



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL**

**DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA DE CROMO
HEXAVALENTE [Cr(VI)] PARA A BIOMASSA EM SISTEMAS DE LODO
ATIVADO, APLICANDO A RESPIROMETRIA COMO TÉCNICA DE AVALIAÇÃO**

MARILIA GUIMARÃES COUTO

CAMPINA GRANDE - PB

MARÇO DE 2014

MARILIA GUIMARÃES COUTO

**DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA DE CROMO
HEXAVALENTE [Cr(VI)] PARA A BIOMASSA EM SISTEMAS DE LODO
ATIVADO, APLICANDO A RESPIROMETRIA COMO TÉCNICA DE AVALIAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento aos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental.

ORIENTADOR

Prof. Ph. Dr. Adrianus Cornelius Van Haandel

CAMPINA GRANDE - PB

MARÇO DE 2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

C871d Couto, Marília Guimarães.

Determinação da toxicidade aguda e crônica de cromo hexavalente [Cr(VI)] para a biomassa em sistemas de lodo ativado, aplicando a respirometria como técnica de avaliação [manuscrito] / Marília Guimarães Couto. - 2014.

101 p. : il. color.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2014.

"Orientação: Prof. Dr. Adrianus Cornelius Van Haandel, Departamento de Engenharia Civil".

1. Tratamento de água. 2. Águas residuárias. 3. Lodo ativado. 4. Respirometria. I. Título.

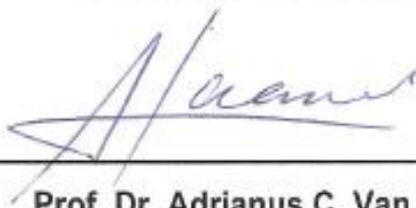
21. ed. CDD 628.3

MARILIA GUIMARÃES COUTO

**DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA DE CROMO
HEXAVALENTE [Cr(VI)] PARA A BIOMASSA EM SISTEMAS DE LODO
ATIVADO, APLICANDO A RESPIROMETRIA COMO TÉCNICA DE AVALIAÇÃO**

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 14 / 03 / 2014

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Adrianus C. Van Haandel

Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

Orientador



Prof. Dr. Pedro Alem Sobrinho

Universidade de São Paulo – USP

Examinador externo



Prof. Dr. Valderi Duarte Leite

Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

Examinador interno

CAMPINA GRANDE – PB

MARÇO DE 2014

Dedico este trabalho aos meus pais, Elídio Pereira e Maria Lúcia

AGRADECIMENTOS

A Deus pela misericórdia;

Aos meus pais, meus heróis: Elidio Pereira Guimarães e Maria Lucia de Couto Guimarães pela luta diária da vida;

Aos meus irmãos Sebastião, Humberto, Romero, Rondinelle (in memoria), Gerluce, Marina, Mariana pela motivação;

Ao Prof. Orientador Adrianus van Haandel pela acolhida, pela orientação oferecida com competência e propriedade;

Ao Prof. Dr. Rui de Oliveira pelo o apoio oferecido nesse trabalho;

Ao Prof. Dr. Pedro Além Sobrinho e ao Prof. Dr. Valderi Duarte Leite pelas contribuições na banca de defesa.

Aos doutorandos Heraldo e Elivânia pela amizade e por suas múltiplas e excelentes sugestões.

Aos amigos do grupo de pesquisa do Programa de Saneamento Básico -PROSAB: Nélia Luna, Vanessa Miná, Guilherme Paula, Ricardo Mendes, Vanessa Rebeca, Samara Carolina e Silvânia Lucas, pelos momentos de descontração, construção e companheirismo;

À Universidade de Estadual da Paraíba pela oportunidade do exercício científico;

À CAPES por financiar e incentivar a realização desse trabalho;

Aos amigos que me amparam na jornada da vida.

