).

3. 8. 7. Características do Efluente Líquido Final

O conteúdo orgânico é o maior parâmetro da qualidade do efluente, e é usualmente composto por:

a) orgânicos solúveis biodegradáveis:

- orgânicos que escaparam do tratamento biológico;

- orgânicos formados como produtos intermediários na degradação biológica do descarte e,

- componentes celulares (morte ou lise da célula),

b) material orgânico suspenso:

- sólidos biológicos produzidos durante o tratamento, que escaparam da separação no tanque de sedimentação final e,

- sólidos orgânicos coloidais do esgoto afluente à estação, que escaparam do tratamento e da separação,

c) orgânicos não biodegradáveis:

- aqueles presentes originariamente no efluente e,

- produtos da degradação biológica.

d) separação dos sólidos.

YAMASSAKI (1996) menciona que, numa estação de lodos ativados com boa operação, que trata esgotos domésticos, a DBO₅ dissolvida no efluente, determinada numa amostra filtrada, varia de 2 a 10 mg/L. A matéria orgânica suspensa estará num intervalo de 5 a 15 mg/L e os orgânicos não biodegradáveis, entre 2 a 5 mg/L.

3. 9. Parâmetros Operacionais da Estação de Tratamento de Águas Residuárias

Um dos primeiros passos para o estudo do lodo é fazer sua caracterização, com objetivo de obter a medida quantitativa para previsão de seu comportamento nos sistemas de tratamento e disposição. HOGAN & MININNI (1980) mencionam que o incentivo para essa caracterização pode ter diversas finalidades, como por exemplo, determinar as quantidades e os gastos envolvidos no seu tratamento e disposição (existência de grandes quantidades de lodo, seu

potencial de perigo ambiental, fontes de energia, fertilizantes, fontes de alimentos, sua tratabilidade, identificando quais os processos mudam as propriedades do lodo, e como o processo afeta as quantidades e as propriedades do lodo bruto.

As características do lodo são avaliadas através de testes de sedimentação feitos em laboratório. Segundo SANTOS (1984) podem ser determinados: o índice volumétrico do lodo (IVL), a velocidade de sedimentação zonal (VSZ), mais recentemente, o índice volumétrico do lodo com agitação, medido a uma concentração de sólidos suspensos de 3,5 g/L (IVLA), e a correlação gráfica entre a relação F/M e o IVL e a VSZ.

3. 9. 1. Índice Volumétrico do Lodo

RAMALHO (1983) descreve que o índice volumétrico do lodo é definido como o volume em mL ocupado por 1 g dos sólidos suspensos no tanque de aeração (SSTA), em peso seco, após sedimentação de 30 minutos num cilindro graduado de 1.000 mL, obtendo-se os resultados em unidades (mL/g). A eq. (3.17) apresenta como são calculado estes valores:

$$IVL = \frac{mL_{\text{dolodo}} * 1.000(mg / L)}{conc.SST(mg / L)} \quad (3.17)$$

DICK & VESILIND (1969) citado por YAMASSAKI (1996), descreve que o uso do IVL para medir as características de sedimentação é questionável, pois é difícil descrever a sedimentação de dois lodos com a mesma concentração de IVL inicial usando apenas um ponto na curva de sedimentação, uma vez que os mesmos podem apresentar sedimentação diferentes.

Estes mesmos autores sugerem que o IVL seja acompanhado do valor da concentração dos sólidos suspensos que o gerou, pois, se após 30 minutos em um teste de sedimentação, um lodo com concentração de sólidos suspensos igual a 10.000 mg/L, não sedimentar, sendo que a altura do lodo permanece em 1.000 mL, o IVL neste caso será 100 mL/mg, indicando um lodo bem

sedimentado. Este é um erro muito freqüente ao se usar o IVL sem considerar sua dependência com a concentração dos sólidos suspensos.

RAMALHO (1983) cita que, valores típicos do IVL para uma boa sedimentação do lodo, com concentração inicial de 800 a 3.500 mg/L, estão dentro do intervalo de 150 a 35 mL/g.

SANTOS (1984) relata que o IVL não proporciona uma boa medida de adensamento do lodo, uma vez que, ao final de 30 minutos, a interface sólido - líquido pode ainda estar sedimentando a uma taxa constante, não indicando em que estágio de sedimentação o lodo se encontra.

O mesmo autor cita que outro erro do uso inadequado do IVL é quando for usado para prever a concentração do retorno do lodo. Neste caso, assume-se o adensamento ocorrido em 30 min. no teste de sedimentação, em batelada, seja equivalente ao que ocorre no fundo do decantador em regime permanente.

3. 9. 2. Velocidade de Sedimentação Zonal

SANTOS (1984) descreve que este parâmetro é definido pela velocidade com que as partículas em suspensão se sedimentam, quando a velocidade de deslocamento da interface formada entre as partículas em suspensão e o líquido clarificado se apresenta constante.

3. 9. 3. Índice Volumétrico do Lodo com Agitação

Segundo WHITE (1976) dentre as desvantagens existentes em se utilizar o IVL como parâmetro de controle de uma estação de tratamento, está a dependência do IVL com a concentração dos sólidos e o efeito da parede das provetas, que é geralmente utilizada na determinação do IVL. O autor menciona que, para minimizar este efeito pode ser utilizado uma pequena agitação nas provetas durante o período de decantação.

3. 9. 4. Razão Alimento/ Microrganismo (F/M)

Para se determinar a razão F/M, deve-se montar experimentos em reatores operando continuamente, cada um com uma determinada razão F/M para verificar as correlações das características de sedimentação do lodo. O lodo obtido em cada reator é submetido a testes de sedimentação (VSZ e IVL). Se estes dois parâmetros, que são uma medida da capacidade da sedimentação do lodo, forem montados em um gráfico em relação à F/M tem-se uma curva (RAMALHO 1983).

Para uma ótima sedimentação, o lodo deve ter uma alta VSZ e um baixo IVL. A razão F/M ótima, corresponde ao ponto máximo da curva da VSZ e ao mínimo ponto da curva do IVL. Para vários tipos de águas residuárias, este valor está dentre do seguinte limite:

$$0,6 > F/M > 0,3$$

onde F/M é expresso em kg de DBO₅ afluyente/ dia. (kg SSVTA).

Segundo o mesmo autor, baixos valores de F/M, isto é $< 0,3 \text{ d}^{-1}$, indicam que a quantidade de alimento (substrato) presente no sistema é insuficiente para manter o crescimento dos microrganismos, induzindo estes para uma respiração endógena.

Durante o processo de respiração endógena, a bactéria utiliza seu conteúdo citoplasmático o qual é rico em proteínas e ácido ribonucleico (RNA) para sua sobrevivência. O que sobra do metabolismo endógeno são capsulas celulares, que são muito leves e resistentes à sedimentação, promovendo características pobres de sedimentação do lodo. O lodo obtido sob estas condições é conhecido como flocos dispersos.

Quando se tem valores de F/M maiores que $0,6 \text{ d}^{-1}$, existe a predominância de um tipo de microrganismo de natureza filamentosa. Este tipo de crescimento não permite uma boa sedimentação, permanecendo em suspensão quase indefinidamente. Este processo é chamado de

entumecimento do lodo. Valores de F/M entre estes dois extremos, demonstram que o lodo tem boas características de sedimentação, denominado de lodo floculado.

3. 9. 5. Idade do Lodo (Tempo Médio de Detenção Celular)

HORAN (1990) menciona que para uma boa sedimentabilidade do lodo, a idade mínima necessária é de 3 dias, pois abaixo deste valor a sedimentabilidade lodo é pobre.

Para lodos com idade acima de 10 dias, ocorre a desfloculação e um aumento da turbidez do efluente. Geralmente a idade do lodo é controlada pela variação da taxa de descarte do excesso de sólidos do processo. O lodo adensado na linha de recirculação ou os sólidos suspensos no tanque de aeração também podem ser descartados.

3. 9. 6. Tratamento do Lodo

O lodo gerado por uma estação de tratamento separado do líquido nos tanques de aeração e nos tanques de sedimentação final, possuem características floculentas e uma alta quantidade de umidade. A cor predominante destes lodos é marrom e o odor, no estado fresco, não é desagradável INHOFF, MÜLLER & THISTLETHWAYTE (1973).

HOGAN & MININNI (1980) o objetivo de todos os processos de estabilização do lodo são geralmente para fazer com que este seja "menos agressivo". O grau de "agressividade" é primeiramente associado à característica e à intensidade de seu odor decorrente da decomposição primária.

Dentro do processo de digestão do lodo ESCRITT (1984) descreve que quando o mesmo lodo é armazenado e não aerado, ele se torna séptico; dentro deste processo duas formas fermentativas pode ocorrer: num primeiro caso, bactérias anaeróbias crescem sob condições fermentativas ácidas digerindo o lodo e produzindo odores desagradáveis. Num outro caso

podemos ter bactérias que produzam reações alcalinas durante a digestão produzindo gás, e seu odor não é desagradável.

A digestão do lodo por reações alcalinas possui várias vantagens, sendo que a principal delas é a geração de energia proveniente do gás metano formado nesta reação. Este gás é conhecido como gás do lodo. Outras vantagens da digestão alcalina são: redução do volume inicial de lodo para a disposição final; eliminação do odor desagradável do lodo primário; e conversão do lodo a uma substância que, quando desidratada, possui características fibrosas propícias para utilização agrícola.

Vários métodos podem ser utilizados para esta digestão, sendo que um dos mais utilizados é a compostagem do lodo sob condições mesofílicas. Neste caso, o lodo é submetido a compostagem à temperaturas em torno de 26 a 35°C. Compostagem à temperaturas mais elevadas (termofílicas) são mais rápidas, porém menos estáveis e de difícil controle.

Os digestores nunca são feitos para se chegar a uma digestão completa dos sólidos orgânicos, mas apenas para digerir o lodo a uma determinada proporção considerada econômica.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4. 1. Água Residuária Gerada na Indústria

Água residuária oriunda da indústria cítrica foi utilizada como matéria-prima para o desenvolvimento do trabalho. Os efluentes líquidos gerados pela indústria cítrica têm origem no seu processamento industrial, que engloba desde a lavagem da laranja no início do processo de esmagamento, até a lavagem de máquinas e equipamentos no final de um ciclo de produção. Este resíduo é comumente chamado de água amarela. O efluente gerado na indústria recebe também água oriunda das torres de resfriamento e trocadores de calor, conhecida como água preta, e de instalações sanitárias (vestiários, banheiros, restaurante, etc.).

Para este trabalho foi utilizada uma mistura das águas dos efluentes industriais separadamente das instalações sanitárias. A coleta do efluente industrial foi efetuada em vertedouro situado logo após o decantador primário, o qual tinha como objetivo a retirada de material particulado grosseiro e sólidos suspensos.

No ponto de coleta o efluente não recebia nenhum tipo de tratamento para correção de pH e nutrientes. Este tratamento era efetuado em outro local antes da entrada na lagoa de aeração, juntamente com o retorno do lodo vindo do decantador.

As características qualitativas das águas residuárias geradas na indústria cítrica podem ser observadas no item 5.1 a seguir.

4. 2. Descrição e Montagem da Unidade Piloto

Os dois reatores instalados nas dependências da Divisão de Microbiologia do CPQBA/UNICAMP foram fabricados em acrílico, apresentando tamanho e forma idênticas. Para ocorrer um maior tempo de contato entre o oxigênio atmosférico e o líquido, os reatores foram projetados de modo a possuírem uma pequena área transversal em relação à altura, com o fundo em forma de tronco de pirâmide invertido, o que auxilia na sedimentação, na operação de descarte de lodo e distribuição de oxigênio atmosférico.

Cada reator possui capacidade para tratar 10,0 L de efluente por batelada, mais 2,0 L de lodo que permanece no reator para a partida em cada ciclo, totalizando um volume útil de 12,0 L com uma relação volume de efluente sob volume de lodo de 10:2.

Para se fazer a drenagem do efluente tratado e manutenção do nível de lodo para a realização do ciclo posterior, cada reator apresenta dois orifícios, sendo um na parte lateral e outro no fundo. No orifício do fundo foi adaptada uma rolha contendo duas tubulações, uma para descarte do lodo e outra para aplicação de ar comprimido.

Para se obter uma distribuição uniforme do ar no reator, sua aplicação foi feita através de um sistema difusor composto por pedra porosa, do tipo comercial, normalmente utilizado em aquários. O ar comprimido aplicado nos reatores foi fornecido por um compressor tipo parafuso modelo S8-15LA (Chicago Pneumatic), com capacidade de produção de $1.84 \text{ m}^3/\text{min.}$, e pressão de trabalho constante de $7,0 \text{ kg/cm}^2$. A vazão do ar comprimido encaminhado aos reatores foi monitorada através de válvula reguladora de pressão e fluxômetro.

O resíduo a ser tratado foi agitado permanentemente em recipiente com capacidade para 20 L, por meio de agitador constituído por motor, eixo e hélice, sendo então bombeado durante o

período de enchimento para a parte superior dos reatores através de bomba peristáltica. O esquema de montagem dos reatores pode ser observado na Figura 12.

4. 3. Operação do Sistema

A operação do sistema foi conduzida em duas etapas distintas segundo os resultados recomendados por DORNELLAS (1990). A primeira consistiu em manter fixos os períodos de enchimento, reação, sedimentação, drenagem e repouso para a verificação da eficiência do sistema (Tabela 5), bem como em obter dados para a determinação dos coeficientes cinéticos e o acompanhamento da produção de subprodutos gerados por estes microrganismos. A segunda etapa consistiu em modificar os tempos do período de repouso do lodo com o intuito de se estudar o comportamento dos microrganismos em uma nova recarga (Tabela 6).

Na primeira e segunda fase, a concentração de sólidos suspensos voláteis no reator (SSVR) após o enchimento foi mantida em torno de 2.500 mg/L. Os tempos utilizados podem ser observados nas Tabelas 5 e 6.

a) Período de enchimento - Em cada ciclo, o enchimento foi feito com o auxílio de bomba peristáltica, ajustada a uma vazão suficiente para respeitar o período total de 2 horas adotado para esta etapa. Durante este período, os reatores foram mantidos sob aeração, com fluxo de ar em torno de 1 L de ar/min. A aeração teve como objetivo reduzir a concentração inicial de matéria orgânica, pois durante este período os valores da relação alimento/microrganismo (F/M) variam, sendo baixos no início e aumentando até o final do período de enchimento.

Tabela 5 - Tempo de duração em horas de cada ciclo na primeira etapa dos experimentos.

Período	Tempo (h)	
	Reator A	Reator B
Enchimento	2,0	2,0
Reação	4,0	4,0
Sedimentação	0,5	0,5
Drenagem	0,5	0,5
Repouso	1,0	1,0
TOTAL	8,0	8,0

Tabela 6 - Tempo de duração em horas de cada ciclo na segunda etapa dos experimentos.

Período	Tempo (h)	
	Reator A (controle)	Reator B
Enchimento	2,0	2,0
Reação	4,0	4,0
Sedimentação	0,5	0,5
Drenagem	0,5	0,5
Repouso	1,0	4,0; 8,0; 12; 24; 36; 48; 72
TOTAL	8,0	11; 15; 19; 31; 43; 55; 79

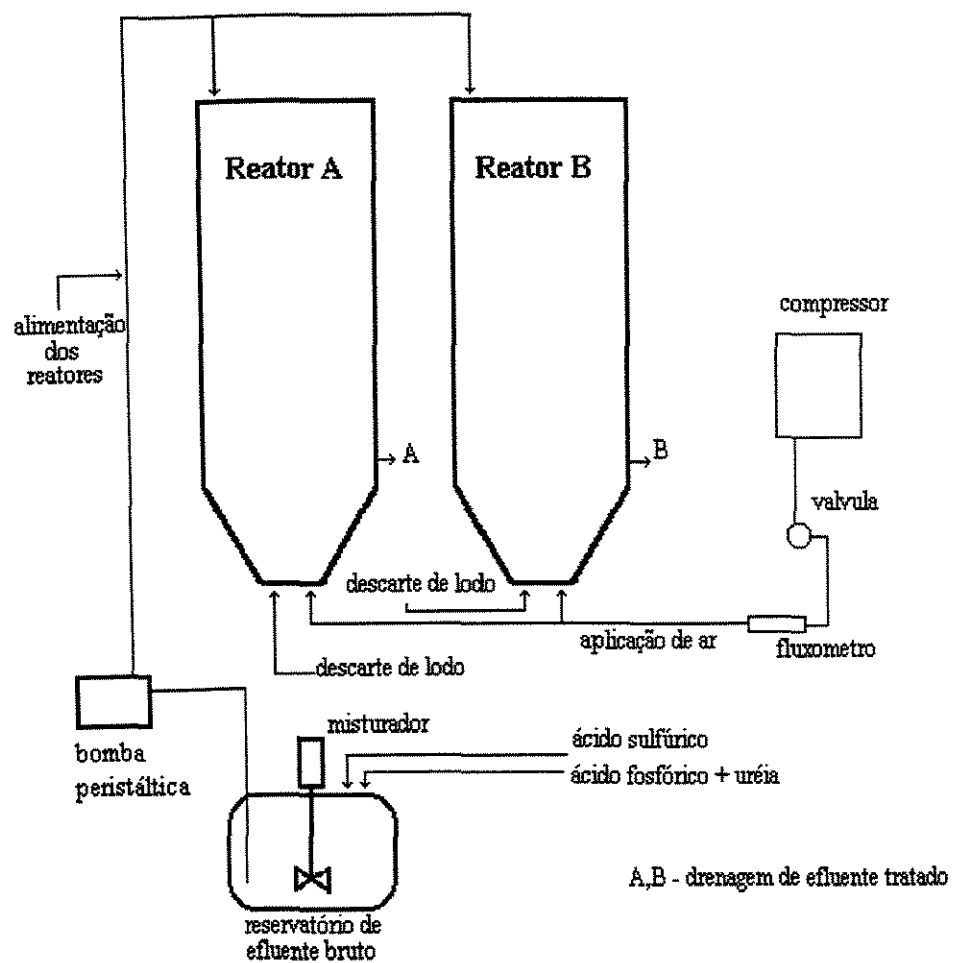


Figura 12 - Esquema de montagem dos reatores para o tratamento do despejo cítrico.

b) Período de reação - Durante o período de reação (4 horas), que se dá imediatamente após o enchimento, o efluente industrial e o lodo foram mantidos sob aeração contínua e homogeneizados com o auxílio de motor eixo e hélice, fixados na parte superior dos reatores. No período de reação processa-se a remoção adicional de matéria orgânica, já iniciada no período de enchimento.

c) Período de sedimentação - Após o período de reação, a aeração e mistura do sistema foram interrompidas para que houvesse a sedimentação dos microrganismos e material em suspensão. O período adotado para esta etapa foi de 0,5 h.

d) Período de drenagem - A drenagem do efluente tratado após a sedimentação, foi feita através do orifício de drenagem dos reatores, regulando-se o fluxo para que o mesmo não ultrapassasse o período adotado de 0,5 h. Este tempo foi determinado a partir de testes preliminares em laboratório, variando-se tempo e diâmetro de tubulação.

e) Período de repouso - O período adotado na primeira etapa para o repouso foi de 1 h, permanecendo no reator apenas o lodo com provimento de aeração. Quando necessário, foi feito descarte do lodo excedente antes de se iniciar a próxima operação. Na segunda etapa o período variou de acordo com os valores apresentados na Tabela 6.

4. 4. Dosagem de Nutrientes

Segundo METCALF & EDDY (1991), a relação em massa de DBO:N:P tem que ser ajustada para viabilizar-se o tratamento biológico. Neste trabalho adotou-se a relação 100:5:2, utilizada por NOUR (1990) em trabalho de tratabilidade do mesmo efluente através de escoamento superficial no solo, e por DORNELLAS (1996), em seus estudos utilizando um sistema de Lodo Ativado por Batelada no tratamento de despejo cítrico.

A dosagem de nutrientes foi realizada diretamente no recipiente onde o efluente permanecia em mistura para bombeamento. Foram adicionados uréia com 45% de nitrogênio (dados do fabricante), e ácido fosfórico concentrado comercial, com aproximadamente 24% de fósforo, valor este determinado em laboratório.

4. 5. Correção de pH

Diferentes amostras do efluente cítrico líquido apresentaram diferentes valores de pH, sendo a neutralização feita com ácido sulfúrico 7,2 N, quando este apresentava valores de pH alcalinos, ou hidróxido de sódio em pastilhas, para valores muito ácidos. Usou-se como critério a correção do pH após a adição de nutrientes.

4. 6. Adaptação do Lodo

A adaptação do lodo foi feita segundo metodologia proposta por POVINELLI et al. (1989), que se baseia na adaptação de microrganismos de esgoto doméstico através da substituição gradativa do mesmo pelo efluente a que se deseja adaptar os microrganismos.