"Sozinho não se chega a lugar algum" - Jonh Maxwell

RESUMO

Os processos biológicos de sistemas de tratamento de águas residuárias podem sofrer instabilidade operacional ocasionada pela presença de poluentes tóxicos em concentrações que inibem a atividade dos organismos presentes. Os metais pesados têm recebido maior atenção, uma vez que, mesmo em quantidades mínimas, alguns são extremamente tóxicos, para uma grande variedade de organismos. A partir desse pressuposto, o presente estudo teve como objetivo principal avaliar a toxicidade de cromo hexavalente [Cr(VI)] para a biomassa microbiana de sistemas de lodo ativado, usando a respirometria como técnica de avaliação. Para avaliação da toxicidade aguda e crônica de Cr(VI) em sistema de lodo ativado foram estudadas seis concentrações (5mg/L; 10mg/L; 20mg/L; 40mg/L; 80mg/L; 160mg/L). Na investigação experimental foram operados dois reatores RBS1 e RBS2 simultaneamente, em regime de bateladas sequenciais. O primeiro RBS1 recebia esgoto, enquanto o segundo, RBS2, recebia além do esgoto, também dicromato de potássio. O lodo de excesso do RBS2 era comparado com o de RBS1 para análise da toxicidade crônica do cromo. Adições repentinas de cromo ao lodo de excesso do RBS1 permitia a avaliação da toxicidade aguda. Por meio dos testes respirométricos foi possível determinar a taxa de crescimento específico máxima (μ_m) das bactérias heterotróficas e autotróficas, adotada neste trabalho como o principal parâmetro de avaliação da cinética dos processos de utilização de material orgânico e de nitrificação respectivamente. Também foram analisados DQO, NTK e sólidos suspensos totais, voláteis e fixos. Utilizando o RBS1-reator controle, como referência de crescimento máximo dos microrganismos, os resultados demonstraram que nos testes de toxicidade aguda as bactérias heterotróficas reagiram em todas as concentrações de Cr(VI), reduzindo o (μ_m) em mais de 50% quando expostas a 20mgCr(VI)/L, as autotróficas obtiveram metade do (μ_m) em 5mgCr(VI)/L, apresentando inibição total com 160mgCr(VI)/L. Nos testes de toxicidade crônica as bactérias heterotróficas apresentaram faixa ótima de crescimento de 85% com 40mgCr(VI)/L, visto que à adição diária de Cr(VI) aos microrganismos favoreceram a aclimação, enquanto que as autotróficas só reagiram nos primeiros dias de adição de Cr(VI).

Palavras-chave: Lodo Ativado; Toxicidade de Cr(VI); Respirometria.

ABSTRACT

Biological processes of wastewater treatment systems can suffer operational instability caused by the presence of toxic pollutants in concentrations that inhibit the activity of organisms present. Heavy metals have received most attention, since, even in minute concentrations, some are extremely toxic to a wide variety of organisms. From this assumption, the present study aimed to evaluate the toxicity of hexavalent chromium [Cr(VI)] for microbial biomass of activated sludge systems using respirometry as evaluation tool. For assessment of acute and chronic Cr(VI) toxicity at six concentrations (5, 10, 20, 40, 80 and 160mg/L) were studied. An experimental investigation was carried out with two pilot scale activated sludge systems (RBS1 and RBS2) operated simultaneously under sequencing batch regime. The first RBS1 received sewage, while the second, RBS2, a part from sewage also received the potassium dichromate. The excess sludge RBS2 was compared with that of RBS1 for analysis of chronic toxicity of chromium. Sudden additions of chromium sludge RBS1 allowed evaluation of acute toxicity. Through respirometric tests it was possible to determine the maximum specific growth rate (μ_m) of heterotrophic and autotrophic bacteria, used in this work as the main criterion for assessing the kinetics of processes using organic material and nitrification respectively. COD, TKN and total volatile and fixed suspended solids were also analyzed. Using RBS1-control reactor as a reference for maximum growth of microorganisms, the results showed that in the acute toxicity tests heterotrophic bacteria react at all concentrations Cr(VI), reducing (μ_m) in more than 50 % when exposed to 20mgCr(VI)/L autotrophic obtained half (μ_m) of 5mgCr(VI)/L, showing complete inhibition with 160mgCr(VI)/L. In chronic toxicity tests heterotrophic bacteria showed maximum growth range of 85% to 40mgCr(VI)/L, whereas the daily addition of Cr(VI) to microorganisms favored acclimation, whereas autotrophic reacted only in the early days of addition of Cr(VI).