Os reatores foram carregados em sua capacidade máxima com esgoto doméstico, seguido de aeração contínua por uso de um compressor industrial. Após um período de 24 h, a aeração foi interrompida para sedimentação do material sólido e drenagem do líquido. Amostras do lodo remanescente foram coletadas para análise de sólidos suspensos voláteis (SSV) e observação microscópica. Após retorno do material líquido ao reator, foi inicialmente retirado 1 L e posteriormente 2 L do mesmo, substituindo-se por igual volume de efluente cítrico com nutrientes e pH corrigido, em processo contínuo, até serem obtidas características consideradas suficientes para o início das fases de estudo. Os procedimentos para a adaptação do lodo podem ser observados na Figura 13.

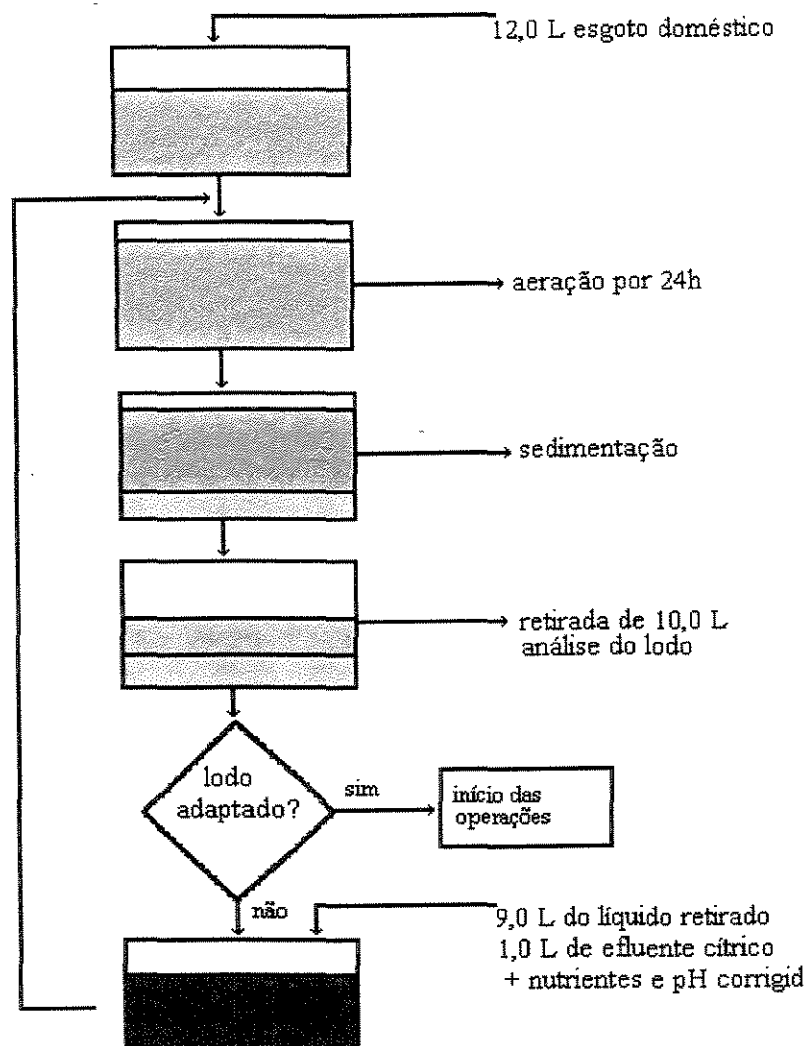


Figura 13 - Fluxograma da metodologia utilizada para a adaptação do lodo.

4. 7. Amostragem

As amostragens foram realizadas de forma a atender as necessidades no que diz respeito à consistência dos dados, procurando-se obter uma quantidade satisfatória de material para as análises.

4. 8. Coleta, Acondicionamento e Conservação do Efluente Bruto.

Cerca de 100 L de resíduo gerado pela indústria cítrica foram coletados *semanalmente*, com o intuito de se obter amostras com características teoricamente semelhantes em todas as coletas.

A coleta do efluente líquido foi realizada na entrada do sistema de tratamento da indústria, utilizando-se para isso recipientes plásticos de 50 L de capacidade. Uma vez no laboratório, o material foi estocado em câmara fria com temperatura em torno de 4°C, permanecendo à temperatura ambiente durante 24 h antes do uso.

4. 9. Análises do Efluente Industrial e do Efluente do Sistema LAB

4. 9. 1. Parâmetros Físico-Químicos e Biológicos

Os resíduos líquidos gerados pela indústria e pelo sistema piloto, foram analisados seguindo a metodologia proposta pelo “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”, através dos seguintes parâmetros:

- a) Demanda bioquímica de oxigênio (DBO), método 5-2 e 5-4 (1989);
- b) Demanda química de oxigênio (DQO), método 5-10 (1989);

- c) pH;
- d) Temperatura;
- e) Série de sólidos, método 2-71 (1989);
- f) Oxigênio dissolvido (OD);
- g) Nitrogênio e Fósforo.

4. 9. 2. Análise dos Subprodutos Gerados Durante o Processo de Tratamento

A análise dos subprodutos gerados durante a degradação biológica do efluente líquido no reator, tanto nas diferentes fases do processo como na fase de repouso, foi realizada em cromatógrafo gasoso com detetor de ionização de chama (FID) e detetor seletivo de massa (MSD), modelo HP-5970, equipados com colunas cromatográficas capilares (coluna AP-1 no caso do FID; e coluna AP-5 no caso do MSD). O efluente líquido industrial também foi monitorado para averiguação de suas condições antes de serem submetidos ao tratamento.

As condições empregadas nas análises nos cromatógrafos foram as seguintes:

Coluna - AP-1; AP-5, 30 metros;
Injetor - 250°C;
Detetor - 280°C;
Condições - início 70°C; rampa 3°C/ min.; término 300°C; 5min./300°C
Amostra - 1µL.

4. 9. 2. 1. Pré-tratamento das Amostras

As amostras provenientes da indústria cítrica e as oriundas dos reatores foram submetidas a processo de pré-tratamento para a remoção de material orgânico e partículas menores.

O pré-tratamento consistiu em coletar amostras de 500 mL e submetê-las à filtração sob vácuo, com diferentes tipos de filtros de granulometria variada, desde pré-filtro de microfibras de vidro até membranas de acetato-celulose de 0,22 μm , obtendo-se assim um material limpo e transparente de cor amarela, sem perda de suas características iniciais. Deste material foram extraídos compostos químicos provenientes do efluente cítrico, assim como os gerados nos reatores. Estes foram submetidos às análises cromatográficas e também aos ensaios de atividade enzimática.

4. 9. 2. 2. Extração de Compostos Presentes no Efluente Cítrico

A metodologia utilizada para a extração das substâncias do efluente cítrico foi a de partição, onde 500 mL da amostra do efluente foram separados, e o pH corrigido à $\leq 2,0$ com ácido sulfúrico concentrado, sob agitação magnética. Frações de 200 mL deste material foram adicionados de 70 mL de clorofórmio e agitadas em funil de separação. Este procedimento foi repetido por 3 vezes, e as respectivas frações combinadas. Para a retirada de água proveniente do processo, o material foi submetido a secagem em acetato de sódio anidro. A amostra foi submetida à rota evaporação para retirada do solvente utilizado na extração, quase até a secagem, em banho à 40°C. O material foi então ressuspensionado em acetato de etila a um volume de 1,0 mL.

4. 9. 2. 3. Análise dos Bioprodutos Exógenos do Efluente Após o Tratamento

As biomoléculas presentes no sobrenadante final (fase de descarte do efluente tratado), provenientes do processo metabólico da digestão da matéria orgânica pelos microrganismos, foram submetidas à análises para a detecção de enzimas neste efluente.

Cerca de 20 L do efluente tratado foram submetidos a processo de filtração para remoção de sólidos suspensos, como descritos no item 4. 9. 2. 1. Em seguida, o material filtrado foi concentrado a um volume de 50 mL com o auxílio de um sistema de ultrafiltração (Pellicon - Millipore) com membrana de exclusão de peso molecular de 10.000 Daltons (PTGC 10,000), com área filtrante de 1 ft² e fluxo de trabalho de 480 mL/min.

Tanto o material concentrado como o filtrado foram analisados quanto ao teor de proteínas, atividade enzimática (proteases e pectinases) e determinação de peso molecular. Os métodos utilizados para a dosagem de proteínas e atividade enzimática serão descritos a seguir.

A determinação de massa molecular foi determinada em sistema FPLC (Pharmacia), através de coluna XK-16/100 empacotada com resina de exclusão de peso molecular Sephacryl S-200 HR, acoplada a unidade controladora G-250, coletor de frações Super-frac, registrador R-102 e detetor de UV. As condições empregadas no sistema para a separação das moléculas foram:

- a) fluxo: 1 mL/min.;
- b) amostra: 1 mL;
- c) detetor: UV 280 nm.;
- d) coletor: 5 mL.

Para determinação do peso molecular das amostras, a coluna foi previamente calibrada nas mesmas condições de ensaio com padrões de pesos moleculares conhecidos, e as amostras

comparadas . O esquema dos procedimentos adotados para a concentração e purificação de enzimas podem ser observados na Figura 14.

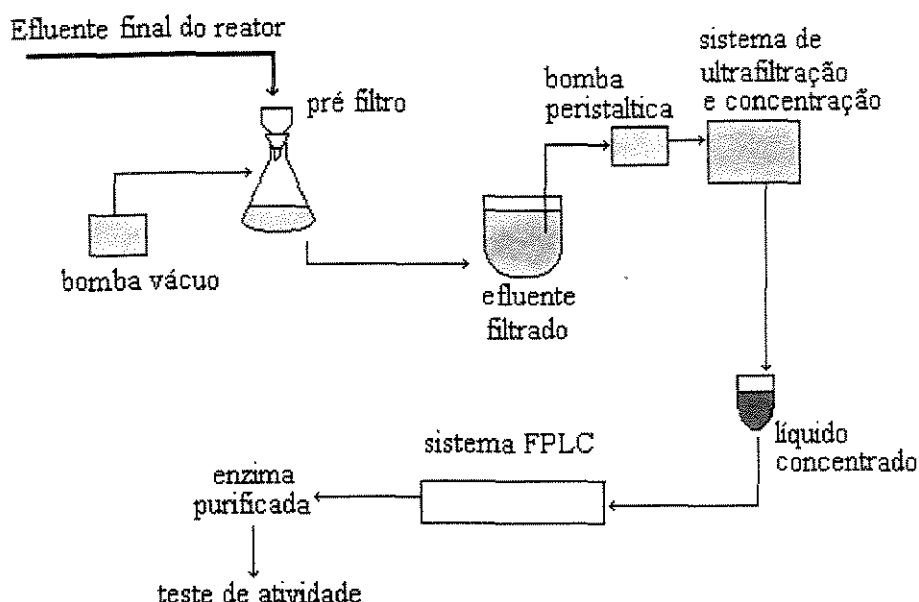


Figura 14– Fluxograma representativo para separação e purificação de enzimas do efluente tratado.

4. 9. 3. Determinação de Proteínas

O método utilizado para a determinação de proteínas foi o descrito por BRADFORD (1976) modificado por SEDMAK & GROSSBERG (1977), no qual a concentração de proteína é determinada através da associação desta ao corante Coomassie Brilliant Blue G-250, e analisada em espectrofotômetro a 595nm. A associação da proteína com o corante se dá em dois minutos, e sua coloração é estável por um período de 60 minutos.

4. 9. 3. 1. Preparo do Reagente Coomasie Brilliant Blue G-250

Uma solução de Coomasie Brilliant Blue G-250 (0,06%) foi preparada diluindo-se 0,6g do corante em água destilada, completando-se o volume para 1.000 mL com ácido clorídrico 2,2% (p/v) - 0,6N. A solução foi mantida sob agitação magnética por 10 minutos e filtrada em papel Whatman nº 1 para remoção do material insolúvel. O reagente apresenta coloração marrom esverdeada, e foi padronizado para uma absorbância de 1,3 a 465nm, diluindo-se quando necessário a solução com ácido clorídrico 2,2%.

4. 9. 3. 2. Elaboração da Reta Padrão de Proteína

Uma solução padrão de soro albumina bovina (BSA) foi preparada dissolvendo-se 20 mg de BSA em 200mL de solução salina 0,15 M. Para elaboração da reta padrão, 0,1 a 1,0 mL desta solução foram transferidos para tubos de ensaio, completando-se o volume para 1,0 mL com tampão acetato (0,1 M, SDS 0,01%, pH 5,0). A seguir 2,0 mL do reagente G-250 foram adicionados. Um “branco” foi elaborado utilizando-se tampão acetato ou solução salina ao invés da solução padrão de proteína. A absorbância foi lida em espectrofotômetro a 595nm.

4. 9. 4. Atividade enzimática

4. 9. 4. 1. Ensaio para atividade de enzimas proteolíticas

A atividade de protease foi determinada segundo o método de KUNIMTSU & YASUNOBU (1970) modificado por TSAI et al. (1973), onde 1g de caseína seg. Hammarsten (Merck) é dissolvida em 100 mL de tampão fosfato 0,1 M, pH 6,0. A mistura foi aquecida em banho de água em ebulição por um período de 15 minutos e resfriada em água corrente. Para o teste de atividade enzimática, 1,0 mL da solução de caseína e 1,0 mL da solução de enzima foram adicionadas em tubos de ensaio, e incubadas a 37°C por um período de 30 minutos. A reação foi

interrompida pela adição de 3,0 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5%, deixando-se em repouso por 15 minutos a temperatura ambiente. O material foi filtrado em papel Whatman nº 1 e a absorbância lida a 280nm em espectrofotômetro. Um “branco” foi elaborado com as soluções de caseína e de enzima, adicionando-se TCA no início da reação. Uma unidade de atividade foi definida como a quantidade de enzima necessária para causar uma mudança de 0,001 na unidade de absorbância por minuto (KUNIMITSU & YASUNOBO, 1970).

4. 9. 4. 2. Ensaio para Atividade de Enzimas Pectinolíticas

A atividade de pectinase foi determinada segundo o método de HENNIES (1996), onde 1g de pectina cítrica é dissolvida em 100 mL de tampão citrato-fosfato 0,1M, pH 6,0. A mistura é aquecida em banho de água em ebulição por um período de 15 minutos e resfriada em água corrente. Para o teste de atividade enzimática, a mistura de reação é constituída por 1,0 mL da solução de pectina, 1,0 mL da solução de enzima e 2,0 mL do tampão adicionadas em tubos de ensaio, e incubadas a 40°C por um período de 30 minutos. A seguir, adiciona-se 3,0 mL do reagente do ADNS, sendo a mistura incubada durante 5 minutos em água em ebulição vigorosa. A interrupção da reação é feita por resfriamento dos tubos em banho de gelo, e a absorbância é lida a 540 nm em espectrofotômetro (Beckman DU-70). A calibração do aparelho é feita com um branco (branco espectro), onde substitui-se a enzima pelo tampão.

A curva padrão é construída com solução de pectina cítrica, à concentrações entre 2 e 10 $\mu\text{mol/mL}$. Uma unidade de atividade enzimática corresponde à quantidade desta capaz de catalizar a liberação de 1 μmol de açúcar redutor expresso como pectina/mL/min.

4. 9. 5. Determinação de açúcares redutores totais (ART)

4. 9. 5. 1. Preparo do reagente do ADNS

O reagente é preparado dissolvendo-se 10,6 g de ácido 3,5-dinitrossalicílico, 19,8 g de hidróxido de sódio, 306,0 g de tartarato de sódio e potássio e 8,3 g de bissulfito de sódio em 1L de água destilada. Após agitação para total dissolução dos reagentes, são adicionados 7,6 mL de fenol, e o volume completado para 1,4 L com água destilada.

4. 10. Isolamento e Quantificação de Microrganismos

O isolamento e a quantificação de microrganismos foram feitos através da técnica de plaqueamento por diluição em série, em agar nutriente e PCA (Plate Count Agar), seguido de incubação em estufa à temperatura de 35°C por um período de 24 a 48 horas.

4. 10. 1. Caracterização Morfológica dos Microrganismos

A caracterização morfológica das colônias quanto a forma, tamanho, cor, textura entre outras, foi feita através de observação visual em microscópio estereoscópio modelo Estéreo Zoom (Cambridge Instruments).

4. 10. 2. Identificação dos Microrganismos

A identificação dos principais microrganismos encontrados e isolados do sistema LAB foi feita junto à Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, a nível de gênero e espécie.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. 1. Características do Despejo Cítrico

As principais características físico-químicas e biológicas observadas em amostras do efluente cítrico gerados pela indústria podem ser observadas na Tabela 7.

Os valores médios obtidos das amostras do efluente industrial cítrico apresentados na Tabela 7, são similares aos observados por DORNELAS (1995) em trabalho anterior utilizando o mesmo tipo de efluente.

Tabela 7 - Valores médios dos parâmetros obtidos na caracterização do efluente cítrico bruto.

Parâmetros observados	valores médios
Demanda química de oxigênio - DQO (mgO_2/L)	3989
Demanda bioquímica de oxigênio - DBO (mgO_2/L)	1276
Sólidos suspensos totais (mg/L)	317
Sólidos suspensos fixos (mg/L)	26
Sólidos suspensos voláteis (mg/L)	291
pH	4,56
Sólidos sedimentáveis (ml/L)	23
Fósforo (mg/L)	1,2
Nitrogênio Total (mg/L)	10

5. 2. Adaptação do Lodo

Durante o período de adaptação do lodo foram realizadas análises microscópicas a fim de acompanhar suas condições gerais. Por se tratar de uma adaptação utilizando esgoto doméstico, observou-se inicialmente uma grande quantidade de microrganismos provenientes deste despejo. Os principais microrganismos encontrados foram: Ciliados livres; Ciliados pedunculados; Rizópodes, Flagelados, Rotíferos, uma pequena quantidade de Nematóides, além de um grande número de bactérias. Com a adição periódica de efluente cítrico inicialmente na relação de 1:1 e posteriormente na relação de 2:1, a quantidade e tipos de microrganismos foram sendo reduzidos, prevalecendo após o período de adaptação os Ciliados pedunculados e livres, Protozoários e Rizópodes com teca.

Foram também feitas análises para determinação do estado evolutivo do lodo em relação a Sólidos Suspensos Voláteis (SSV). Foi estipulado que para o início das operações dos reatores a concentração inicial de SSV seria de 2500 mg/L.

A fase de adaptação concluiu-se em 26 dias, sendo que no final deste período foi realizado teste em cada reator, com aplicação de volumes de despejo cítrico proporcionais às concentrações de SSV no lodo, respeitando a concentração inicial proposta. Após esta operação, o lodo apresentou concentração satisfatória para o início dos experimentos. Na Tabela 8 estão apresentados os resultados do monitoramento da concentração de sólidos suspensos no lodo durante o período de adaptação.

Em trabalhos anteriores, realizados com objetivo de tratar o mesmo tipo de efluente, foram observados diferentes períodos de adaptação do lodo. POVINELLI et al. (1989), em seus estudos, concluíram a adaptação em oito dias, obtendo um lodo com boas características microbiológicas e boa depuração do efluente. DORNELLAS (1995) concluiu sua adaptação em 14 dias, com uma concentração aproximada de SSV de 2500 mg/L nos reatores. As Figuras 15, 16 e 17 ilustram as concentrações de SST, SSF e SSV nos reatores durante este período.

Tabela 8 - Concentração de sólidos suspensos no lodo durante o período de adaptação.

Período (d)	Reator A			Reator B		
	SST	SSF (mg/L)	SSV	SST	SSF (mg/L)	SSV
7	356	292	64	356	28	328
11	340	44	296	228	100	128
13	520	50	470	405	85	320
15	370	50	320	1273	700	573
17	673	100	573	640	113	527
24	1958	443	1515	3200	550	2650
26	2580	320	2260	3620	486	3134

5. 3. Comportamento do Lodo Durante o Experimento

No decorrer deste trabalho, houve a necessidade de mudança de fornecedores de efluente cítrico, devido a problemas técnicos e operacionais das indústrias, que implicou na parada de alimentação dos reatores com o resíduo industrial por um período de 15 dias, até ser feito novo contato com outros fornecedores. Durante este período o lodo permaneceu nos reatores sob aeração à temperatura ambiente.

A mudança de fornecedores como também o efluente industrial, implicou em subsequente diminuição da concentração de SSV nos reatores (Tabela 9). Apesar do processamento industrial de frutas cítricas ser semelhante entre as indústrias, a mudança de efluente mostrou ser um fator prejudicial no comportamento do lodo (Tabela 9).

Analisando os resultados da Tabela 9 no que diz respeito à concentração de SSV do lodo nos reatores durante o período de ensaio, estes operaram em média com uma concentração de lodo de 9.600mg/L para o reator A e 8.222 mg/L no reator B.

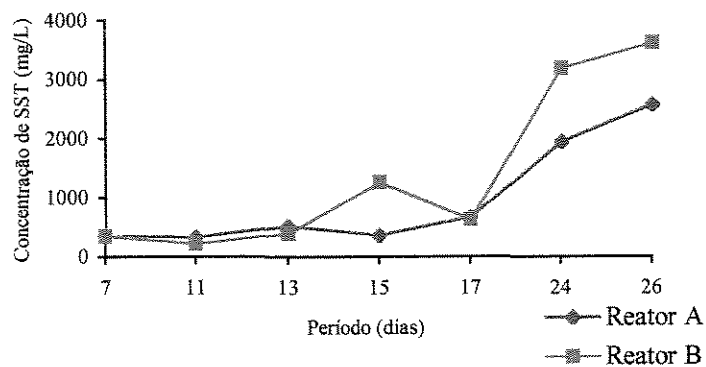


Figura 15 - Concentração de SST nos reatores durante o período de adaptação do lodo.

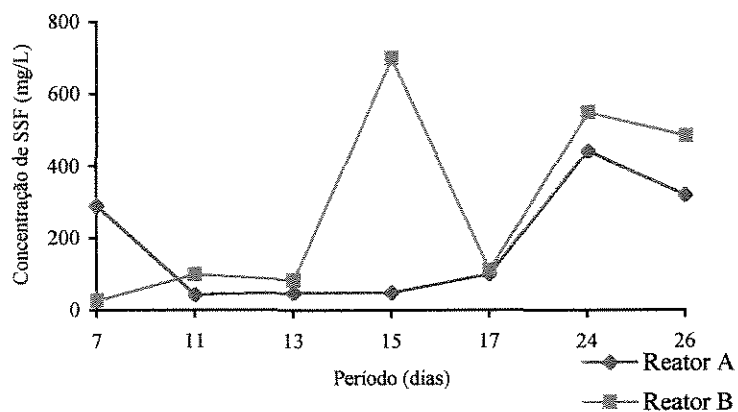


Figura 16 - Concentração de SSF nos reatores durante o período de adaptação do lodo.

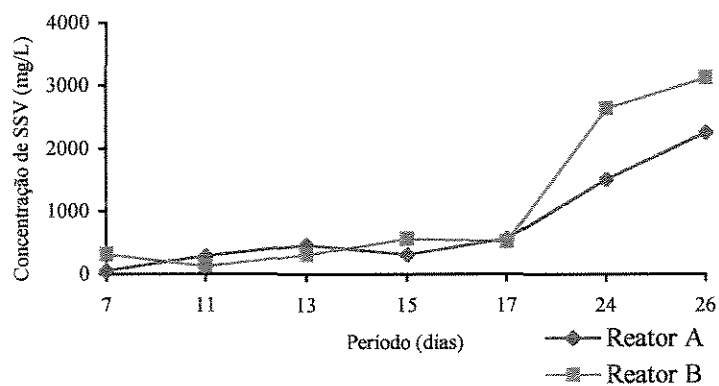


Figura 17 - Concentração de SSV nos reatores durante o período de adaptação do lodo.

Com relação ao descarte do lodo, este não foi efetuado, devido à necessidade de recuperação da concentração de SSV, para cerca de 15000 mg/L, o que asseguraria uma concentração de SSVR inicial de 2500 mg/L nos reatores. O descarte do lodo foi efetuado apenas em pequenas alíquotas durante as coletas de amostras para análises e limpeza dos reatores que foram periodicamente efetuadas, não só nas paredes como também nos difusores de ar.

Segundo DORNELAS (1995), concentrações de SSVR $\geq$ 2500 mg/L de sólidos nos reatores seriam suficientes para uma boa eficiência no tratamento de efluente cítrico através do sistema LAB.

As Figuras 18, 19 e 20 apresentam os resultados do comportamento do lodo durante este período.

5. 4. Dosagem de Nutrientes

As análises de nitrogênio e fósforo foram efetuadas após as coletas de efluente industrial. Devido às limitações do laboratório não foi possível realizar análises da concentração de nitrogênio de todas as amostras; Porém, foi monitorada a concentração de fósforo total do efluente, na forma de fosfato (método do ácido ascórbico).

Os resultados referentes às análises de fósforo e nitrogênio, assim como os valores de DBO do resíduo bruto e as concentrações de fósforo e nitrogênio necessárias para atender a relação DBO:N:P adotada segundo NOUR (1990) podem ser observados na Tabela 10 e Figura 21. Segundo os estudos realizados por FIGUEIREDO (1977), NOUR (1990) e DORNELLAS (1995), o resíduo industrial cítrico apresenta baixa concentração de nutrientes, o que foi confirmado no presente trabalho.

Tabela 9 - Comportamento do lodo durante o período de experimento.

Período (dias)	Reator A			Reator B		
	SST	SSF (mg/L)	SSV	SST	SSF (mg/L)	SSV
* 0	3510	480	3030	3200	360	2840
16	1824	1220	604	2580	360	2220
33	8775	1575	7200	6550	1000	5550
* 36	9520	1725	7800	13650	2475	11175
43	11680	2500	9180	11640	2420	9220
* 50	11326	1866	9460	11700	1675	10025
58	5629	600	5029	9140	1140	8000
60	9133	1000	8133	7040	700	6340
64	15140	1420	13720	9920	880	9040
69	14899	1266	13633	15720	1520	14200
76	12000	980	11020	10183	966	9217
81	13240	1880	11360	11913	1133	10780
86	11100	1320	9780	11580	1200	10380
91	16980	1540	15440	10660	1500	9160
98	10432	833	9599	5740	560	5180

* mudança de fornecedor

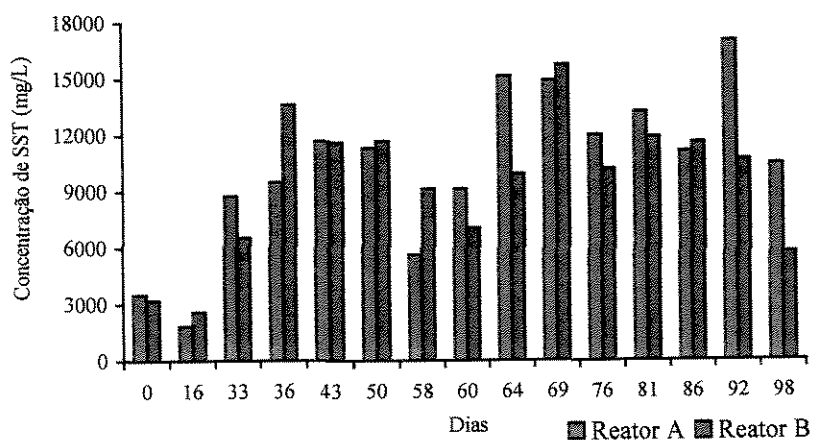


Figura 18- Concentração de SST do lodo durante o período do experimento.

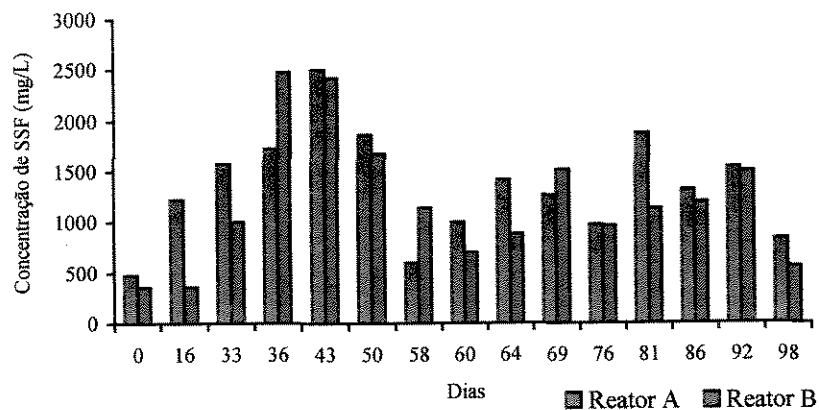


Figura 19- Concentração de SSF no lodo durante o período do experimento.

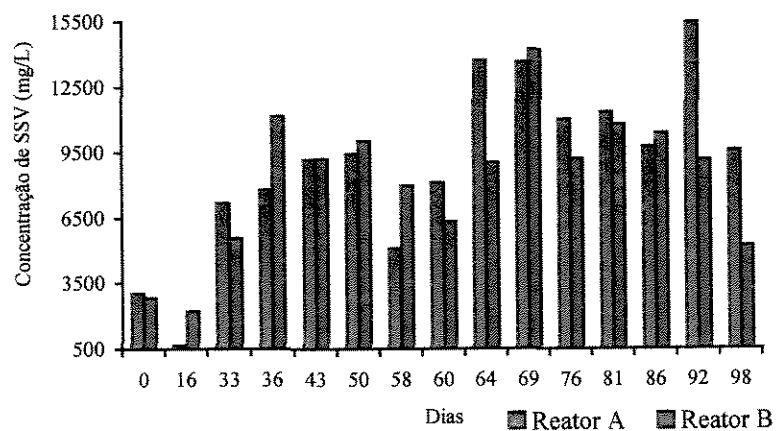


Figura 20 - Concentração de SSV no lodo durante o período do experimento.

A relação para a correção da quantidade de nutrientes necessária ao tratamento biológico do efluente industrial cítrico foi em média de 22 % de nitrogênio e 25% de fósforo. DORNELLAS (1995) em seus estudos obteve uma relação para a correção de fósforo em torno de 13%.

Tabela 10 - Relação entre DBO: N: P no efluente industrial cítrico e concentrações necessárias para correção desses parâmetros durante o experimento.

Data	DBO (mgO ₂ /L)	Conc. de N (ppm)	Conc. nec. de N (ppm)	Conc. de P (ppm)	Conc. nec. de P (ppm)
27/04	601	10	30	5	12
15/05	1460	15	73	7	29
26/05	1520	-	-	-	-
09/06	1340	20	67	9	27
23/06	1847	12	92	4	37
07/07	1581	-	-	-	-
21/07	1276	18	64	8	26
05/08	1922	12	96	7	38
15/08	1730	10	86	6	35
21/08	1680	22	84	7	34
01/09	900	10	45	5	18

(-) = não determinado

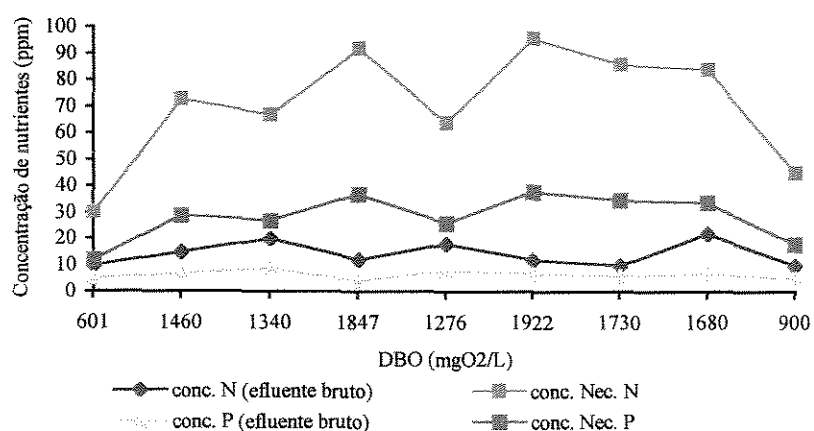


Figura 21 – Concentrações de nitrogênio e fósforo necessárias para atender a relação DBO:N:P e concentrações dos mesmos nutrientes no efluente bruto.

5. 5. Comportamento do pH

O efluente industrial apresentou valores de pH de 4,5 a 5,0, sendo corrigido com adição de hidróxido de sódio como descrito na metodologia. Algumas vezes o efluente apresentou pH elevado, entre 9,0 e 12,0, sendo corrigido pela adição de ácido sulfúrico concentrado. Após a correção de nutrientes e do pH para 7,0 o material foi bombeado para os reatores e no final dos períodos de enchimento e reação foram feitas análises de pH com o intuito de se monitorar possíveis variações. Observou-se através dos resultados que os valores de pH nos reatores não sofreu grandes variações permanecendo na faixa de 6,8 à 7,2. O mesmo ocorreu com o pH do efluente final. A não variação dos valores de pH durante o processo pode ser um indício de tamponamento do material adicionado aos reatores.

5. 6. Controle da Concentração de Oxigênio Dissolvido nos Reatores

O controle da injeção de ar aplicada nos reatores foi feita através de compressor de ar, válvulas controladoras de pressão e fluxômetro como descrito na metodologia.

Como o compressor utilizado possui capacidade de produzir ar a $1,84 \text{ m}^3/\text{min}$, com pressão de trabalho constante de $7,0 \text{ Kg/cm}^2$, foi necessário a utilização de uma válvula para ajustar a pressão de entrada de ar na linha dos reatores a uma pressão de 3 Kg/cm^2 . Uma segunda válvula (fluxômetro) foi utilizada para correção do fluxo de ar para os reatores. O fluxômetro foi regulado para manter uma vazão constante de 3 mg de ar/min.

Análises da concentração de O_2 efetuadas preliminarmente com o reator abastecido em seu volume máximo com água, mostraram que estas condições foram suficientes para o processo, apresentando valores de 3,0 a 5,0 mg de OD/L. Com a adição de efluente cítrico e lodo, estes valores permaneceram os mesmos durante o processo. Limpezas periódicas das pedras do difusor de ar foram realizadas a cada mês, garantindo assim o fluxo de ar desejado.

Segundo METCALF & EDDY (1991) e VAZOLLER (1989), a concentração necessária de oxigênio para um sistema biológico de tratamento deve ser em torno de 3,0 a 6,0 mgO₂/L no tanque de aeração. Isso mostra que a quantidade de ar aplicado nos reatores foi suficiente para o processo de lodos ativados.

5. 7. Sólidos Sedimentáveis

No decorrer do experimento foi observado que o tempo estabelecido para o período de sedimentação de 30 min, foi suficiente para o processo, pois ocorreu a formação de flocos grandes com alta velocidade de sedimentação. Na maioria das vezes, antes mesmo do tempo determinado, podia ser observado todo o material sólido depositado no fundo do reator abaixo da linha de drenagem do efluente tratado, permitindo boa remoção destes componentes. As análises efetuadas mostraram grande porcentagem de remoção, com valores próximos a 100%, isto é, a quase totalidade dos sólidos foram sedimentados no período adotado Tabela 11.

A mudança de fornecedores de efluente bruto não ocasionou variação na remoção de sólidos sedimentáveis nos reatores. Estes resultados estão de acordo com os dados obtidos por DORNELLAS (1995), que obteve em seus estudos uma grande remoção de sólidos sedimentáveis durante o período de sedimentação, durante o tratamento do mesmo tipo de efluente.

5. 8. Sólidos Suspensos

As análises efetuadas para a determinação da série de sólidos nos reatores (sólidos suspensos totais- SST; sólidos suspensos fixos- SSF; e sólidos suspensos voláteis- SSV) durante o ciclo de 8 horas, com um volume de despejo cítrico de 10L, mostraram em média uma porcentagem de remoção de 84 a 92% em relação a SST, de 70 a 85% de SSF, e de 90% de SSV. Os resultados dessas análises são apresentados nas Tabelas 12, 13 e 14, sendo melhor visualizados através das Figuras 22, 23 e 24. Podemos observar através dos resultados, que a mudança de

fornecedor de efluente bruto durante o período de ensaio, não alterou a eficiência dos reatores na porcentagem de remoção de sólidos.

Tabela 11 - Remoção de Sólidos Sedimentáveis (SS) nos reatores (mL/L).

Período (dias)	SS efluente cítrico (mL/L)	SS efluente reator A (mL/L)	SS efluente reator B (mL/L)
* 0	6.5	0.2	0.2
16	25	0.5	0.6
33	7.0	0.4	0.2
* 36	1.0	0.1	0.1
43	4.0	0.1	0.2
* 50	1.0	0.1	0.1
58	3.0	0.2	0.1
60	0.2	0.1	0.1
64	0.2	0.1	0.0
69	0.2	0.1	0.1
76	15	0.1	0.1
81	6.0	0.3	0.2
86	4.0	0.1	0.2
92	40	0.5	0.6
108	140	0.5	0.1

* = Mudança de fornecedor

DORNELAS (1995) obteve uma variação na porcentagem de remoção de sólidos suspensos de 84 a 99% com a aplicação de oxigênio puro, e 88 a 98% com a aplicação de ar. GRAY (1989) descreve que valores de remoção de sólidos superiores à 60% em tanques de mistura completa são adequados para este tipo de sistema.

Tabela 12 – Porcentagem de remoção de sólidos suspensos totais (SST) sobrenadante nos reatores após o ciclo de 8 h, com um volume de 10 L de despejo cítrico.

Período (dias)	Reator A			Reator B		
	Sólidos inicial mg/L	Sólidos final mg/L	% de remoção	Sólidos inicial mg/L	Sólidos final mg/L	% de remoção
* 0	158	10	94	196	16	92
16	196	16	92	162	12	93
33	247	53	78	275	17	93
* 36	1690	810	52	210	146	30
43	1290	194	85	681	224	67
* 50	172	24	86	710	89	87
58	705	67	90	695	81	88
60	765	74	90	850	78	91
64	884	119	86	995	52	95
69	648	58	91	2050	68	97
76	666	83	87	1585	70	96
81	292	94	68	1440	44	97
86	232	76	67	1240	48	96
92	1492	74	95	2130	136	94
97	1193	19	98	2100	145	93
108	1380	96	93	1893	173	91
média	750	117	84	1076	87	92

*= Mudança de fornecedor

Tabela 13 - Porcentagem de remoção de sólidos suspensos fixos (SSF) sobrenadante nos reatores.

Período (dias)	Reator A			Reator B		
	Sólidos inicial mg/L	Sólidos final mg/L	% de remoção	Sólidos inicial mg/L	Sólidos final mg/L	% de remoção
* 0	158	24	85	45	16	64
16	196	86	56	28	4	86
33	333	200	40	11	5	55
* 36	390	230	41	24	4	83
43	200	29	85	137	45	67
* 50	247	53	78	275	17	94
58	24	1	96	15	8	46
60	60	7	88	55	7	87
64	72	10	86	95	5	95
69	37	9	76	335	4	99
76	20	9	55	130	6	95
81	46	5	89	33	6	82
86	24	8	67	53	1	98
92	100	3	97	220	83	62
97	106	5	95	160	10	94
108	240	4	98	270	72	73
média	141	42	70	118	18	85

* = Mudança de fornecedor.

Tabela 14 - Porcentagem de remoção de sólidos suspensos voláteis (SSV) sobrenadante nos reatores.

Período (dias)	Reator A			Reator B		
	Sólidos inicial mg/L	Sólidos final mg/L	% de remoção	Sólidos inicial mg/L	Sólidos final mg/L	% de remoção
* 0	757	58	92	563	42	92
16	725	89	88	645	73	89
33	945	106	89	968	102	89
* 36	933	114	88	967	91	90
43	1090	165	85	543	179	67
* 50	695	38	94	684	68	90
58	716	50	93	985	57	94
60	705	67	90	795	71	91
64	772	109	86	900	47	95
69	629	74	88	1715	64	96
76	628	39	94	1455	64	96
81	218	68	69	1387	43	97
86	1560	89	94	1655	103	94
92	1392	71	95	1910	53	97
97	1086	64	94	1940	135	93
108	1600	210	87	2320	636	73
média	903	88	90	1214	114	91

* = Mudança de fornecedor.

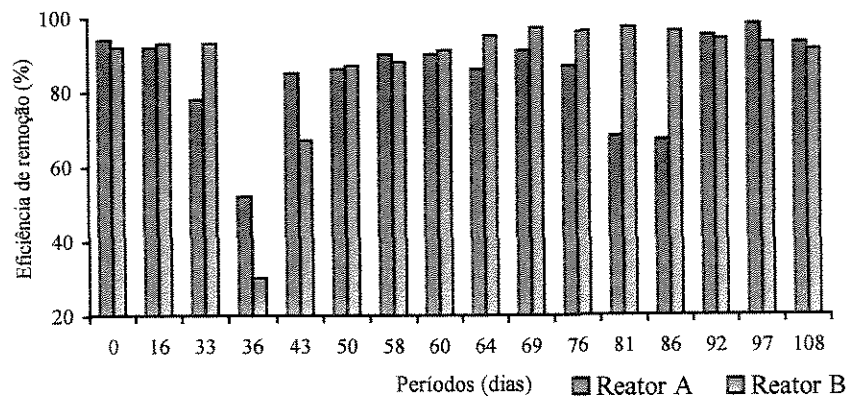


Figura 22– Eficiência de remoção de sólidos suspensos totais (SST) nos reatores após o período de reação de 8 h, com um volume de 10 L de despejo cítrico.