Keywords: Activated Sludge; Toxicity of Cr(VI); Respirometry.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2 REVISÃO DA LITERATURA

- Figura 2.1** Representação esquemática do princípio de funcionamento do sistema de lodo ativado convencional..... 29
- Figura 2.2** Representação esquemática das fases de operação de um RBS..... 32
- Figura 2.3** Efeito da concentração de metais pesados em reações biológicas..... 34
- Figura 2.4** Representação esquemática do cromato em células bacterianas..... 38

CAPÍTULO 3 MATERIAL E MÉTODOS

- Figura 3.1** Esquema do sistema - RBS1 e RBS2. **A:** Afluente; **D:** Difusor de ar; **L:** Lodo de Excesso; **E:** Efluente. 47
- Figura 3.2** Sistema RBS1 e RBS2..... 47
- Figura 3.3** Caixa de equalização do sistema RBS1 e RBS2..... 48
- Figura 3.4** **A:** Bombas utilizadas para alimentação do sistema RBS; **B:** Caixa de amortecimento do sistema RBS; **C:** Bomba dosadora da solução cromada..... 48
- Figura 3.5** Fluxograma representativo das principais etapas da fase experimental..... 50
- Figura 3.6** Equipamentos utilizados para a realização dos testes respirométricos: **A:** CPU - controle do respirômetro e aquisição dos dados; **B:** Respirômetro; **C:** Respirograma; **D:** Eletrodo de OD; **E:** Aerador e **F:** Agitador magnético..... 52

Figura 3.7	Respirograma típico de um teste de toxicidade aguda com adição de 10mgCr(VI)/L e os seguintes substratos: cloreto de amônia, nitrito de sódio e acetato de sódio.....	53
-------------------	---	----

CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 4.1	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos em testes controle e em testes de toxicidade aguda com diferentes concentrações de Cr(VI).....	62
Figura 4.2	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos em função da concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade aguda.....	63
Figura 4.3	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos em função de ln concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade aguda.....	64
Figura 4.4	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes em testes controle e em testes de toxicidade aguda com diferentes concentrações de Cr(VI).....	65
Figura 4.5	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes em função da concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade aguda.....	66
Figura 4.6	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes em função de ln concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade aguda.....	67
Figura 4.7	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitratores em testes controle e em testes de toxicidade aguda com diferentes concentrações de Cr(VI).....	68

Figura 4.8	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitratores em função da concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade aguda.....	69
Figura 4.9	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitratores em função de ln concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade aguda.....	70
Figura 4.10	Série de respirogramas representando a Taxa de Consumo de Oxigênio - TCO dos microrganismos autotróficos e heterotróficos dos testes agudos - RBS1, referente a cada concentração de Cr(VI).....	70
Figura 4.11	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos em testes controle e em testes de toxicidade crônica com diferentes concentrações de Cr(VI).....	72
Figura 4.12	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos em função da concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade crônica.....	74
Figura 4.13	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes em testes controle e em testes de toxicidade crônica com diferentes concentrações de Cr(VI).....	76
Figura 4.14	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes em função da concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade crônica.....	77
Figura 4.15	Série de respirogramas representando a Taxa de Consumo de Oxigênio - TCO dos microrganismos autotróficos e heterotróficos no RBS2, referente a cada concentração de Cr(VI).....	78

Figura 4.16	Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos, referentes a diferentes concentrações de Cr(VI) nos testes de toxicidade aguda e crônica.....	79
Figura 4.17	Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes, referentes a diferentes concentrações de Cr(VI) nos testes de toxicidade aguda e crônica.....	80
Figura 4.18	Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitratores, referentes a diferentes concentrações de Cr(VI) nos testes de toxicidade aguda e crônica.....	81
Figura 4.19	Série de respirogramas representando a Taxa de Consumo de Oxigênio - TCO dos microrganismos autotróficos e heterotróficos, referentes a diferentes concentrações de Cr(VI) nos testes de toxicidade aguda e crônica.....	82
Figura 4.20	Série de respirogramas representando a Taxa de Consumo de Oxigênio - TCO dos microrganismos autotróficos e heterotróficos, nos testes de toxicidade aguda e crônica e de testes de toxicidade aguda no lodo aclimatado.....	85
Figura 4.21	Variação média das concentrações de DQO Total do afluente RBS1 e RBS2 e efluentes dos RBS1 e 2.....	87
Figura 4.22	Eficiência de remoção de DQO Total dos efluentes dos RBS1 e 2.....	87
Figura 4.23	Variação média das concentrações de NTK do afluente RBS1 e RBS2 e efluentes dos RBS1 e 2.....	89
Figura 4.24	Eficiência de remoção de NTK dos efluentes dos RBS1 e 2...	89