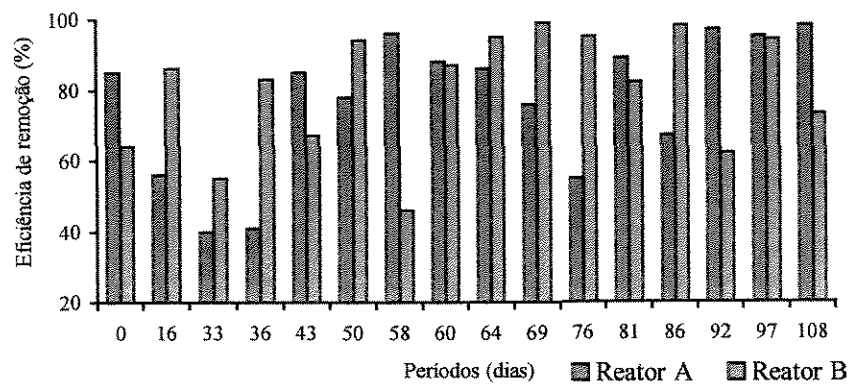


Figura 23 - Eficiência de remoção de sólidos suspensos fixos (SSF) nos reatores após o período total de reação de 8 h, com um volume total de 10 L de despejo cítrico.

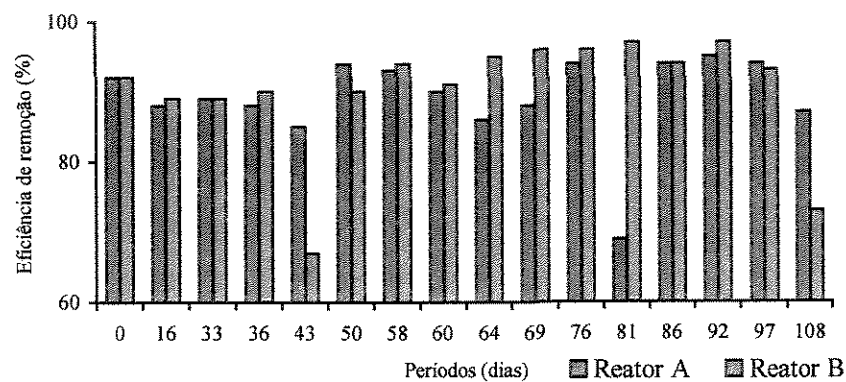


Figura 24 - Eficiência de remoção de sólidos suspensos totais (SSV) nos reatores após o período total de reação de 8 h, com um volume total de 10 L de despejo cítrico.

5. 9. Demanda Química de Oxigênio (DQO)

As análises de DQO foram efetuadas nos reatores após o enchimento e no final do período de reação, com o intuito de se determinar a eficiência do sistema em relação a este parâmetro.

Os reatores foram operados com sua capacidade máxima com uma relação de $TR/TE = 2,0$ (tempo de reação/tempo de enchimento).

Observando os resultados da Tabela 15, notamos que após o período de adaptação do lodo ao efluente cítrico, a DQO dos reatores foi variável, ocorrendo uma grande queda na eficiência de remoção de DQO após a primeira mudança de fornecedor, chegando a valores de 5% no reator A e de 10% no reator B. Pode-se observar também que a segunda mudança de fornecedor não foi crítica para o sistema, sendo que houve certa recuperação na eficiência na remoção de DQO chegando ao valor máximo de 60% de remoção. Em média ocorreu remoção de 25% no reator A e 33% no reator B. DORNELLAS (1995) obteve uma remoção de cerca de 83% na DQO com aplicação de ar comprimido e 96% com oxigênio puro, com concentração de SSVR de 3000 mg/L, e relação $TR/TE=2,0$. Segundo este mesmo autor, o aumento do período de reação foi necessário para se atingir os valores acima mencionados, em sistema LAB no tratamento de efluente cítrico.

5. 10. Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)

Através da Tabela 16 podemos observar resultados de DBO semelhantes aos da DQO. Os dados mostram que a mudança do efluente industrial ocasionou um distúrbio na eficiência do sistema de biodegradação da matéria orgânica. A diferença da composição química dos efluentes industriais constatada por análise de espectrofotometria de massa, pode ser a causa da queda na eficiência do sistema, observada através dos valores obtidos após a sua aplicação (Tabelas 15 e 16).

A porcentagem de remoção de DBO nos reatores foi em média de 34% no reator A e 33% no reator B. Os valores apresentados nas Tabelas 15 e 16 mostraram que os valores de remoção de DBO são um pouco mais elevados do que os obtidos nas análises de DQO, indicando a adaptabilidade microbiológica do lodo na degradação da fração orgânica do resíduo cítrico, mesmo sob mudança de fornecedor. DORNELAS (1995) obteve remoção de DBO de 97% com aplicação de oxigênio puro e 87% com aplicação de ar (SSVR= 2500 mg/L e período de reação de 4 hs).

Tabela 15 – Remoção de DQO (mgO₂ /L) nos reatores durante o período de experimento. SSV≈2500 mg/L, período de reação de 6h.

Período (dias)	DQO efluente cítrico	Reator A			Reator B		
		DQO inicial (mgO ₂ /L)	DQO final (mgO ₂ /L)	% remoção	DQO inicial (mgO ₂ /L)	DQO final (mgO ₂ /L)	% remoção
* 0	3654	3450	2406	30	3620	2386	34
16	3286	3540	3120	12	3480	3050	12
33	3450	3686	3110	16	3650	3086	15
* 36	3260	5180	4820	7	5540	4790	14
43	4120	5790	5520	5	5770	5230	10
* 50	3876	4120	3250	21	4232	3368	20
58	3560	3580	2869	19	3630	2780	23
60	3820	5299	3974	25	5616	3862	31
64	4230	5243	3784	27	5914	3881	34
69	2856	3832	3029	21	5748	2117	63
76	2600	3850	3212	17	5164	2628	49
81	3982	3679	3125	15	5589	3107	45
86	4526	7926	4942	38	7965	5446	32
92	6541	7849	5039	36	8314	5523	34
97	2680	5078	2210	56	5730	2250	61
108	4130	5450	3440	37	7090	3360	53
média	3786	4847	3616	25	5441	3366	33

* = Mudança de fornecedor

Tabela 16 - Remoção de DBO (mgO_2/L) nos reatores durante o período de experimento. SSV $\approx 2500 \text{ mg/L}$, período de reação de 6 h.

Período (dias)	DBO efluente cítrico	Reator A			Reator B		
		DBO inicial (mgO_2/L)	DBO final (mgO_2/L)	% remoção	DBO inicial (mgO_2/L)	DBO final (mgO_2/L)	% remoção
* 0	1460	1560	890	43	1610	950	41
16	1396	1420	1120	21	1563	1203	23
33	1340	1360	1095	19	1260	1036	18
* 36	-	-	-	-	-	-	-
43	1520	1245	1120	10	1298	1180	9
* 50	1581	1423	1020	28	1520	980	35
58	1428	1377	607	56	1486	743	50
60	1560	1554	770	50	1573	862	45
64	-	-	-	-	-	-	-
69	1276	1288	657	49	1310	754	42
76	1847	1945	1160	40	1873	1125	40
81	1902	2180	1922	12	2583	1848	28
86	1922	2250	1369	39	2145	1462	32
92	1730	1883	1050	44	2300	1683	27
97	1680	1789	1132	36	1713	1158	32
108	900	1864	1317	29	1900	1250	34
média	1539	1653	1087	34	1724	1160	33

* = Mudança de fornecedor

Os valores obtidos nas Tabelas acima sugerem a necessidade de mudança na relação F/M (alimento/microorganismo) para um melhor desempenho do sistema, sem haver contudo a necessidade de modificação da relação TR/TE (tempo de reação/tempo de enchimento). Para isso, foi elaborado um novo experimento modificando o volume de despejo cítrico adicionado aos reatores. Esta modificação baseou-se na redução sistemática de cerca de 2 L de despejo cítrico a cada ensaio, seguido de análises para a determinação da sua eficiência.

A relação volume de efluente sob volume de lodo de 10:2 inicialmente, foi reduzida para 8:2, 6:2 e 4:2. Os resultados obtidos após estas modificações estão relatados na Tabela 17 em relação à série de sólidos, e Tabela 18 em relação à DQO e DBO, ilustrados pelas Figuras 25 e 26.

Tabela 17 – Porcentagem de remoção de SST, SSF, e SSV nos reatores após a redução dos volumes aplicados. Ciclo total de reação de 8 horas.

Volume (L)	Reator A			Reator B		
	Sólidos inicial	Sólidos final	% de remoção	Sólidos inicial	Sólidos final	% de remoção
	SST (mg/L)			SST (mg/L)		
10	1877	765	59	1145	392	66
8	1917	475	75	2025	400	80
6	3177	189	94	3070	202	93
4	3123	159	95	3567	184	95
	SSF (mg/L)			SSF (mg/L)		
10	297	117	61	187	55	70
8	200	67	66	120	55	54
6	407	21	95	435	20	95
4	249	14	94	443	12	97
	SSV (mg/L)			SSV (mg/L)		
10	1580	647	59	957	337	65
8	1717	407	76	1905	345	82
6	2769	168	94	2635	182	93
4	2874	145	95	3124	172	94

SST= sólidos suspensos totais; SSF= sólidos suspensos fixos; SSV= sólidos suspensos voláteis.

Tabela 18 – Porcentagem de remoção de DQO e DBO nos reatores após a redução dos volumes aplicados. Ciclo total de reação de 8 horas.

Volume (L)	Reator A			Reator B		
	inicial	final	% remoção	inicial	final	% remoção
	DQO (mgO ₂ /L)			DQO (mgO ₂ /L)		
10	4520	2285	50	4005	2170	54
8	5310	2385	45	6130	2515	41
6	6625	3650	55	5870	3085	52
4	4180	2485	59	3650	2250	61
	DBO (mgO ₂ /L)			DBO (mgO ₂ /L)		
10	2540	2120	16	2630	2160	18
8	2820	2480	12	2850	2130	25
6	3600	1900	47	3660	1940	47
4	2960	1060	65	3160	1180	63

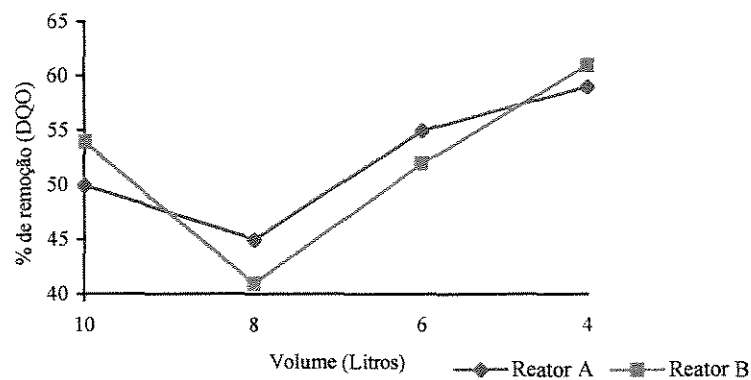


Figura 25– Porcentagem de remoção de DQO (mgO₂/L) nos reatores após a redução do volume de resíduo industrial aplicado.

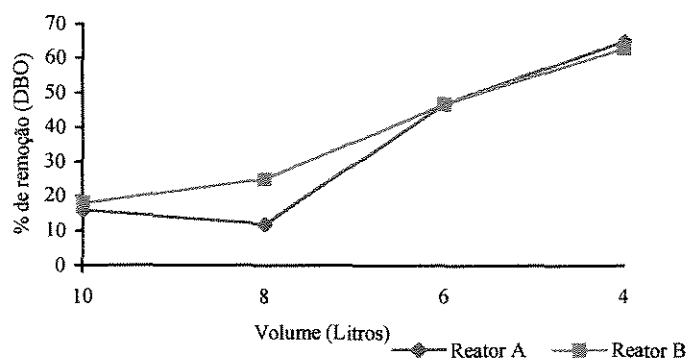


Figura 26– Porcentagem de remoção de DBO (mgO₂/L) nos reatores após a redução do volume de resíduo industrial aplicado.

Com base nos dados apresentados nas Tabelas 17 e 18 e Figuras 25 e 26, verificou-se que a redução do volume do despejo cítrico de 10 L para 4 L, ou seja, a redução da relação F/M de 10:2 para 4:2, aumentou a eficiência de remoção de DBO em cerca de 100% se comparado com os dados dos experimentos anteriores (Tabela 16). Com relação a DQO e a série de sólidos, a eficiência dos reatores foi aumentada em cerca de 100% e 5% respectivamente comparando com os resultados anteriores.

Neste caso, os resultados mostraram a necessidade também na mudança da relação TR/TE (tempo de reação/tempo de enchimento) para um melhor desempenho do sistema, adotando a relação (F/M) de melhor resultado obtido no experimento anterior, isto é um volume total de 4 L de despejo cítrico para cada reator. Esta modificação baseou-se no aumento de 2 horas a cada ciclo de reação, seguido de análises para a determinação de sua eficiência. Os valores observados após estas modificações podem ser observados na Tabela 19 em relação a série de sólidos e Tabela 20 em relação à DQB e DBO, ilustrados pelas Figuras 27 e 28.

Com o aumento da relação F/M numa proporção de 4:2 (efluente cítrico: lodo) e o aumento do tempo total do ciclo de reação nos reatores de 8 para 14 h, obtivemos valores aceitáveis para a remoção da matéria orgânica do despejo cítrico. O percentual de remoção de DQO ficou em torno de 80% e de DBO 75%, com remoção de sólidos de 91%. DORNELAS (1995) mencionou, que o efeito do tempo de reação/ tempo de enchimento na remoção da matéria orgânica torna-se mais importante que a concentração inicial de sólidos suspensos voláteis no reator, indicando que a frequência de retirada de lodo entre os ciclos pode ser diminuída, desde que mantidos os tempos de enchimento e reação.

Os resultados obtidos estão de acordo com os propostos por METCALF & EDDY (1990) para o tratamento de efluentes através de Lodo Ativado por Batelada.

Tabela 19– Porcentagem de remoção de SST, SSF, e SSV nos reatores após o aumento do tempo de detenção hidráulico.

Tempo (h)	Reator A			Reator B		
	Sólidos inicial	Sólidos final	% de remoção	Sólidos inicial	Sólidos final	% de remoção
	SST (mg/L)			SST (mg/L)		
8	1917	475	75	2025	400	80
10	3123	159	95	3567	184	95
12	2795	113	96	2640	122	95
14	1806	150	92	3810	200	95
	SSF (mg/L)			SSF (mg/L)		
8	200	67	66	120	55	54
10	249	14	94	443	12	97
12	255	10	96	365	5	98
14	133	20	85	430	20	95
	SSV (mg/L)			SSV (mg/L)		
8	1717	407	76	1905	345	82
10	2874	145	95	3124	172	94
12	2540	102	96	2275	117	95
14	1673	129	92	3380	180	95

SST= sólidos suspensos totais; SSF= sólidos suspensos fixos; SSV= sólidos suspensos voláteis.

Tabela 20 – Percentagem de remoção de DQO e DBO, nos reatores após o aumento do tempo de detenção hidráulico.

Tempo (h)	Reator A			Reator B		
	inicial	final	% remoção	inicial	final	% remoção
	DQO (mgO ₂ /L)			DQO (mgO ₂ /L)		
8	5310	2385	55	6130	2515	59
10	4520	2285	49	4005	2170	46
12	3890	865	78	3160	1005	68
14	3000	684	79	6250	1160	81
	DBO (mgO ₂ /L)			DBO (mgO ₂ /L)		
8	2820	2480	12	2850	2130	25
10	2540	2120	16	2630	2160	18
12	2740	560	79	2940	695	76
14	1977	438	78	1954	543	73

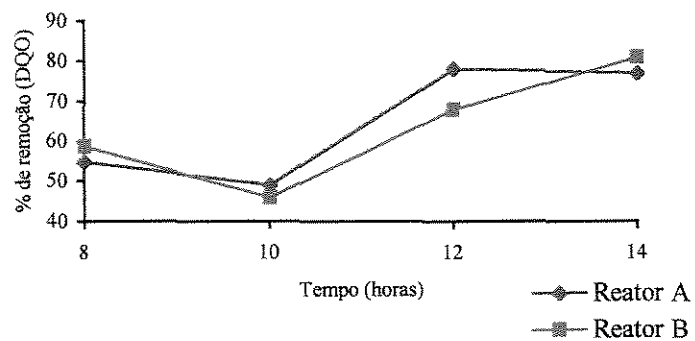


Figura 27- Porcentagem de remoção de DQO (mgO_2/L) nos reatores após o aumento do tempo de detenção hidráulico.

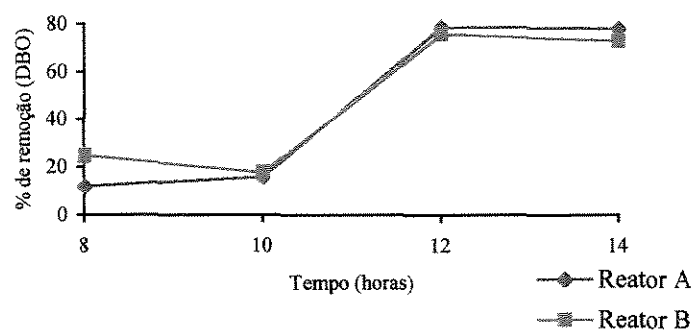


Figura 28- Porcentagem de remoção de DBO (mgO_2/L) nos reatores após o aumento do tempo de detenção hidráulico.

5. 11. Análise da Biodegradação do Efluente Cítrico Durante o Período de Reação por Espectrofotometria de Massa.

Para a realização destas análises, as amostras foram submetidas a um pré-tratamento para remoção do material orgânico suspenso e partículas menores, segundo a metodologia descrita no item 4.9.2, sub itens 1 e 2.

Segundo SWALLOW et al. (1988) há a necessidade de se estabelecer um critério para a identificação de contaminantes ambientais por espectrofotometria de massa. A identificação pode ser feita através de vários níveis sendo: 1) pela comparação do espectro com compostos autênticos, 2) pela comparação com uma biblioteca de espectros, 3) pela comparação com outros espectros já publicados, ou 4) pela interpolação do espectro. Em ordem de grandeza esta escala varia de 1a 4.

Neste trabalho, os principais componentes químicos identificados através de espectrofotometria de massa nas amostras do despejo industrial, e as geradas durante sua transformação pelos microrganismos durante o tratamento do efluente pelo sistema LAB (Figuras 29 a 34), foram comparados com aqueles dos espectros constantes da biblioteca do próprio equipamento. Os resultados referentes à identificação desses compostos podem ser observados nas Tabelas (21 a 26).

Devido ao grande número de substâncias químicas presentes no efluente, foram selecionados compostos conforme sua abundância, para acompanhamento de sua permanência durante o período de tratamento. Os resultados indicam redução dos principais compostos químicos originais à compostos secundários de menor peso molecular pelos microrganismos durante o período de reação, evidenciando a adaptabilidade microbiológica na degradação química do resíduo (Figuras 29 a 34 e Tabelas 21 a 26).

KIMBALL, (1991) relata que o efluente cítrico possui basicamente quatro tipos de componentes: 1) sólidos suspensos e sedimentáveis (casca, polpa e ceras); 2) compostos orgânicos solúveis (ácidos e açúcares primários); 3) compostos orgânicos (soda cáustica) e 4) compostos orgânicos voláteis (d-limoneno, óleos cítricos). O óleo cítrico é basicamente composto de 90% de d-limoneno e 10% de outros terpenos (KIMBALL 1991), sendo que em laranjas podemos encontrar 111 tipos de compostos voláteis incluindo 5 ácidos, 26 álcoois, 25 aldeídos, 16 esterres, 6 cetonas e 31 hidrocarbonetos; e compostos não-voláteis (1,5%) como ceras, cumarinas, flavonóides, carotenóides, tocoferóis, ácidos graxos e esteróis (SHAW, 1977).

SHAW (1977) mencionou também que os compostos orgânicos voláteis, principalmente o óleo, é uma barreira natural de controle microbiológico e também de insetos para o fruto, sendo a fração d-limoneno tóxico para o ser humano, podendo causar irritação na pele e olhos. Este mesmo autor descreve que a contaminação do efluente industrial a níveis altos de d-limoneno pode causar distúrbios no sistema de tratamento de efluentes.

As análises dos espectrogramas feitas através da visualização dos picos nas Figuras 29 a 34, acompanhada pelas Tabelas 21 a 26 onde é apresentado o tempo de retenção dos picos como também a porcentagem de semelhança da substância química, dada pela comparação das substâncias encontradas com um banco de espectrogramas do equipamento, pode-se notar que os compostos provenientes do óleo essencial como o α - terpineol e limoneno glicol são resistentes à biodegradação bacteriana com uma redução de 19% para o primeiro composto e praticamente estável para o segundo, confirmando sua não degradação, anteriormente mencionada por SWALL (1977). Outros compostos provenientes da fração volátil do óleo como cis-carveol, β - citrionelol, trans-geraniol e β -santalol foram degradados em um período de 9 horas de reação.

O calculo da porcentagem de biodegradação dos compostos químicos pode ser feita através dos resultados apresentados no Anexo I dado pela relação de área do composto correspondente pelo tempo de reação.