Figura 4.25	Varição média de SST, SSV, SSF do RBS1 em diferentes concentrações de (CrVI).....	91
Figura 4.26	Varição média de SST, SSV, SSF do RBS2 em diferentes concentrações de (CrVI).....	91

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 3 MATERIAL E MÉTODOS

Tabela 3.1	Análises realizadas em amostras coletadas semanalmente para avaliar o desempenho dos sistemas e métodos analíticos de determinação.....	59
-------------------	---	----

CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 4.1	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos no RBS1, referentes aos períodos nos quais foram realizados os testes de toxicidade aguda.....	61
Tabela 4.2	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos no RBS1, referentes aos testes de toxicidade aguda.....	61
Tabela 4.3	Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos no RBS1, referentes aos testes de toxicidade aguda.....	62
Tabela 4.4	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes no RBS1, referentes aos períodos nos quais foram realizados os testes de toxicidade aguda.....	64
Tabela 4.5	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes no RBS1, referentes aos testes de toxicidade aguda.....	65
Tabela 4.6	Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes no RBS1, referentes aos testes de toxicidade aguda.....	66
Tabela 4.7	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitratores no RBS1,	

	referentes aos períodos nos quais foram realizados os testes de toxicidade aguda.....	67
Tabela 4.8	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitratores no RBS1, referentes aos testes de toxicidade aguda.....	68
Tabela 4.9	Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitratores no RBS1, referentes aos testes de toxicidade aguda.....	69
Tabela 4.10	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos no RBS1, referente aos períodos nos quais foram realizados os testes de toxicidade crônica.....	72
Tabela 4.11	Taxa de crescimento específico máximo (μ_m) dos microrganismos heterotróficos no RBS2, referentes aos testes de toxicidade crônica.....	72
Tabela 4.12	Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos no RBS2, referente aos testes de toxicidade crônica.....	73
Tabela 4.13	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes no RBS1, referentes aos períodos nos quais foram realizados os testes de toxicidade crônica.....	75
Tabela 4.14	Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes no RBS2, referentes aos testes de toxicidade crônica.....	75
Tabela 4.15	Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes no RBS2, referente aos testes de toxicidade crônica.....	77
Tabela 4.16	Concentrações de DQO Total do afluente RBS1 e RBS2 e	

	efluentes dos RBS1 e 2.....	86
Tabela 4.17	Concentrações de NTK do afluente RBS1 e RBS2 e efluentes dos RBS1 e 2.....	88
Tabela 4.18	Concentrações de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV) e sólidos suspensos fixos (SSF) do RBS1 e do RBS2.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

APHA	<i>American Public Health Association</i>
ATP	Adenosina trifosfato
b_h	Constante de decaimento de bactérias heterotróficas (d^{-1})
b_n	Constante de decaimento de bactérias nitrificantes (d^{-1})
CAGEPA	Companhia de Água e Esgoto do Estado da Paraíba
CENO	Concentração de efeito não observado
CL50	Concentração letal a 50% dos organismo expostos
CPU	Central Processing Unit
Cr	Cromo
CV	Coeficiente de Variação
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio ($mgO_2.L^{-1}$)
DP	Desvio Padrão
DQO	Demanda Química de Oxigênio ($mgO_2.L^{-1}$)
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
EXTRABES	Estação Experimental de Tratamentos Biológicos de Esgotos Sanitários
f	Fração de lodo orgânico decaído como resíduo endógeno
f_{cv}	Produção de massa bacteriana ($mgSSV/mgDQO$)
f_n	Fração de nitrogênio em lodo volátil = $0,1g.g^{-1}SSV$
fra_{cat}	Fração catabolizada