Pode-se observar também pelas Tabelas 21 a 26, que compostos com anéis aromáticos ou cíclicos presentes no efluente bruto como fenol, benzeno, 3-metil ciclopentano e ciclohexano foram reduzidos acima de 50% durante o tratamento.

Através dos espectrogramas podemos notar que a biodegradação do efluente bruto ocorre com a redução de compostos químicos de alto peso molecular à compostos de baixo peso molecular após 15 horas de reação.

Análises mais detalhadas de compostos de difícil biodegradação como os provenientes do óleo essencial da laranja, assim como as substâncias que possuem anéis como fenóis e hexano, dentre outros, devem ser monitoradas com a utilização de padrões para uma quantificação mais precisa da sua biodegradação.

A metodologia empregada para estas análises assim como os volumes utilizados mostraram-se reprodutivos em suas repetições, sendo assim adequadas para utilização neste tipo de efluente.

Os resultados originais das análises referentes a tempo de retenção, largura do pico, área do pico, e tempos podem ser observados no Anexo I.

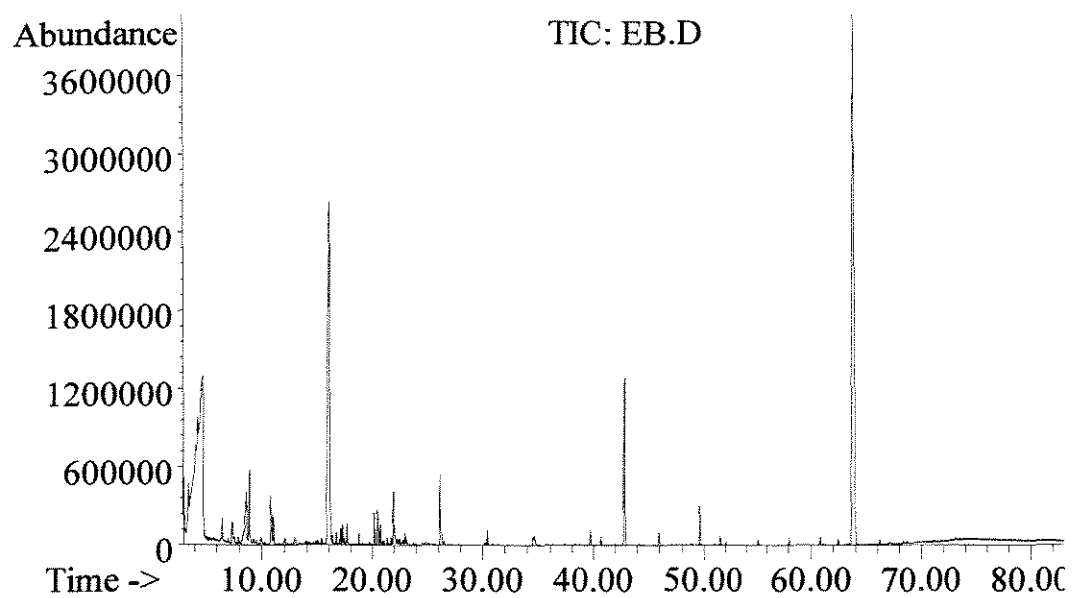


Figura 29 - Espectrograma do efluente cítrico bruto analisado através de detetor de massa.
(abundance= abundância; Time= tempo (min.); TIC: EB.D= amostra efluente bruto)

Tabela 21 - Compostos químicos no efluente cítrico bruto, identificados através de espectrofotômetro de massa.

Tempo de retenção	Composto químico	% de semelhança
4.29	ácido butanóico	83
4.77	ácido butanóico	91
6.45	3-metil ciclopentano	76
7.35	fenol	83
8.69	tetrahidropireno	50
8.96	benzenometanol	95
10.85	metil fenol	50
11.05	2 metoxi fenol	90
12.9	ácido hexanóico hidroxil etil ester	59
16.1	α - terpineol	91
16.66	car 2 em 4 one	83
17.02	cis-carveol	81
17.2	fenol 5 metil	25
17.63	β - citranelol	83
18.72	trans-geraniol	64
20.15	β - santalol	42
20.48	pentilpirrólico	35
20.72	pirrólico ácido carboxílico	59
21.37	limoneno glicol	38
21.72	heptadieno	32
22.0	limoneno glicol	59
22.98	6-nitro cresol	50
26.18	tetradecano	94
30.41	heptadecano	83
34.6	ciclohexano	47
39.72	3-metil pirrolidinil etanona	42
40.71	metil propil	42
42.90	ácido benzeno dicarboxílico	83
45.95	ácido benzeno dibutil ester	64
49.63	ácido benzeno dipentil ester	64
51.49	2-butanona 4 fenil	78
58.04	hexacosano	83
60.86	octanotrimetil	64
63.97	ácido benzeno 2 etil	91

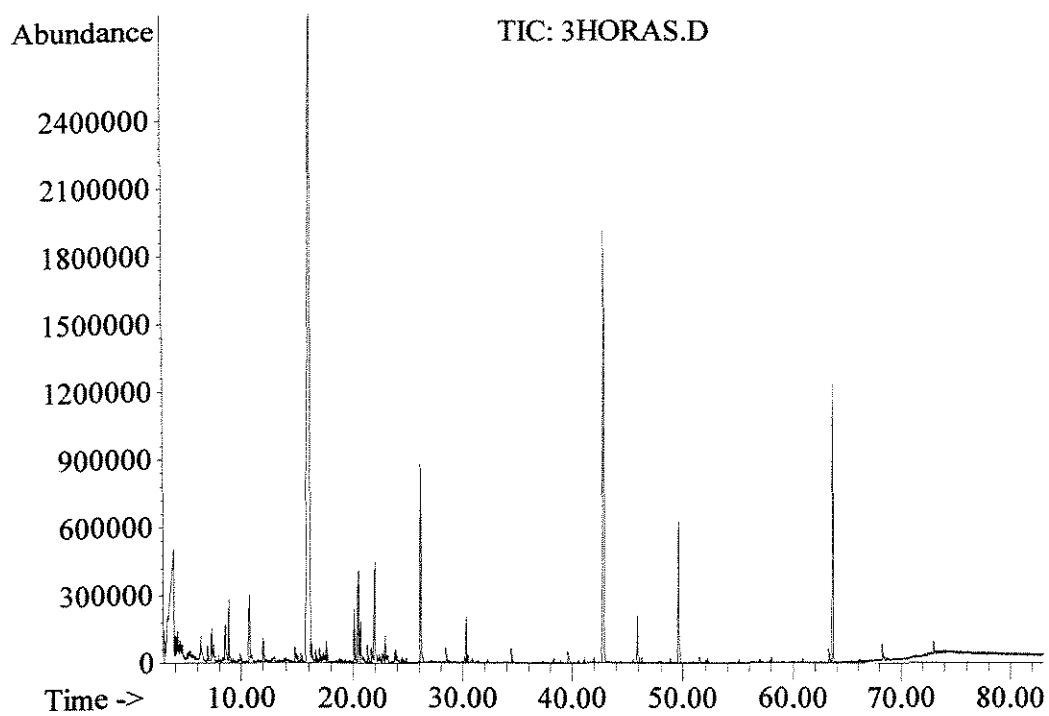


Figura 30 - Espectrograma do efluente cítrico analisado através de detetor de massa após o período de 3 horas de reação. (abundance= abundância; Time= tempo (min.); TIC: 3 horas = amostra/tempo de reação):

Tabela 22 - Compostos químicos no efluente cítrico bruto, identificados em espectrofotômetro de massa após o período de reação de 3 horas.

Tempo de retenção	Composto Químico	% de semelhança
3.90	ácido butanóico	91
4.28	hexano	43
6.36	3-metil ciclopentano	72
7.35	fenol	91
7.54	3 metil etileno benzeno	76
8.62	tetrahidro pireno	72
8.93	benzeno metanol	96
10.82	4 metil fenol	91
12.07	linalol	80
14.84	3 etil fenol	80
16.13	α - metanol cicloexano	91
20.16	β - santalol	52
20.53	cicloexano	56
21.37	limoneno glicol	53
21.73	metil cicloexano	53
22.01	limoneno glicol	59
22.99	6-nitro cresol	53
26.20	tetradecano	91
30.42	pentadecano	91
34.46	hexa decano	90
42.95	ác. 2- metil benzeno dicarboxílico	83
45.96	ác. butil-metil benzeno dicarboxílico	83
49.66	ftalato	83
63.73	ác. 2- etil benzeno dicarboxílico	91
68.32	ác. decil-oct benzeno dicarboxílico	50

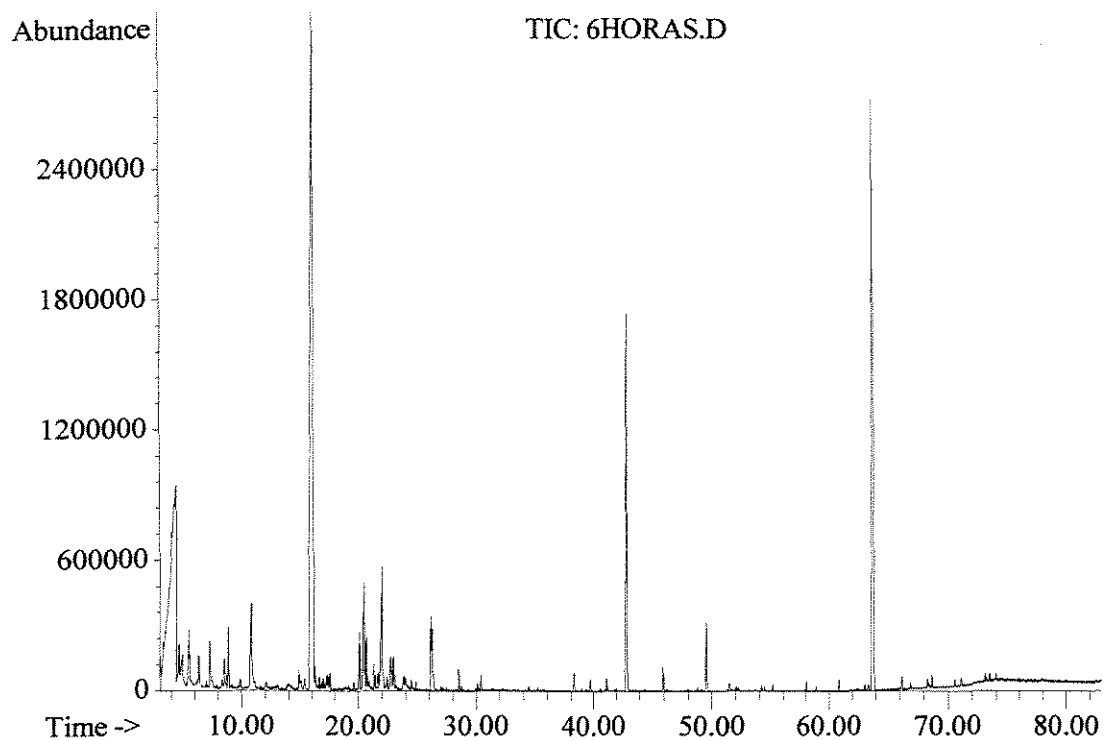


Figura 31- Espectrograma do efluente cítrico analisado através de detetor de massa após o período de 6 horas de reação. (abundance= abundância; Time= tempo (min.); TIC: 6 horas = amostra/tempo de reação).

Tabela 23 - Compostos químicos no efluente cítrico bruto, identificados em espectrofotômetro de massa após o período de reação de 6 horas.

Tempo de retenção	Composto químico	% de semelhança
4.44	ácido butanóico	90
4.73	ác. pentanóico	72
4.99	ác. 2- metil butanóico	78
5.57	ác. hexanóico	47
6.43	3 metil ciclopentano	59
7.36	fenol	91
8.61	tetrahidropireno	52
8.98	benzeno metanol	94
10.84	4- metil fenol	91
14.88	3- etil fenol	90
15.35	3- metil butanol	43
16.17	α - terpineol	91
17.47	acetato dihidrocarbanil	53
20.18	β - santalol	50
20.56	metilelo cicloexano	43
20.76	dimetil benzoamina	50
21.39	limoneno glicol	59
21.74	hexadienal	43
26.18	tetradecano	95
30.40	pentadecano	86
42.93	ác. 2- metil benzeno dicarboxílico	83
45.95	ác. butil-metil benzeno dicarboxílico	64
49.62	ftalato	83
63.83	ác. 2- etil benzeno dicarboxílico	91
66.17	nonadecano	59
68.68	heptadecano	53

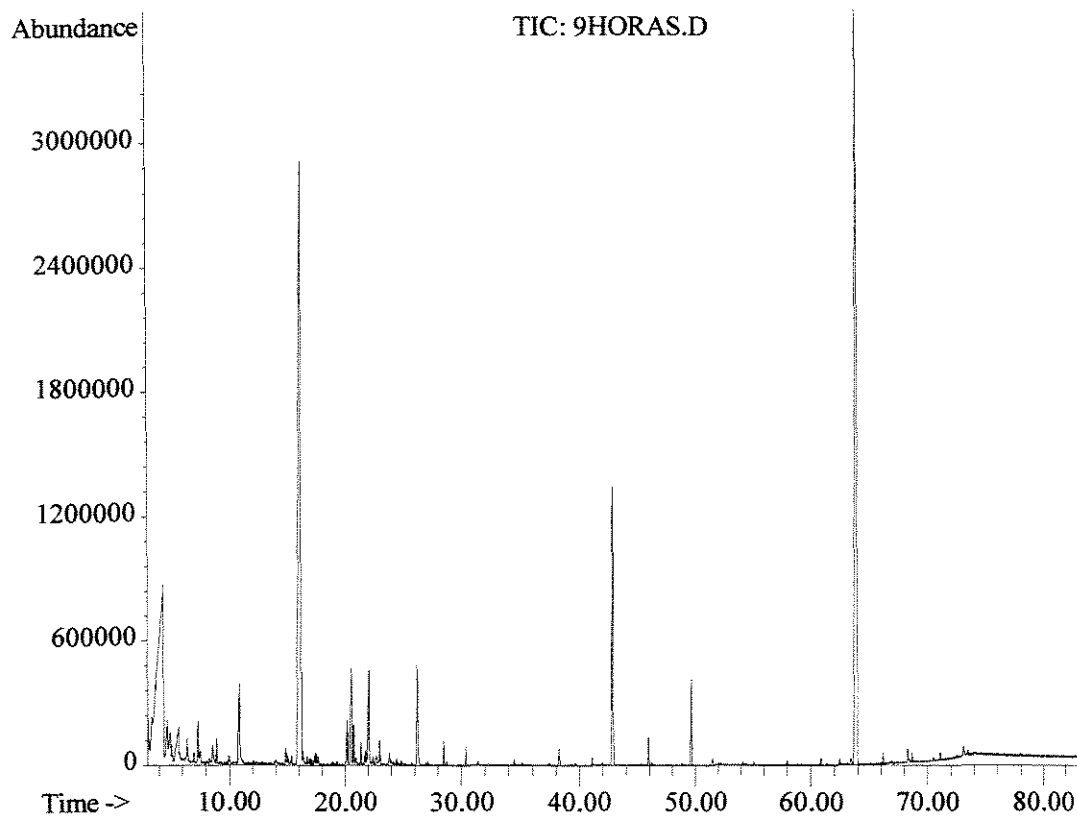


Figura 32 - Espectrograma do efluente cítrico analisado através de detetor de massa após o período de 9 horas de reação. (abundance= abundância; Time= tempo (min.); TIC: 9 horas = amostra/tempo de reação).

Tabela 24 - Compostos químicos no efluente cítrico bruto, identificados em espectrofotômetro de massa obtidos após o período de reação de 9 horas.

Tempo de retenção	Composto químico	% de semelhança
4.36	ácido butanóico	91
4.69	uréia	42
4.96	ác. 2- metil hexanóico	83
5.67	ác. pentanóico	83
6.41	3- metil ciclopentano	64
7.35	fenol	90
8.93	benzeno metanol	62
10.80	4- metil fenol	91
14.82	3- etil fenol	90
16.13	α - terpineol	91
17.45	acetato dihidrocarbanil	64
20.16	acetaldeido ciclohexano	43
20.54	2,4 dimetil pentadieno	46
20.74	ác. 2,5 dimetil carboxílico pirrolico	59
21.37	limoneno glicol	53
22.02	limoneno glicol	59
22.98	6 nitro cresol	53
26.18	tetradecano	93
30.40	pentadecano	91
42.90	ác. butil-octil benzeno dicarboxílico	64
45.95	ác. 2 metilbutil benzeno dicarboxílico	74
49.64	ftalato	83
63.91	ác. 2- etil benzeno dicarboxílico	91

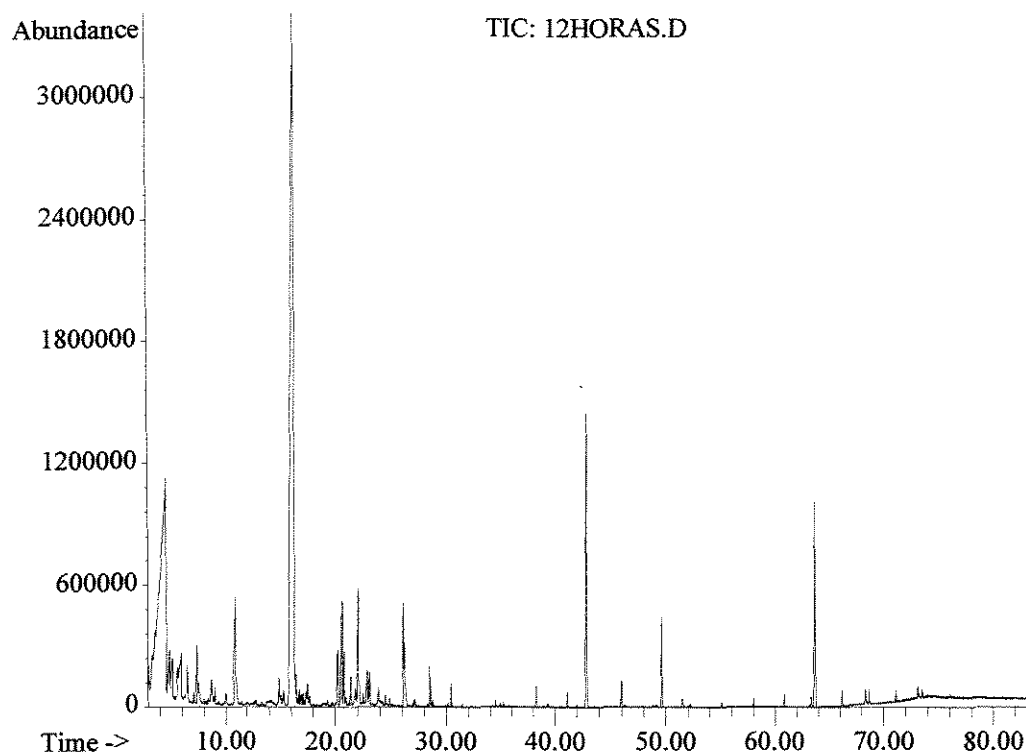


Figura 33 - Espectrograma do efluente cítrico analisado através de detetor de massa após o período de 12 horas de reação. (abundance= abundância; Time= tempo (min.); TIC: 12 horas = amostra/tempo de reação).

Tabela 25 - Compostos químicos no efluente cítrico bruto, identificados em espectrofotômetro de massa após o período de reação de 12 horas.