K_{la}	Constante de transferência de oxigênio
K_{ms}	Constante de utilização do substrato pelo lodo ativo (mgDQO/mgXa/d)
Ln	Logaritmo Natural
NBR	Norma Brasileira
N_c	Concentração de amônia nitrificada (mgN.L ⁻¹)
N_i	Concentração de NTK para a produção de lodo de excesso (mgN.L ⁻¹)
N_{ta}	Concentração de NTK afluente (mgN.L ⁻¹)
N_{te} :	Concentração de NTK efluente (mgN.L ⁻¹);
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl (mgN.L ⁻¹)
N-NH ₄ ⁺	Nitrogênio amoniacal (mgN.L ⁻¹)
PROSAB	Programa de Saneamento Básico
OD	Oxigênio dissolvido (mgO ₂ .L ⁻¹)
OD _i	Concentração de oxigênio dissolvido no licor misto (mg.L ⁻¹);
OD _{max}	Valor de oxigênio dissolvido de referência superior (mgO ₂ .L ⁻¹)
OD _{min}	Valor de oxigênio dissolvido de referência inferior (mgO ₂ .L ⁻¹)
OD _s	Concentração de saturação de oxigênio (mgO ₂ .L ⁻¹)
pH	Potencial hidrogeniônico
Q_a	Vazão afluente (L.d ⁻¹)
RBS	Reator em bateladas sequencias
R_h	Tempo de permanência hidráulica (d)
$r_{m\acute{a}x}$	Taxa máxima de consumo do substrato (mgS.L ⁻¹ .h ⁻¹)

r_n	Taxa de nitrificação ($\text{mgN.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$)
$r_{n(\text{nitri})}$	Taxa de utilização da amônia e do nitrito gerado ($\text{mgNH}_4/\text{mgX}_n/\text{d}$);
$r_{n(\text{nitra})}$	Taxa de utilização do nitrito ($\text{mgNO}_2/\text{mgX}_n/\text{d}$).
R_s	Idade de lodo (d)
r_{us}	Taxa de utilização do substrato
SLA	Sistema de Lodo Ativado
SSF	Sólidos suspensos fixos (mg.L^{-1})
SST	Sólidos suspensos totais (mg.L^{-1})
SSV	Sólidos suspensos voláteis (mg.L^{-1})
TCO	Taxa de consumo de oxigênio ($\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)
TCO_{end}	Taxa de consumo de oxigênio relativa à respiração endógena ($\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)
$\text{TCO}_{\text{exó}}$	Taxa de consumo de oxigênio relativa à respiração exógena ($\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)
$\text{TCO}_{\text{máx}}$	Taxa de consumo de oxigênio máxima ($\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)
TCO_n	TCO devido à nitrificação ($\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
V_r	Volume do reator (L)
X_a	Concentração de lodo ativo (mgSSV.L^{-1})
X_n	Concentração de bactérias nitrificantes (mgSSV.L^{-1})
X_v	Concentração de sólidos voláteis no licor misto (mgSSV.L^{-1})

Y	Coeficiente de rendimento das bactérias ($\text{mgN.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$)
Y_h	Coeficiente de rendimento das heterotróficas ($\text{mgX}_a.\text{L}^{-1}.\text{d}^{-1}$)
Y_n	Coeficiente de rendimento das autotróficas ($\text{mgN.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$)
μ_m	Taxa de crescimento específico máxima
ΔOD	Variação da concentração de oxigênio dissolvido ($\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}$)
Δt	Variação do tempo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO.....	24
CAPÍTULO 2 REVISÃO DA LITERATURA.....	28
2.1 Lodo Ativado.....	28
2.1.1 Microrganismos presentes em Sistemas de Lodo Ativado - SLA.....	29
2.1.2 Reator Sequencial por Batelada - RBS.....	30
2.2 Metais Pesados.....	33
2.2.1 Toxicidade de Metais Pesados em Sistemas de Lodo Ativado.....	33
2.2.1.1 Toxicidade Aguda.....	35
2.2.1.2 Toxicidade Crônica.....	36
2.2.2 Características do Metal Pesado Estudado.....	36
2.2.2.1 Cromo: Origens e aplicações.....	36
2.2.2.2 Especificação.....	37
2.2.2.3 Papel bioquímico.....	37
2.2.2.4 Efeitos de Cr(VI) em Lodo Ativado.....	39
2.3 Respirometria.....	41
2.3.1 Tipos de Respirômetros.....	41
2.3.1.1 Respirômetros Fechados.....	42
2.3.1.2 Respirômetros Abertos.....	42
2.3.2 Determinação da TCO pelo Método Contínuo.....	43
2.3.3 Determinação da TCO pelo Método Semicontínuo.....	43