Tempo de retenção	Composto químico	% de semelhança
4.59	ácido butanóico	91
4.92	uréia	42
5.20	ác. 2- metil hexanóico	64
5.81	ác. pentanóico	83
6.47	3 metil ciclopentano	59
7.34	fenol	91
8.63	3-metil 2-hidroxil ciclopentano	76
9.97	2-metil fenol	64
10.88	4-metil fenol	91
14.95	3-etil fenol	72
15..35	4-metil 1metiletil ciclohexano	64
16.23	α - terpineol	91
17.49	acetato dihidrocarbanil	53
20.59	1-metil imidazólio	47
21.41	limoneno glicol	64
21.77	1-metil ciclohexano	43
22.07	limoneno glicol	50
26.19	tetradecano	94
26.30	uroterpineol	64
30.41	pentadecano	91
42.90	ác. 2- metil benzeno dicarboxílico	83
45..95	ác. butil 2- etil benzeno dicarboxílico	64
49.64	ftalato	78
63.71	ác. 2-etil benzeno dicarboxílico	91
66.17	decosano	80
71.11	3-metil hexacosano	47

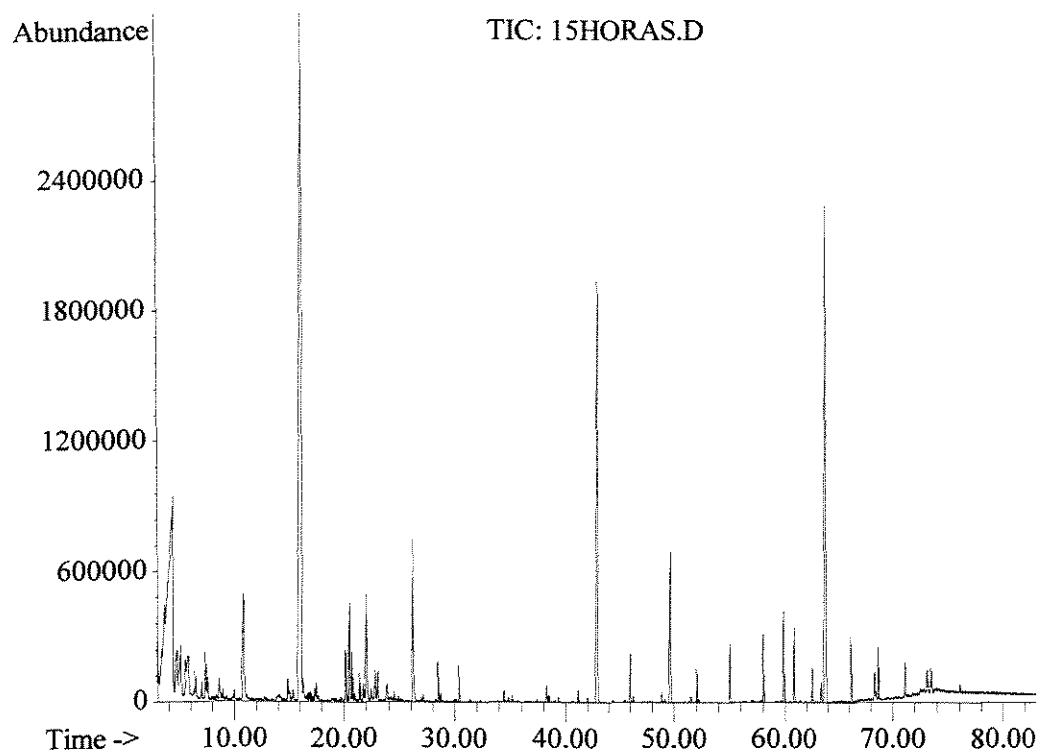


Figura 34 - Espectrograma do efluente cítrico analisado através de detetor de massa após o período de 15 horas de reação. (abundance= abundância; Time= tempo (min.); TIC: 15 horas = amostra/tempo de reação).

Tabela 26 - Compostos químicos no efluente cítrico bruto, identificados em espectrofotômetro de massa após o período de reação de 15 horas.

Tempo de retenção	Composto químico	% de semelhança
4.40	ácido butanóico	91
4.78	ác. 3-metil butanóico	74
5.10	ác. 2- metil hexanóico	64
5.82	ác. pentanóico	83
6.43	3 metil ciclopentano	64
7.36	fenol	91
7.56	1-metil etileno benzeno	70
8.60	2-hidroxil 3-metil ciclopentano	81
10.83	4-metil fenol	91
14.86	3-etil fenol	90
16.16	α - terpineol	91
17.46	trimetil heptanóico	53
20.54	2-hidroxil 2-propil ciclohexano	50
20.76	ác. 2,5-dimetil carboxílico pirrolico	53
21.39	limoneno glicol	42
22.03	limoneno glicol	53
23.00	1-fluoro isoticianato benzeno	58
26.20	tetradecano	94
30.41	pentadecano	94
38.28	trimetildecano	47
42.95	ác dicarboxílico dibutil ester	72
45.96	ác. butil 8-metil benzeno dicarboxílico	83
52.05	heicosano	91
55.12	docosano	95
58.06	tricosano	93
60.88	tetracosano	96
62.50	3,5,2 hidroxifenil	90
63.81	ác. 2-etil benzeno dicarboxílico	91
68.70	tricosano	87

5. 12. Isolamento e Quantificação dos Microrganismos Presentes nos Reatores Durante o Período de Tratamento.

Os microrganismos presentes no sistema durante o período de tratamento foram isolados através de técnica de plaqueamento por diluição em série. A coleta das amostras foi efetuada após o período de enchimento, a intervalos de 3 horas, até o final do período de reação (15 h). Foi adotado este tempo para se efetuar coletas de amostras em tempos iguais.

Verificou-se uma variação do número de colônias e tipos de bactérias presentes em cada fase do processo de biodegradação do despejo cítrico. Os resultados da Tabela 27 mostram um comportamento semelhante em relação ao crescimento dos microrganismos no reatores A e B, caracterizado por uma curta fase logarítmica, que se deu até as primeiras 6 horas de reação, seguida de uma curta fase estacionária. Após 12 horas pode-se observar que a cultura entrou em fase de declínio .

A curva típica de crescimento/decaimento dos microrganismos durante o período de reação é ilustrada na Figura 35, e segue o esquema proposto por METCALF & EDDY (1990) para curva de crescimento bacteriano .

Tabela 27 - Unidades formadoras de colônias (UFC) isoladas dos reatores após o período de enchimento e durante o período de reação de 15 horas.

Período (h)	Reator A	Reator B
	UFC x 10 ⁶ / mL	UFC x 10 ⁶ / mL
3	15	17
6	32	31
9	27	24
12	14	12
15	6	4

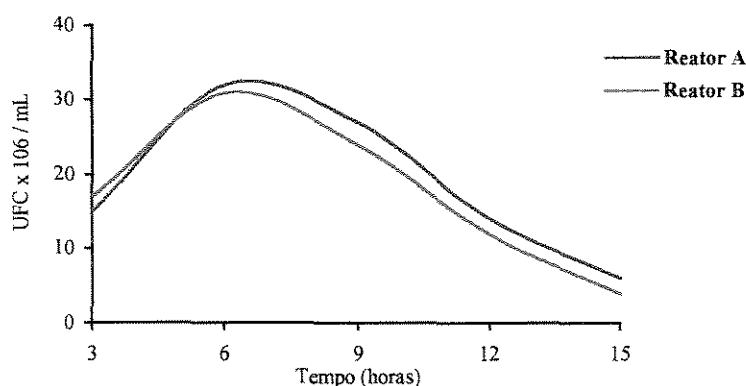


Figura 35 - Gráfico representativo do número de colônias (UFC x 10⁶/mL) isoladas dos reatores após o período de enchimento e durante o período de reação de 15 horas.

Os diferentes tipos colônias de microrganismos presentes dos reatores isolados durante o tratamento, foram avaliados quanto a sua morfologia, cor, textura, entre outros. A avaliação permitiu distinguir os principais tipos de microrganismos presentes durante o processo.

Foram isolados 9 tipos de colônias bacterianas e 1 de levedura, as quais foram dadas códigos para identificação junto à Fundação Tropical “André Tosello”. A Tabela 28 apresenta os resultados da identificação dos microrganismos efetuados pela Fundação Tropical “André Tosello” assim como os seus códigos adotados e as características morfológicas dos microrganismos isolados dos reatores. A Tabela 29 mostra a ocorrência, quantidade e o tipo das colônias isolados durante o período de reação.

As Figuras 36 à 45 ilustram os microrganismos encontrados nos reatores durante o período de tratamento do efluente cítrico.

Tabela 28 - Identificação dos microrganismos encontrados nos reatores no tratamento de efluente cítrico.

Código adotado	Características morfológica das colônias	Identificação
LAB-1 Bactéria	Bastonetes Gram negativos, cor: vermelha, esférica, brilhante, com bordas regulares, tamanho de 1,5 mm.	<i>Serratia marcescens</i>
LAB-2 Levedura	Cor: branca opaca, redonda ciliada, com formação de micélio, sem formação de esporos.	<i>Geotrichum klebahnii</i>
LAB-3 Bactéria	Marrom, esférica, rugosa, com bordas irregulares	NI
LAB-4 Bactéria	Bastonetes Gram: positivos, cor: creme, circular rugosa opaca, tamanho 1,5 mm.	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
LAB-5 Bactéria	Bastonete Gram: positivo, cor: amarela, esférica, brilhante, transparente, com bordas regulares	NI
LAB-6 Bactéria	Bastonete Gram: positivo, cor: amarela, esférica, brilhante, transparente, com bordas irregulares	NI
LAB-7 Bactéria	Bastonete Gram: positivo, cor: branca, esférica, brilhante, com bordas regulares	NI
LAB-8a Bactéria	Bastonete Gram: positivo, cor: creme claro, circular uniforme, com bordas regulares, tamanho 3,0 mm.	<i>Achromobacter xylosoxidans</i> subsp. <i>denitrificans</i>
LAB-8b Levedura	Cor: branca, redonda lisa brilhante regular.	<i>Candida tropicalis</i>
LAB-9 Bactéria	Branca, esférica, transparente, com bordas irregulares	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
LAB-10 Bactéria	Bastonete Gram: positivo, cor: creme, circular uniforme, com bordas regulares, tamanho 1,0 mm.	<i>Clavibacter michiganensis</i>

NI = Não identificada, microrganismos com características irregulares.

Tabela 29 - Quantidade e tipos de colônias isoladas durante o período de reação.

Período (h)	Reator A		Reator B	
	Quantidade (UFC x 10 ⁶ / mL)	Código	Quantidade (UFC x 10 ⁶ / mL)	Código
3	2	LAB-01	3	LAB-01
	4	LAB-02	6	LAB-02
	3	LAB-03	9	LAB-03
	1	LAB-04	2	LAB-04
	6	LAB-08	12	LAB-08
	30	LAB-07	60	LAB-07
	104	LAB-09	78	LAB-09
6	4	LAB-03	3	LAB-03
	2	LAB-04	3	LAB-04
	6	LAB-05	9	LAB-05
	6	LAB-08	9	LAB-8
	2	LAB-06	4	LAB-06
	12	LAB-10	26	LAB-10
	90	LAB-07	110	LAB-07
	198	LAB-09	146	LAB-09
9	3	LAB-04	3	LAB-04
	5	LAB-05	1	LAB-03
	1	LAB-06	1	LAB-06
	9	LAB-10	2	LAB-05
	99	LAB-07	5	LAB-08
	156	LAB-09	10	LAB-10
			46	LAB-07
			172	LAB-09
12	13	LAB-06	2	LAB-10
	17	LAB-08	3	LAB-06
	26	LAB-07	5	LAB-05
	84	LAB-09	1	LAB-04
			4	LAB-08
			25	LAB-07
			80	LAB-09
15	1	LAB-07	1	LAB-07
	2	LAB-06	1	LAB-06
	3	LAB-09	2	LAB-09

UFC = Unidades formadoras de colônias

Através dos resultados apresentados na Tabela 29 pode-se notar que o número e tipos de colônias bacterianas variaram conforme o tempo de reação, ocorrendo uma sucessão de microrganismos durante a biodegradação do efluente cítrico.

As bactérias identificadas como *Pseudomonas stutzeri* (LAB-9) e LAB-7 (não identificada), estavam presentes durante todo o processo e em grande quantidade, principalmente nos períodos entre 6 a 9 horas, indicando serem estas as principais responsáveis pela biodegradação do efluente (Tabela 29). No caso da *Pseudomonas stutzeri*, esta é uma bactéria comumente encontrada no solo, e também pode ser encontrada em materiais oriundo de plantas e água. Existem vários registros de isolamento desta bactéria em vários materiais de origem clínica, entretanto sua patogenicidade ainda não foi comprovada.

Com relação aos microrganismos identificados como *Serratia marcescens* (LAB-1), *Geotrichum klebahnii* (LAB-2) e LAB-3 (não identificada) foi notada presença apenas na fase inicial do período de reação (3 horas), estando presente somente a LAB-3 após 6 horas em quantidades insignificantes.

A *Serratia marcescens* é um organismo que possui metabolismo respiratório fermentativo e é anaeróbia facultativa. Esta bactéria não produz H_2S , não hidroliza a uréia e não utiliza o malonato como fonte de carbono. Esta espécie pode ser encontrada no solo e na água (principalmente em águas não poluídas), plantas, insetos e também como organismos oportunistas em infecções hospitalares. No solo, esta espécie participa no ciclo biológico de metais, mineralizando ferro inorgânico e dissolvendo ouro e cobre.

A levedura identificada como *Geotrichum klebahnii* é fermentativa, reproduzem exclusivamente por fissão, sem a formação de esporos sexuais. Esta espécie pode ser encontrada em água, solo, plantas e lodo.

As demais bactérias presentes nos reatores ocorreram em quantidades reduzidas durante a fase de reação, o que indica que a participação destes organismos no tratamento do efluente

cítrico é específica para subprodutos gerados durante o processo de biodegradação ou produtos específicos do próprio efluente industrial.

No caso da linhagem identificada como *Achromobacter xylosoxidans* subsp. *denitrificans* trata-se de um organismo descoberto recentemente, e possui a capacidade de assimilação da glicose como fonte de carbono. É comumente encontrado em solo, águas, ambientes hospitalares e material humano clínico. Sua capacidade de infecção ainda não foi descrita.

A *Candida tropicalis* é uma levedura fermentativa geralmente responsáveis pela assimilação de nitrato e nitrito. Esta espécie está geralmente associada à infecções de pele e de unhas em humanos, mas pode também ser encontrada em solo, água e em processos fermentativos.

A espécie conhecida como *Clavibacter michiganensis* é patógena de plantas, e seus principais habitats são suas respectivas plantas hospedeiras. Esta espécie também pode ser encontrada em restos de plantas, os quais podem servir como fonte de inóculo, mas sua sobrevivência em solos sem restos do hospedeiro é pobre.

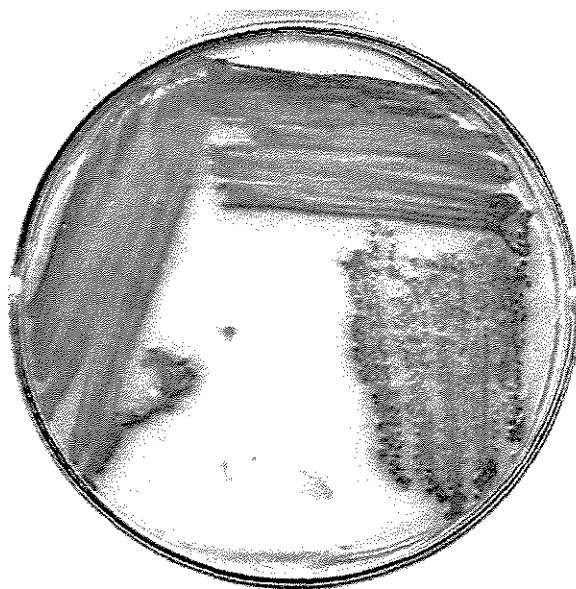


Figura 36 - *Serratia marcescens* (LAB-1) bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente)

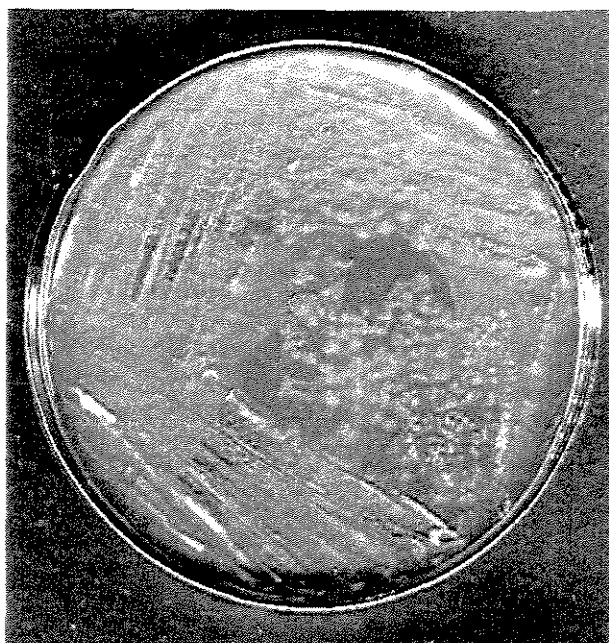


Figura 37 - *Geotrichum klebahnii* (LAB- 2) Levedura isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente)

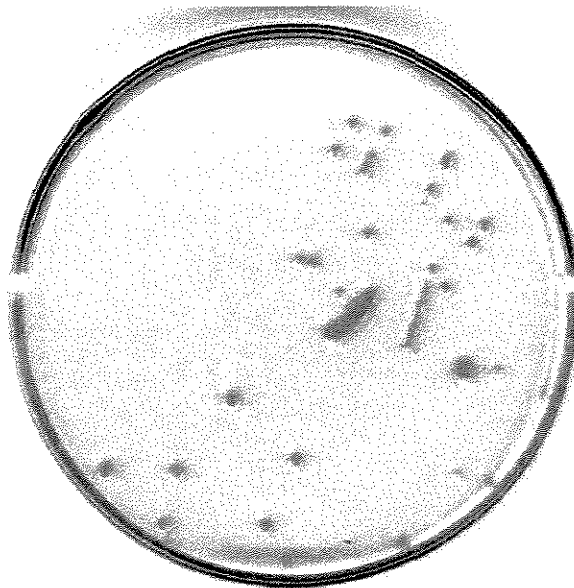


Figura 38 - (LAB-3) Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente)



Figura 39 - *Pseudomonas stutzeri* (LAB-4) Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente)

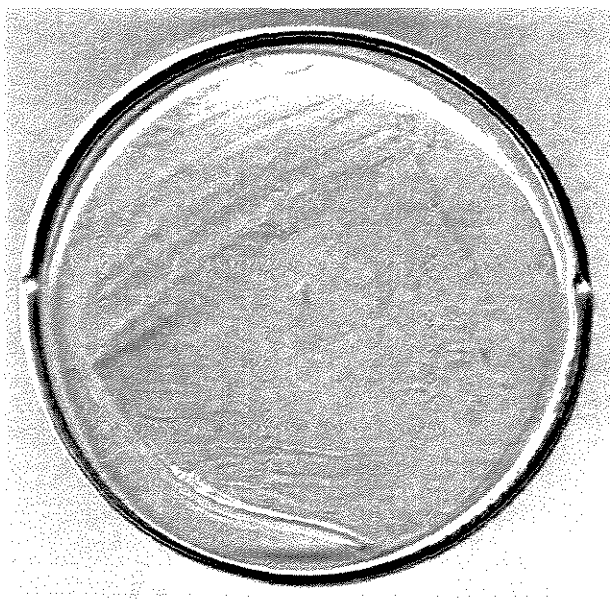


Figura 40 - (LAB-5) Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente)

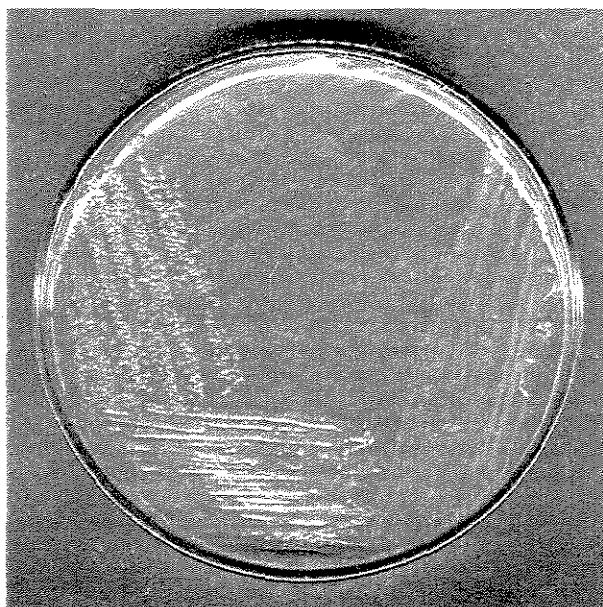


Figura 41 - (LAB-6) Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente)

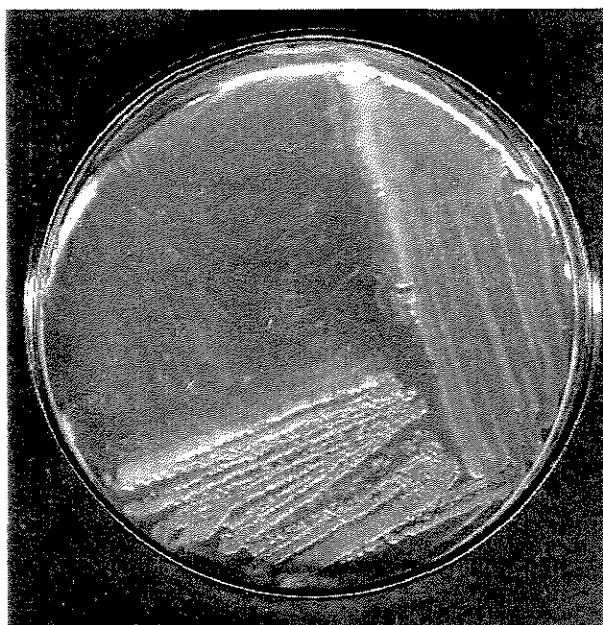


Figura 42 - (LAB-7) Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente)

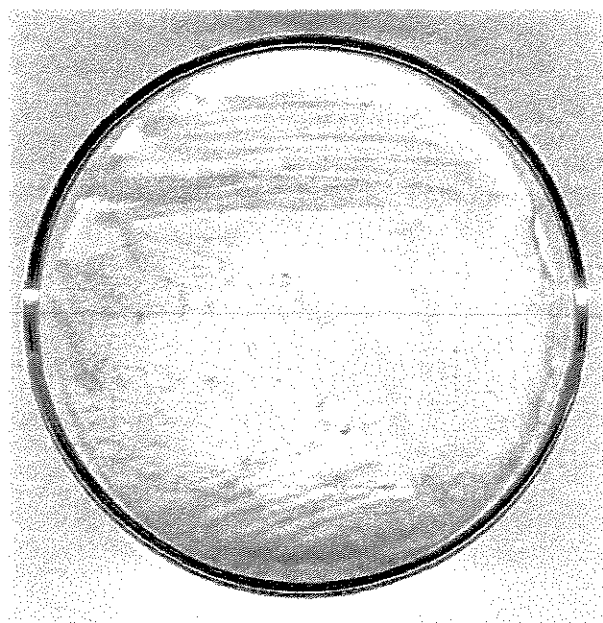


Figura 43 - (LAB-8a) *Achromobacter xylosoxidans* subsp. *denitrificans* Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente)

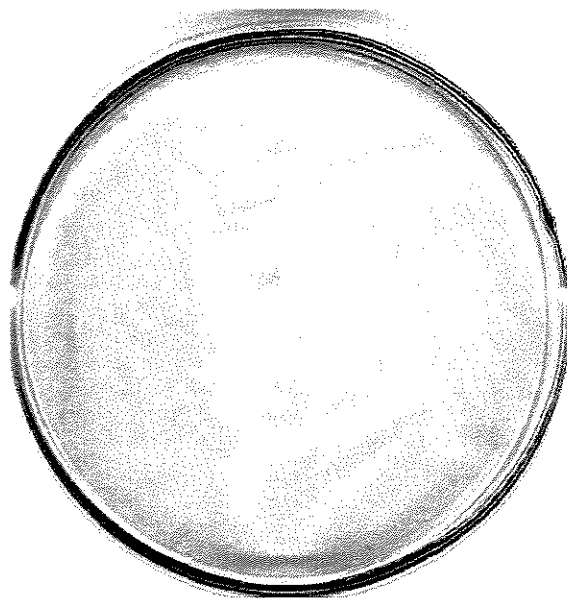


Figura 44 - (LAB-9) *Pseudomonas stutzeri* Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente)

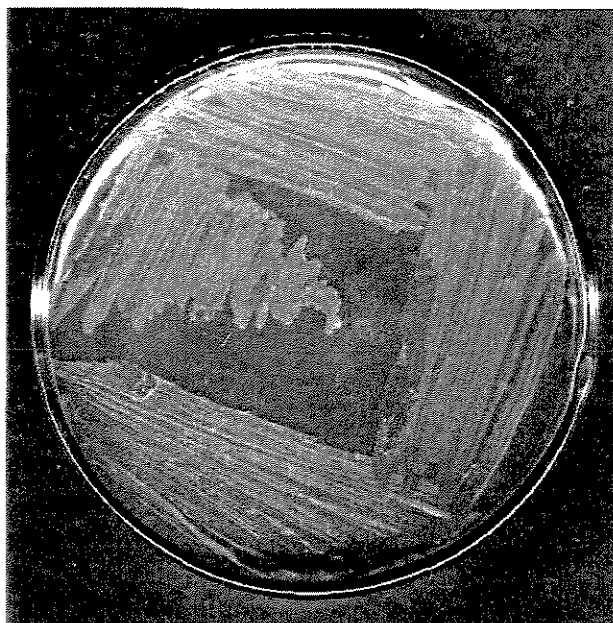


Figura 45 - (LAB-10) *Clavibacter michiganensis* Bactéria isolada do lodo no tratamento de um efluente cítrico em sistema de Lodo Ativado por Batelada. (Meio - agar nutriente)

5. 13. Dosagem de Proteínas, Recuperação de Enzimas e Teste de Atividade Enzimática

Para a dosagem de proteínas nas amostras do efluente bruto e tratado (descarte), foi necessário submeter as amostras a remoção de sólidos por filtração, e posteriormente cerca de 2,0 L destes foram concentrados através de ultrafiltração tangencial. Os resultados foram 1,47 e 61,35mg de proteína/mL, respectivamente.

As amostras de proteínas quando submetidas a cromatografia líquida apresentaram 3 picos de pesos moleculares diferentes sendo: 1) $\approx 232,000$; 2) $\approx 47,000$; e 3) $\approx 13,700$ Daltons, determinados através da utilização de padrões de pesos moleculares conhecidos, indicando a presença de 3 tipos de proteínas diferentes no efluente.

A presença de proteínas pode ou não significar que há enzimas ou se as mesmas estão ativas. Testes de atividade enzimática foram realizados com intuito de se verificar esta atividade. Determinou-se a atividade de enzimas pectinolítica e proteolítica no material, devido ao potencial econômico destas. Testes preliminares efetuados para averiguar a presença de atividade pectinolítica no efluente mostraram-se positivos devido ao fato do lodo apresentar microrganismos capazes de crescer sobre pectina cítrica como única fonte de carbono. Os resultados mostraram uma atividade pectinolítica de 0,68 mg/mL com uma atividade específica de 0,01U/mL (atividade calculada através do teor de proteínas do efluente industrial). Quanto à atividade de enzimas proteolítica, esta foi de 0,50 mg/mL com uma atividade específica de 0,08 U/mL.

A baixa atividade enzimática presente no efluente tratado pode ser resultado pela ação da hidrólise enzimática das proteases presentes no meio. Inibidores de proteases como NEM (n-etilmaleimida), PMSF (fenilmetanosufonil fluoreto) e NBS (n-bromosuccinamida) podem ser utilizados para inativação destas e recuperação de outras enzimas presentes no meio como a pectinase, embora seja desaconselhável a utilização destes inibidores caso estas enzimas sejam utilizadas para fins alimentícios. Outros inibidores como íons ferro na forma Fe^{+2} e Fe^{+3} em

concentrações de aproximadamente 1mM, e cloreto de sódio em concentrações de 2,25 M (13%) podem ser utilizados com esta finalidade (WOODS & KINSELLA 1990 a,b).

A baixa atividade das enzimas pode também estar correlacionada com a presença de inibidores de sítios ativos provenientes do processo, ou liberados pelas células microbianas no meio por um mecanismo de proteção das mesmas, os quais podem ser reversíveis ou irreversíveis.

Analisando os resultados pode-se calcular o potencial econômico de recuperação de enzimas do tratamento de efluentes. No caso deste estudo, poder-se-ia recuperar cerca de 6,8 g de enzimas pectinolíticas e cerca de 5,0 g de enzimas proteolíticas, quando utilizada a capacidade máxima dos reatores (10,0 L). Extrapolando estes resultados para estações de tratamentos industriais estes valores podem ser consideravelmente maiores.

Estudos de otimização de recuperação de enzimas pectinolíticas do efluente tratado, ou mesmo outros tipos de enzimas, podem ser de grande interesse para a indústria cítrica no caso da recuperação de pectinases para o tratamento de “Pulp-wash”, ou para a utilização de enzimas específicas para outros fins.

A recuperação industrial destas enzimas pode ser feita através de vários métodos, dentre eles: 1) concentração do efluente tratado através de ultra-centrifugação e posterior recuperação das enzimas por exclusão de peso molecular; 2) concentração e precipitação das enzimas do efluente tratado por sulfato de amônio com posterior recuperação das enzimas por centrifugação, dessalinização e exclusão de peso molecular; 3) concentração, inativação das proteases e venda do material concentrado. A técnica empregada para a recuperação das enzimas está intimamente ligada ao custo de implantação do projeto, tendo em vista que quanto mais puro o produto maior será o seu custo.

5. 14. Efeito do Período de Repouso nos Reatores para Nova Recarga

Testes efetuados para se estudar o efeito do período de repouso nos reatores para uma nova recarga em períodos variando de 2 a 72 horas, mostraram que em relação à série de sólidos (SST, SSF, e SSV) não apresentaram redução significativa em sua remoção com uma variação de apenas 10% se comparada com a remoção inicial. (Tabela 30).

Pode-se observar também que após o período de 12 horas de repouso ocorre um declínio acentuado na eficiência de remoção dos sólidos atingindo patamares em torno de 60% de remoção no reator A e posterior recuperação (Tabela 30). As Figuras 46 a 48 ilustram estes resultados.

Com relação a DQO, pode-se observar através da Tabela 32, que longos períodos de repouso ocasionam um decaimento significativo na porcentagem de remoção. Foi observado que após 72 horas de repouso a remoção de DQO ficou em apenas 13% para o reator A e de 19% para o reator B. Períodos de repouso acima de 4 horas para uma nova recarga, mostraram ser prejudiciais para este tipo de tratamento. Os resultados destas análises podem ser melhor visualizados através da Figura 49.

Análises de DBO não puderam ser efetuadas durante o período do experimento devido à falta de disponibilidade do laboratório, pelo excesso de análises efetuadas no período. Com o intuito de minimizar a falta destas análises, foram feitos plaqueamentos das amostras provenientes dos reatores durante o período de repouso, através de diluição em série e contagem de microrganismos. Os resultados mostraram que o número de colônias microbianas foi decrescente com o aumento do período de repouso. Isso pode indicar uma diminuição na remoção da DBO já que a quantidade de microrganismos viáveis foi diminuindo com o passar do tempo. Os resultados destas análises podem ser observados na Tabela 31 e Figura 50.

Tabela 30 - Efeito do período de repouso na eficiência de remoção de sólidos nos reatores durante o período do experimento.

Período (horas)	Reator A			Reator B		
	Sólidos inicial	Sólidos final	% de remoção	Sólidos inicial	Sólidos final	% de remoção
	SST (mg/L)			SST (mg/L)		
2	3433	150	96	2186	113	95
4	1640	153	91	984	107	89
8	2133	112	95	1172	158	86
12	3450	143	96	920	302	67
24	1540	650	58	4340	298	93
36	3020	414	86	3670	386	89
48	3020	226	92	3950	260	93
72	2380	268	89	3820	292	92
	SSF (mg/L)			SSF (mg/L)		
2	435	24	95	286	15	95
4	126	23	82	156	8	95
8	206	4	98	111	22	80
12	430	14	97	115	24	79
24	133	60	47	660	34	95
36	430	40	91	470	38	92
48	460	20	96	570	25	96
72	380	30	92	500	34	93
	SSV (mg/L)			SSV (mg/L)		
2	2998	126	96	1900	98	95
4	1514	130	91	828	99	88
8	1926	108	94	1061	136	87
12	3020	129	96	805	278	65
24	1406	610	57	3680	264	93
36	2590	374	85	3200	348	89
48	2560	206	92	3380	235	93
72	2000	238	88	3320	258	92

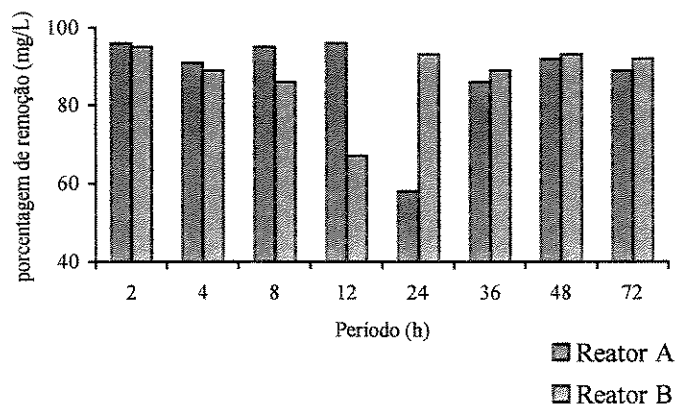


Figura 46- Eficiência de remoção de sólidos suspensos totais (SST) após o período de repouso.

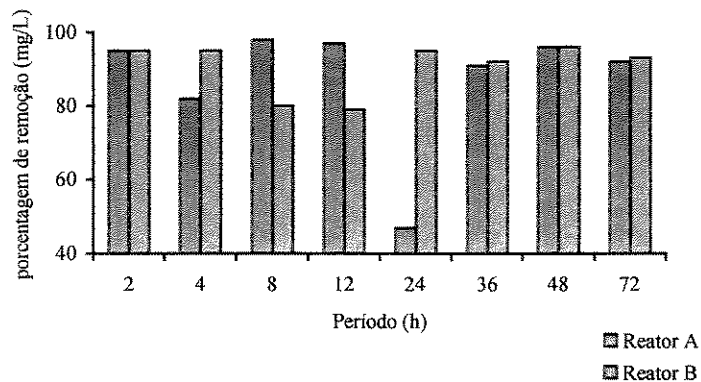


Figura 47- Eficiência de remoção de sólidos suspensos fixos (SSF) após o período de repouso.

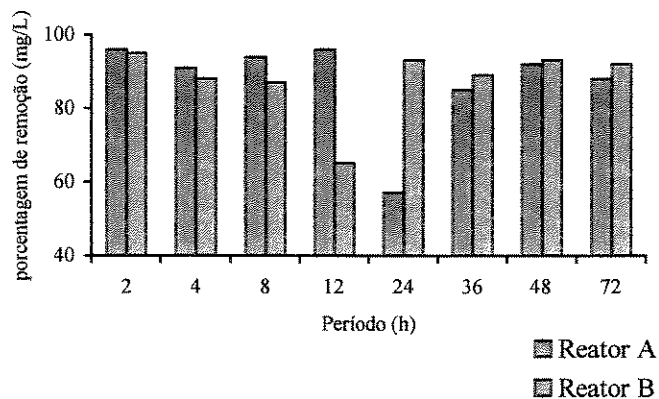


Figura 48 - Eficiência de remoção de sólidos suspensos voláteis (SSV) após o período de repouso.

Tabela 31 - Efeito do período de repouso na eficiência de remoção de DQO nos.

Período (horas)	Reator A			Reator B		
	inicial	final	% remoção	inicial	final	% remoção
	DQO (mgO ₂ /L)			DQO (mgO ₂ /L)		
2	7626	2237	70	7553	2218	71
4	5564	2335	58	6342	3210	49
8	7510	2432	67	5642	2412	57
12	7568	2646	65	5681	2665	53
24	3288	2821	14	5272	2860	46
36	4105	2860	30	5233	2510	52
48	3860	2530	30	4260	2300	46
72	3280	2860	13	3250	2620	19

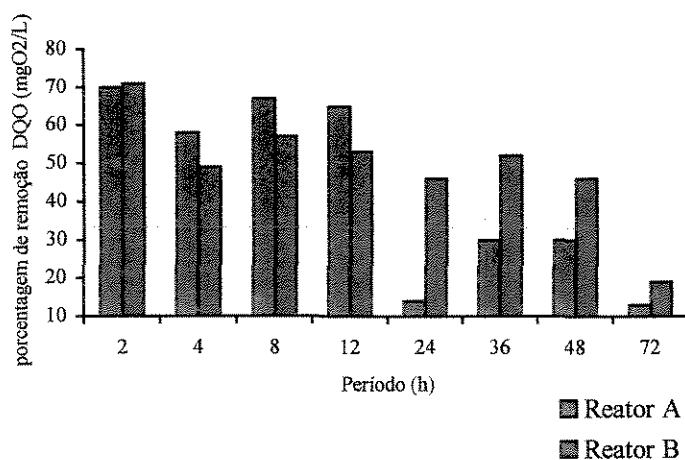


Figura 49 - Efeito do período de repouso na eficiência de remoção de DQO nos.

Tabela 32 - Efeito do período de repouso nos reatores em relação ao número de microrganismos.

Período (h)	Reator A	Reator B
	UFC x 10 ⁶ / mL	UFC x 10 ⁶ / mL
2	38	34
4	27	31
8	22	24
12	18	16
24	14	13
36	10	9
48	6	7
72	4	5

UFC = Unidades formadoras de colônias

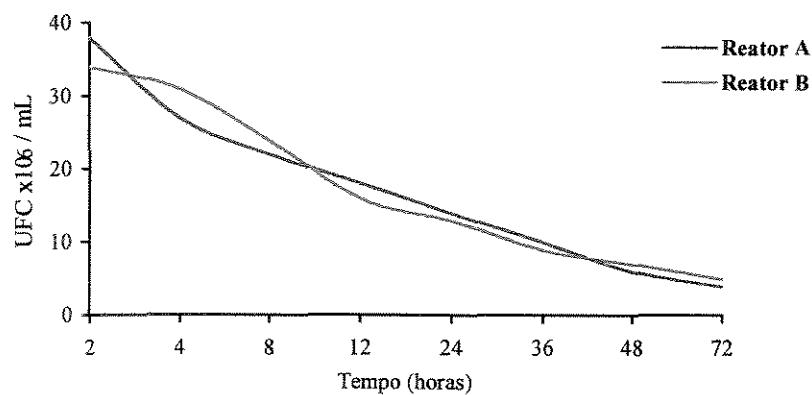


Figura 50 - Número de unidades formadoras de colônias (UFC) isoladas do lodo dos reatores após o período de repouso.

6. CONCLUSÕES

Através das condições de trabalho e dos resultados obtidos, chegou-se às seguintes conclusões:

- ❖ O sistema de Lodo Ativado por Batelada (LAB) foi satisfatoriamente eficiente na remoção de DQO e DBO alcançando valores de 79 e 78%, respectivamente, nos reatores A e B;
- ❖ Foi observado um aumento na remoção da matéria orgânica com o aumento do tempo de detenção hidráulico e redução do volume do despejo cítrico, sendo um aumento de 8 para 14 horas de ciclo de reação e um volume de despejo cítrico de 10 para 4 Litros, tornando-se assim o período de reação um importante parâmetro de projeto. Os períodos adotados para o tempo de reação são de grande importância no desempenho do sistema, adequa-los para cada situação operacional promove uma maior eficiência dos reatores;
- ❖ Notou-se um aumento na eficiência do sistema quando maiores valores da relação Tempo de Reação/ Tempo de Enchimento foram utilizados;
- ❖ Os reatores mantiveram um pH em torno de 7,0 em todas as fases dos ensaios mesmo quando foi adicionado efluente com valores de pH inferiores a este. A manutenção do pH nos reatores pode ser um indício de um tamponamento da solução;

- ❖ A remoção de sólidos suspensos foi de 96% em ambos os reatores durante o período de experimento;
- ❖ O estudo da microbiologia do sistema permitiu distinguir os diferentes tipos de microrganismos presentes durante o processo de reação. O número e tipos de colônias bacterianas variaram conforme o tempo de reação, ocorrendo uma sucessão de microrganismos durante a biodegradação do efluente cítrico.
- ❖ As bactérias codificadas como LAB-9 e LAB-7 predominaram durante todo o processo, sendo provavelmente os principais microrganismos responsáveis pela remoção da matéria orgânica nos reatores.
- ❖ As análises de biodegradação do efluente cítrico durante o período de reação, feitas através de espectrofotometria de massa, mostraram que o efluente industrial cítrico foi metabolizado pelos microrganismos originando produtos secundários de menor peso molecular;
- ❖ Embora as análises das substâncias presentes no processo tenham sido feitas comparativamente e não quantitativamente, a redução dos compostos iniciais presentes no efluente bruto foi evidente;
- ❖ Os compostos provenientes do óleo essencial como o α - terpineol e limoneno-glicol são resistentes à biodegradação bacteriana com uma redução de no máximo 19% para o primeiro composto sendo praticamente nula para o segundo. Outros constituintes do óleo foram degradados em um período de 9 horas de reação;
- ❖ Compostos com anéis aromáticos ou cíclicos presentes no efluente bruto como fenol, benzeno, 3-metil ciclopentano e ciclohexano foram reduzidos acima de 50% durante o tratamento;

- ❖ A recuperação de enzimas do efluente tratado, embora com baixa atividade .mostrou ser possível, com uma recuperação de 0,68mg/mL para enzimas pectinolíticas e 0,50 mg/mL para enzimas proteolíticas
- ❖ O período de repouso para nova recarga de efluente, mostrou ser crítico para a manutenção da eficiência de remoção da matéria orgânica nos reatores. Períodos acima de 4 horas de repouso ocasionaram uma queda na eficiência de cerca de 50% na DQO e uma diminuição do número de microrganismos.
- ❖ **Como recomendação para trabalhos futuros pode-se sugerir:**
- ❖ Análises mais detalhadas de compostos de difícil biodegradação como os provenientes do óleo essencial da laranja, e de substâncias que possuem anéis aromáticos como fenóis, hexano e outros, devem ser monitoradas com a utilização de padrões para uma quantificação mais precisa da biodegradação destes compostos.
- ❖ Testes com as principais culturas isoladas para identificação dos compostos específicos que estas utilizam durante o tratamento do efluente cítrico.
- ❖ Otimização do processo de recuperação de enzimas do efluente tratado, identificando a melhor fase para sua recuperação.
- ❖ Estudo de eficiência dos reatores para o tratamento de despejo cítrico alterando a relação volume de despejo sob volume de lodo na relação 2:2.
- ❖ Estudo de eficiência dos reatores para o tratamento de despejo cítrico utilizando cultura pura.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, E. C. & ALEM SOBRINHO, P. – Fundamentos teóricos dos reatores biológicos e sua aplicação ao tratamento de águas residuárias. Revista DAE, (113):53-61, **1977**.