CAPÍTULO 3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
3.1 Introdução.....	46
3.2 Composto Tóxico.....	46
3.2.1 Seleção e Concentrações do Metal Pesado Estudado.....	46
3.3 Descrição do Sistema.....	47
3.4 Operação do Sistema.....	49
3.5 Método Experimental.....	50
3.5.1 Testes Respirométricos.....	51
3.5.1.1 Equipamento utilizado para Análise Respirométrica.....	51
3.5.1.2 Determinação das constantes cinéticas das bactérias heterotróficas.....	54
3.5.1.3 Determinação das constantes cinéticas das bactérias autotrófica....	55
3.5.2 Testes de Toxicidade.....	57
3.5.2.1 Testes Controle.....	58
3.5.2.2 Testes de Toxicidade Aguda.....	58
3.5.2.3 Testes de Toxicidade Crônica.....	59
3.5.3 Testes de caracterização do desempenho dos reatores.....	59
CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
4.1 Introdução.....	60
4.2 Toxicidade aguda de Cr(VI) em sistema de lodo ativado.....	60
4.3 Toxicidade crônica do Cr(VI) em sistema de lodo ativado.....	71

	Comparação do Efeito Tóxico Agudo e Crônico de Cr(VI) para a	79
4.4	Biomassa em Sistema de Lodo Ativado.....	
4.5	Desempenho do Sistema Experimental - RBS1 e RBS2.....	86
4.5.1	DQO Total.....	86
4.5.2	Nitrogênio Total Kjeldahl - NTK.....	88
4.5.3	Sólidos Suspensos Totais, Voláteis e Fixos.....	90
	CAPÍTULO 5 CONCLUSÕES.....	93
	6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

O sistema de lodos ativados é um processo biológico aeróbio que se fundamenta no controle da biomassa através da recirculação do lodo produzido no sistema, de modo a manter a maior concentração possível de microrganismos ativos no reator aerado, a fim de acelerar a remoção do material orgânico e de nutrientes das águas residuárias (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999).

No lodo de sistemas ativados geralmente é encontrado uma grande diversidade de espécies de microrganismos, entre bactérias, protozoários, fungos e micrometazoários, sendo a maior parte da comunidade microbiana representada pelas bactérias (HORAN, 1990).

A maioria das bactérias presentes em sistemas de lodo ativado é quimioheterotrófica, que usam o material orgânico para duas finalidades: (1) como fonte de energia, no que oxidam parte da matéria orgânica em dióxido de carbono e água, utilizando oxigênio molecular como aceptor de elétrons (HORAN, 1990; JENKINS *et al.*, 2003) e (2) como fonte material, sintetizando material orgânico como massa celular. Também são encontradas bactérias quimioautotróficas, que realizam a síntese orgânica a partir de gás carbônico e água, utilizando como fonte de energia a oxidação aeróbia de compostos inorgânicos (ECKENFELDER, 1992).

As substâncias tóxicas podem exercer efeito prejudicial nos processos de oxidação biológica. Os metais pesados têm recebido maior atenção, uma vez que, mesmo em quantidades mínimas, alguns são extremamente tóxicos, para uma grande variedade de organismos. Quando os metais pesados estão presentes em águas residuárias são assimilados por organismos vivos, podendo causar danos estruturais às células ou inibição de suas atividades enzimáticas, reduzindo a eficiência do sistema de tratamento (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

Dentre os metais pesados, o cromo apresenta grande potencial de contaminação, utilizado amplamente nas indústrias, galvanoplastia, siderurgia, construção e principalmente em curtumes. Todas estas aplicações geram grandes quantidades de efluentes e resíduos cromados, que em sua maior parte, são, indiscriminadamente, dispostos sem tratamento prévio em ambientes aquáticos ou no solo, levando ao acúmulo de cromo, causando perdas econômicas, de

biodiversidade, além de sérios riscos à saúde pública. Entre as diversas valências que o cromo pode ter Cr(II),Cr(III),Cr(IV) e Cr(VI) o cromo hexavalente é a forma mais tóxica.

O tratamento adequado de efluente tóxico exige rigoroso controle do sistema utilizado, entendimento sobre a influência do composto tóxico no processo de depuração e a eficiência na remoção da carga tóxica (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Assim sendo, a eliminação de efluentes industriais tem se tornado mais preocupante, exigindo uma maior confiabilidade para as estações de tratamento, bem como uma melhor compreensão e aplicação dos processos biológicos que dependem da cinética de crescimento dos microrganismos.

Segundo van Haandel *et al.* (2001) a toxicidade no sistema de lodo ativado resulta numa diminuição da capacidade metabólica da biomassa, sem estar relacionada a uma diminuição da carga orgânica aplicada.