ARORA, M. L., BARTH, E. F.; UMPHRES, M. B - Technology evaluation of sequencing batch reactor. Jornal of the Water Pollution Control Federation, v.57, n.8, p.867-875, Aug.1985.

BICH, H. – Ciliated protozoa – An illustrated guide to the species used as biological indicators in freshwater biology. Genebra, OMS, 198p., **1978**.

BITON, G. - Wastewater microbiology, A John Wiley & Sons, Inc., Publications (Wiley series in ecological and applied microbiology) **1994**.

BRADFORD, M. M. – A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. Analytical Biochem. 72, 248-254, **1976**.

BRANCO, S. M. - Hidrologia aplicada à engenharia sanitária. 3.Ed. São Paulo: Cetesb/ASCetesb, **1986**. P.66-68, 401-402, 420-451.

- BRANCO, S. M.** - Hidrologia ambiental. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo: Associação Brasileira de Recursos Hídricos, 1991. P.299-306, 317-320. (Coleção ABRH de Recursos Hídricos; v.3).
- BROCK, T. D., & MADIGAN, M. T.** - Biology of microorganisms. 6th ed., Prentice-hall, Eglewood., Clifs, NJ., 1991.
- CHAMBERS, B.** - Batch operated actived sludge plant for production of high effluent quality at small works. Water Science Technology, v.28, n.10, p.251-258, 1983.
- CHERNICHARO, C. A., SPERLING, M. V.** - Considerações sobre o dimensionamento de sistemas de lodo ativados de fluxo intermitente (batelada), Campus do Vale/ IPH/ UFRGS. In: Congresso Brasileiro De Engenharia Sanitária e Ambiental, 17, 1993, Natal, v.2, tomo 1, p.118-129.
- DE LUCA, S. J.; MARQUES, D. M.; MONTEGGIA, L. O.** - Eficiência operacional de reator sequencial em batelada. Campus do Vale/ IPH/ UFRGS, 17 17º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Natal -RN, v.2, Tomo I, p.440-457, 1993.
- DIXON, M; &WEBB, E. C.** - Enzymes, 3 ED; New York: Academic Press, 1979.
- DORNELAS, J. C.** - Tratamento do efluente líquido da indústria cítrica pelo processo de lodo ativado por batelada (Lab) com aplicação de oxigênio puro. Dissertação de Mestrado., Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas, 1995.
- DRAKDES, C. L.** - La microfaune des boues activées. Étude d'une méthode d'observation et application em suivi d'une pilote em phase de démarrage. Water Reserch, 14:1199-207, 1980.

ECKENFELDER JUNIOR., William Wesley. Industrial water pollution control. 2.Ed. New York: McGraw Hill, **1989**. P.1, 4, 35.

EIKELBOOM, D. H.; & BUIJESSEN, H. J. J. – Microscopic sludge investigation manual. TNO Reserch Isntitute for Enviromental Hygiene The Netherlands, 70p., **1981**.

ESCRITT,L.B. - Sewerage and sewage treatment: international practice. Chichester: John Wiley & Sons, **1984**.

FIGUEIREDO, R. F., - Sistema de tratamento de esgotos. Campinas: Faculdade de Engenharia Civil - UNICAMP, **1994**.

GRADY, Jr. C. P. L. & LIM, H. - Biológico wastewater treatment - Theory and Applications. Marcel Dekker, inc., Publications, **1980**.

GRAY, N. F. - Activated Sludge: theory and practice. Oxford: Oxford University, 272p., **1990**.

HAWKES, H. A. – The ecology of waste water treatment. Hungary, Pergamon Press Ltd. 620p, **1963**.

HENNIES, P. T. – Produção de pectinase de *Penicillium italicum* atarvés de fermentação em meio semi-sólido. Dissertação de Mestrado., Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, **1996**.

HOGAN, B. E., & MININNI, G. - Characterization of sewage sludges. In: L'HERMITE, P., OTT, H. (Ed). Characterization, treatment and use of sewage sludges. Dordrecht: Reidel, c1981. P.21-23 (Procidings of the Second European Symposium Held in Vienna, Oct.**1980**.

HORAN, N. J. - Biological wastewater treatment systems: theory and operations. Chichester: John Wiley & Sons, p.57-65, 94-106, **1990**.

IMHOFF, K, MÜLLER, W.J., THISTLETHWAYTES, D.K.B. - Disposal of sewage and other water-borne wastes. 2Ed., Michigan: Ann Arbor Science Publisher, 254-258, **1973**.

IRVINE, R. L. & BUSCH, A. W. - Sequencing batch biological reactors: an overview. Journal of the Water Pollution Control Federation, v.51, n.2, p.235-243, Feb. **1979**.

IRVINE, R. L.; KETCHUM, L. H.; ARORA, M. L.; BARTH, E. F. - An organic loading study of full-scale sequencing batch reactors. Journal of the Water Pollution Control Federation. V.57, n.8, p.847-853, Aug. **1985**.

IRVINE, R. L.; MILLER, G.; BHAMRAH, A. S. - Sequencing batch treatment of wastewaters in rural areas. Journal of the Water Pollution Control Federation. V.51, n.2, p.244-254, Feb. **1979**.

JORDÃO, E. P., & PESSOA, C. A. - Tratamento de esgotos domésticos: concepções clássicas de tratamento de esgotos. São Paulo: Cetesb, V.1. 544p., **1975**.

KIMBALL, DAN. A. - Citrus processing: quality control and technology. Chapman & Hall ed., New York, **1991**.

KOZIOROWSKI, B., KUCHARSKI, J. - Industrial waste disposal. Tradução de: Scieki Przemyslowe. Oxford: Pergamon Press: Wydawnictwa, p-46, **1972**.

KUMINITSU, D. K. & YASUNOBU, K. J. - Chymopapain B, in: Methods in enzymology, vol. 19, 244-252, **1970**.

LEHNINGER, A. L. - Bioquímica 2ª ed., Edgar Blücher, vol. 2. 262p, **1976**.

LEME, F. P. - Engenharia do saneamento ambiental. 2.Ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, P.232-246., **1984**.

METCALF & EDDY. Wastewater Engineering: treatment, disposal, reuse. 3.Ed. New York: Mcgraw Hill, P.83, 90-93, 364-369, 374-377, 384-389, 531-546, 1265-1266, 1275-1277., 1991.

MITCHELL, R. Introduction to Environmental Microbiology, Prentice-hall, Inc., Englewood Cliffs, N. J. 1972.

MONOD, J. "The growth of bacterial culture". Annual Review of Microbiology, 3, 371-394, 1949.

NEMEROW, N.L. - Theories and practices of industrial waste treatment. Reading, Mass.: Addison-Wesley Publishing Company, 103-108, 1963.

NOUR, E. A. A. – Tratamento de efluente de uma indústria cítrica pelo processo de escoamento superficial no solo. Dissertação de mestrado., Faculdade de Engenharia Civil da Universidade Estadual de Campinas, junho de 1990.

PELCZAR, M.; REID, R. & CHAN, E. C. S. – Microbiologia, Ed: Mcgraw Hill do Brasil, vol II, pp:897-922, 1981.

PIKE, E. B. & CARRINGTON, E. G. – Recent developments in the study of bacteria in the activated sludge process. Wat. Pollut. Control., 71(6):583-605, 1972.

PIKE, E.B. - Aerobic bacteria. In Ecological aspects of used-water treatment. Vol 1. The organisms and their ecology. C. R. Cruds and H. A. Hawkes ed., Academic Press, New York, pp. 1-64, 1975.

PIKE, E.B. & CRURDS, C.R. - Microbial ecology of the activated sludge process. In Microbial aspects of pollution. G. Sykes and F. A. Skinner ed., Academic Press, New York, pp. 123-147, 1971.

PIPES, W. O. – Bulking of activated sludge. *Adv. Appl. Microbiol.*, 9:185-234, **1967**.

PIRES, M. R., & FIGUEIREDO, R. F.- Effect of fill time duration on the sequencing batch reactor. In: *World-wide Symposium: Pollution in Large Cities*. Pádua, Italia. 22 a 25 fev. De **1995**.

POVINELLI, J., MATHEUS, C. E. & FRAGIACOMO, P. – Aclimação de um resíduo industrial. *Revista DAE*, 49(154):24-28, **1989**.

RAMALHO, R. S. - Introduction to wastewater process. 2 ED; New York: Academic Press, p243-273, **1983**.

RICKERT, D. A., & HUNTER, J. D. - Colloidal matter in wastewater treatment processes. 2.Ed., New York: Academic Press, P.243-247, 270-273., **1983**.

SANTOS, M. L. F. - Influência da estrutura do floco no desempenho de um sistema de lodos ativados. Dissertação de Mestrado - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, **1984**.

SEDMAN, J. J. & GROSSBERG, S. E. – A rapid, sensitive, and versatile assay for protein using Coomassie Brilliant Blue G-250. *Analytical Biochem.* 79,544-552, **1977**.

SEZGIN, M.; JENKIS, D.; PARKER, D. S. – A unified theory of filamentous activated sludge bulking. *J. Wat. Pollut. Cont. Fed.*, 50:362-381, **1978**.

SHAW, P. E. - Essential oils. In *Citrus Science and Technology Vol 1*, The AVI publishing Company, Inc., Westport, Conn. pp-430-435, **1977**.

STANIER, R. Y.; ADELBERG, E. A.; INGRAHAM, J. – The microbial world, 4^a ed., Prentice Hall, inc. Englewood Cliffs, New Jersey, 871p, **1976**.

SWALLOW, K. C.; SHIFRIN, N. S.; DOHERTY, P. J. – Hazardous organic compounds analysis. *Environ. Sci. Technol.*, 22:136-142, **1988**.

TSAL, H.; TSAL, J. H. J.; YU, P. H. – Effects of yeast proteinase and its inhibitor and on the inactivation of tryptophan syntetase from *S. cerevisiae* and *Neurospora crassa*. *Eur. J. Biochem.* 40:225-232, **1973**.

VAZOLLÉR, R. F. - Jornal do conselho regional de biologia, ano IV, nº 34, 08/1997.

VAZOLLÉR, R. F.; GARCIA, M. R.; GARCIA Jr. A. D.; NETO, J. C. – Microbiologia de lodos ativados – (série manuais/ Secretaria do Meio Ambiente) CETESB, São Paulo, 23p, **1989**.

WHITE, M.J.D. - Design and control of secondary settlement tanks. *Water Pollution Control*, 75, 459-467, **1976**.

WOODS, F.C. & KINSELLA, J. E. – Isolation and properties of protease from *S. carlsbergensis*. *J. Food. Sci.* 4:79-98, **1980b**.

WOODS, F.C. & KINSELLA, J. E. – Protease from *S. carlsbergensis* Activity on food proteins. *J. Food Sci.* 45:1200-1202, **1980a**.

YAMASSAKI, C. M. – Estudo sobre a aplicabilidade da cinética do tratamento biológico a reatores de lodos ativados por batelada. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia Civil da Universidade Estadual de Campinas, **1996**.

ANEXO I

Efluente bruto

Pico	tempo ret.	largura	área	tempo inicial	tempo final
1	3.498	0.048	6161111	3.433	3.563
2	4.123	0.208	92993527	3.696	4.160
3	4.294	0.134	81220894	4.160	4.354
4	4.799	0.271	275795709	4.354	4.857
5	6.457	0.075	9917108	6.164	6.697
6	7.348	0.086	8967353	7.222	7.476
7	8.703	0.171	53066922	8.134	8.847
8	8.968	0.076	27166716	8.847	9.142
9	10.858	0.088	23825172	10.666	10.963
10	11.049	0.070	10520021	10.963	11.303
11	16.106	0.164	342762060	15.672	16.249
12	17.024	0.076	6516956	16.743	17.123
13	17.200	0.065	6297346	17.123	17.269
14	17.629	0.076	8158798	17.537	17.851
15	20.160	0.079	11981883	19.846	20.297
16	20.485	0.107	17998221	20.325	20.620
17	20.723	0.063	6385605	20.620	20.809
18	22.007	0.084	21604414	21.814	22.081
19	26.188	0.077	28556239	26.064	26.349
20	30.412	0.068	5219441	30.337	30.584
21	39.725	0.087	7101212	39.549	39.901
22	42.907	0.090	82234105	42.699	43.165
23	49.637	0.086	16323413	49.484	49.756
24	63.994	0.167	535438731	63.532	64.188

Análise de 3 horas período de reação

Pico	tempo ret.	largura	área	tempo inicial	tempo final
1	3.404	0.100	13538897	3.186	3.434
2	3.921	0.252	94040481	3.434	4.051
3	4.278	0.068	5179756	4.184	4.421
4	7.354	0.097	8164725	7.202	7.469
5	8.635	0.095	10933926	8.401	8.839
6	8.936	0.071	12072718	8.839	9.098
7	10.817	0.109	20701551	10.580	10.992
8	16.143	0.179	411671662	15.605	16.259
9	20.161	0.087	12990557	19.946	20.317
10	20.539	0.109	31047224	20.317	20.635
11	20.737	0.065	7394213	20.635	20.820
12	22.018	0.104	31509648	21.809	22.201
13	22.987	0.066	5278403	22.828	23.075
14	26.207	0.076	46096131	26.035	26.549
15	30.418	0.065	8489260	30.327	30.565
16	42.957	0.106	146335907	42.661	43.165
17	45.961	0.076	10017989	45.820	46.115
18	49.671	0.088	36672512	49.399	49.798
19	63.733	0.089	74994218	63.462	63.940

Análise de 6 horas período de reação

Pico	tempo ret.	largura	área	tempo inicial	tempo final
1	3.352	0.067	6570185	3.289	3.380
2	3.511	0.102	15721966	3.380	3.535
3	4.118	0.279	153079326	3.535	4.150
4	4.299	0.135	86252424	4.150	4.344
5	4.456	0.095	66148163	4.344	4.507
6	4.735	0.095	11962874	4.584	4.793
7	5.009	0.113	12493849	4.793	5.184
8	5.570	0.080	14012987	5.343	5.619
9	5.668	0.057	4976773	5.619	5.746
10	6.427	0.067	6119600	6.345	6.659
11	7.354	0.099	14643933	7.116	7.649
12	8.616	0.120	10550590	8.458	8.867
13	8.948	0.064	11360461	8.867	9.075
14	10.846	0.125	35037338	10.628	11.161
15	16.183	0.195	482901672	15.567	16.297
16	20.181	0.088	14691598	19.992	20.330
17	20.570	0.107	38632302	20.330	20.651
18	20.763	0.072	9796973	20.651	20.839
19	21.385	0.079	5815347	21.269	21.517
20	22.058	0.105	43574220	21.821	22.220
21	22.799	0.106	10901599	22.563	22.894
22	23.024	0.091	8481317	22.894	23.104
23	26.182	0.066	15461169	25.969	26.227
24	26.283	0.080	15390349	26.227	26.483
25	42.935	0.103	126184902	42.661	43.175
26	45.946	0.072	5708878	45.640	46.077
27	49.627	0.088	17093882	49.427	49.760
28	63.843	0.122	244764007	63.493	64.035

Análise de 9 horas período de reação

Pico	tempo ret.	largura	área	tempo inicial	tempo final
1	3.351	0.088	11035085	3.186	3.414
2	3.665	0.150	39718851	3.414	3.701
3	4.362	0.353	232269689	3.701	4.435
4	4.696	0.097	12443437	4.435	4.749
5	4.968	0.122	10731168	4.749	5.028
6	5.581	0.176	11653719	5.260	5.604
7	5.674	0.076	6484278	5.604	5.729
8	7.346	0.067	8137728	7.106	7.467
9	8.927	0.059	4534763	8.839	9.038
10	10.808	0.110	29396323	10.618	11.066
11	16.135	0.177	404999609	15.672	16.252
12	20.162	0.079	11555455	19.897	20.253
13	20.541	0.104	34784104	20.325	20.634
14	20.739	0.071	8007460	20.634	20.824
15	21.370	0.064	4892115	21.277	21.515
16	22.019	0.095	30912877	21.824	22.238
17	22.982	0.074	6001510	22.812	23.133
18	26.184	0.068	21740194	26.045	26.238
19	26.251	0.054	6630778	26.238	26.344
20	28.520	0.062	4928297	28.305	28.641
21	42.901	0.095	87158939	42.661	43.089
22	45.947	0.076	6428478	45.811	46.106
23	49.638	0.081	22507315	49.456	49.780
24	63.916	0.143	401478912	63.515	64.292

Análise de 12 horas período de reação

Pico	tempo ret.	largura	área	tempo inicial	tempo final
1	3.411	0.121	12913679	3.205	3.444
2	3.658	0.153	35483674	3.444	3.701
3	4.618	0.404	370123434	3.701	4.707
4	4.939	0.113	20686039	4.707	4.969
5	5.197	0.164	24548520	4.969	5.300
6	5.637	0.065	7244560	5.490	5.674
7	5.999	0.190	34784225	5.674	6.155
8	6.470	0.071	8290606	6.279	6.604
9	7.372	0.080	12850934	7.249	7.481
10	8.625	0.100	7836162	8.458	8.848
11	10.886	0.138	52588542	10.466	11.284
12	14.953	0.085	6016344	14.748	15.057
13	16.248	0.216	605476360	15.662	16.345
14	16.403	0.066	6618259	16.345	16.578
15	20.207	0.094	16219279	20.034	20.371
16	20.595	0.117	43057580	20.371	20.678
17	20.788	0.070	12210142	20.678	20.868
18	21.415	0.089	8034711	21.286	21.570
19	22.079	0.110	44960386	21.865	22.256
20	22.818	0.102	12656567	22.629	22.923
21	23.039	0.090	9739464	22.923	23.167
22	26.196	0.074	24343997	26.026	26.250
23	26.308	0.078	16707308	26.250	26.508
24	28.549	0.066	9033415	28.451	28.666
25	30.413	0.064	4755358	30.280	30.551
26	42.914	0.105	96754334	42.623	43.146
27	45.951	0.074	6434616	45.782	46.106
28	49.645	0.086	25070953	49.446	49.827
29	63.717	0.089	59130530	63.483	63.931

Análise de 15 horas período de reação

Pico	tempo ret.	largura	área	tempo inicial	tempo final
1	3.405	0.094	11555149	3.195	3.443
2	3.662	0.135	40311837	3.443	3.708
3	3.947	0.157	61372730	3.708	3.965
4	4.421	0.269	195041633	3.965	4.465
5	4.800	0.126	19917943	4.567	4.833
6	5.116	0.142	24240359	4.833	5.237
7	5.568	0.034	1608600	5.365	5.624
8	6.432	0.071	5387966	6.345	6.545
9	7.360	0.071	9088120	7.230	7.466
10	10.838	0.119	41569188	10.656	11.051
11	16.181	0.188	480606583	15.662	16.296
12	20.177	0.081	12876199	19.992	20.307
13	20.556	0.105	34945369	20.307	20.649
14	20.759	0.070	10139407	20.649	20.840
15	21.391	0.079	6555146	21.077	21.553
16	22.040	0.095	33673101	21.849	22.267
17	22.789	0.099	10063115	22.562	22.891
18	23.008	0.092	7775077	22.891	23.171
19	26.205	0.071	35658925	25.873	26.261
20	26.282	0.070	10698534	26.261	26.521
21	28.539	0.072	8600726	28.395	28.689
22	30.414	0.066	7132359	30.289	30.575
23	42.958	0.108	150594651	42.642	43.203
24	45.961	0.075	10505657	45.811	46.115
25	49.672	0.092	40870373	49.465	49.770
26	52.053	0.065	6324137	51.930	52.139
27	55.127	0.068	11761045	54.956	55.242
28	58.067	0.071	14280700	57.961	58.221
29	59.889	0.074	19658679	59.696	59.975

Análise de 15 horas período de reação (continuação)

Pico	tempo ret.	largura	área	tempo inicial	tempo final
30	60.887	0.070	15437167	60.714	60.990
31	62.509	0.078	8114183	62.313	62.666
32	63.823	0.118	199246555	63.502	63.954
33	66.199	0.069	13421865	66.051	66.367
34	68.330	0.073	6220083	68.165	68.410
35	68.708	0.069	10815426	68.570	68.807
36	71.127	0.070	7664126	70.993	71.239
37	73.469	0.081	6648116	73.296	73.619