A toxicidade está principalmente relacionada com a concentração do agente tóxico, podendo servir como agente estimulante a baixas concentrações e ser fortemente inibidor em concentrações mais elevadas. Outros fatores também interferem na toxicidade como a solubilidade do composto tóxico, o tempo de exposição e a interação entre os diversos metais e não metais, que podem resultar numa potencialização ou diminuição dos seus efeitos deletérios (DIVE *et al.*, 1989; SPRAGUE e RAMSAY, 1965), além da interação com as substâncias húmicas, que acabam complexando alguns metais (DIVE *et al.*, 1982).

A avaliação do efeito tóxico está relacionada com a Taxa de Consumo de Oxigênio - TCO, utilizado pelos microrganismos, que por sua vez, é medida através de teste respirométrico. Uma diminuição do valor da TCO, quando não há redução da carga orgânica aplicada, pode ser indicativa da presença de substâncias tóxicas ou inibidoras no afluente. Nesse caso a respirometria é também chamado de toximetria (VAN HAANDEL *et al.*, 1998). O uso da respirometria mostra-se como técnica vantajosa na identificação de compostos que podem ter um efeito adverso no sistema de tratamento de efluentes, além de permitir a estimativa de certas variáveis de características de um bom processo, notadamente como: a cinética de bactérias heterotróficas e autotróficas; avaliação da biodegradabilidade; e, a determinação da toxicidade de efluentes industriais e compostos específicos.

No presente estudo procurou-se verificar a influência da toxicidade imediata de cromo hexavalente [Cr(VI)] sobre a atividade da biomassa em sistemas de lodo

ativado e a capacidade de aclimatação dos microrganismos ao Cr(VI), aplicando a respirometria como técnica de avaliação.

1.1 Objetivo Geral

Avaliar a toxicidade de cromo hexavalente [Cr(VI)] para a biomassa microbiana de sistemas de lodo ativado, usando a respirometria como técnica de avaliação.

1.2 Objetivos Específicos

Como objetivos específicos apresentam-se:

- (1) Determinar por meio da respirometria a toxicidade aguda do Cr(VI) em que reduz a taxa de crescimento das bactérias heterotróficas e autotróficas em 50%;
- (2) Determinar por meio da respirometria a toxicidade crônica do Cr(VI) em que reduz a taxa de crescimento da biomassa em 50%;
- (3) Comparar a capacidade de adaptação da biomassa exposta aos diferentes níveis de concentrações de Cr(VI);
- (4) Verificar a eficiência de remoção de matéria orgânica e nitrogênio dos efluentes do RBS1 - reator controle - e do RBS2 - reator que recebe doses tóxicas de Cr(VI) - por meio de análises físicas e químicas.

1.3 Organização da Dissertação

Os capítulos que incorporam esta dissertação, estão organizados conforme a seguinte estrutura:

O Capítulo 2 trata -se de uma revisão da literatura no qual são apresentados conceitos teóricos pertinentes a esta dissertação, cuja finalidade é a de promover uma melhor compreensão sobre o assunto estudado e embasar a discussão.

No Capítulo 3, material e métodos, descreve-se a montagem, os procedimentos operacionais e analíticos do sistema operacional para avaliação da toxicidade aguda e crônica de cromo hexavalente Cr(VI).

No Capítulo 4 estão apresentados os resultados e a discussão obtidos através dos testes respirométricos para análise da toxicidade aguda e crônica de Cr(VI) em sistema de lodo ativado, bem como os parâmetros de desempenho referentes à eficiência de remoção de matéria orgânica e nitrogênio.

No Capítulo 5 estão formuladas as conclusões da discussão dos resultados obtidos nesse estudo.

CAPÍTULO 2

2. REVISÃO DA LITERATURA

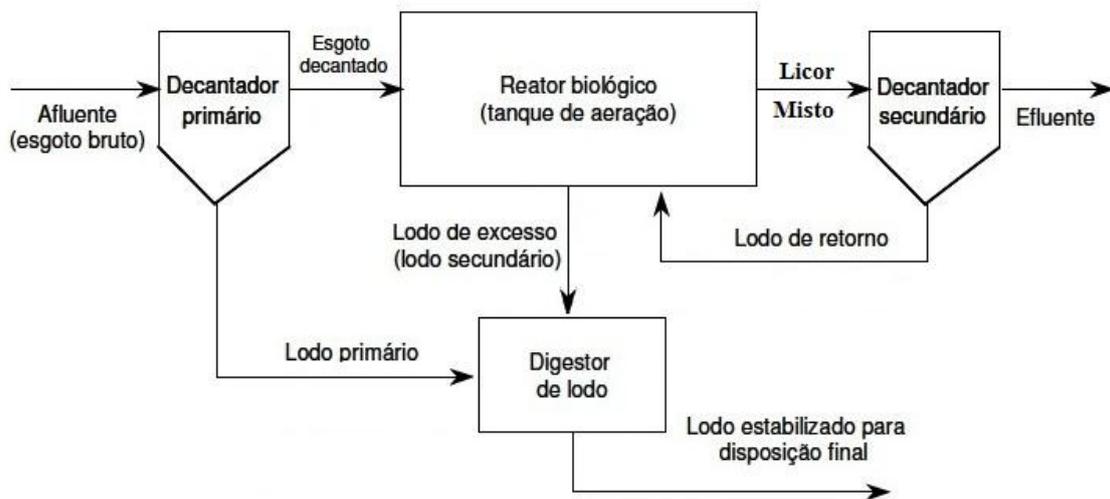
2.1 Lodo Ativado

O sistema de lodo ativado é o processo de tratamento biológico mais utilizado no mundo para águas residuárias domésticas e industriais, com capacidade de obtenção de efluente essencialmente livre de sólidos em suspensão e material orgânico, com possibilidade de remoção dos nutrientes nitrogênio e fósforo em determinadas configurações (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999).

Neste processo de tratamento, é possível obter um efluente com baixa concentração de matéria orgânica, podendo alcançar até 98% de eficiência na remoção de DBO, sendo esta eficiência do sistema convencional entre 85% - 93%, enquanto que a do sistema de aeração prolongada é de cerca de 93% - 98% (SPERLING, 2002). No entanto, inclui um índice de mecanização superior ao de outros sistemas de tratamento, implicando em uma operação mais sofisticada e em maiores consumos de energia elétrica (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999; VON SPERLING, 2002).

O princípio do sistema de lodo ativado baseia-se no metabolismo do material orgânico em água residuária por uma biomassa que se mantém num reator. Neste processo metabólico parte do material orgânico é oxidada, enquanto o restante é incorporado na biomassa. O processo é constituído, basicamente, por um reator biológico (tanque de aeração), cuja a matéria orgânica dos efluentes é metabolizada biologicamente por uma comunidade microbiana, seguido por um decantador secundário, onde ocorre a sedimentação, processo responsável pela separação do efluente tratado e pela biomassa formada. O lodo decantado é recirculado para o reator biológico, de forma a manter a concentração de microrganismos elevada, aumentando as taxas de depuração do efluente. Um esquema do sistema convencional de lodo ativado proposto por van Haandel & Marais (1999) é apresentado na Figura 2.1.

Figura 2.1: Representação esquemática do princípio de funcionamento do sistema de lodo ativado convencional.



Devido à recirculação do lodo, a concentração de sólidos em suspensão no tanque de aeração é bastante elevada. O tempo de detenção hidráulica é baixo, da ordem de horas, resultando num volume do reator reduzido. Dessa forma, devido à recirculação dos sólidos, esses permanecem no sistema por um tempo superior ao do líquido. É essa maior permanência dos sólidos no tanque de aeração que garante a elevada eficiência dos sistemas de lodos ativados, já que a biomassa tem tempo suficiente para metabolizar praticamente toda a matéria orgânica das águas residuárias (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999).

2.1.1 Microrganismos presentes em Sistemas de Lodo Ativado - SLA

A biomassa ou o lodo do sistema de lodos ativados consistem em uma complexa associação de microrganismos composta por bactérias, protozoários, fungos e micrometazoários que oxidam os compostos orgânicos e inorgânicos presentes nos efluentes (BENTO *et al.*, 2005) Esses organismos ocorrem em grandes populações, principalmente as bactérias, que estão presentes em quantidades que variam em média entre 1 a 38×10^6 /ml, enquanto que os protozoários ocorrem em aproximadamente cerca de 5×10^4 /ml, representando cerca de 5% do peso dos sólidos em suspensão do lodo (HORAN, 1990).

Os flocos biológicos que compõem o sistema de lodo ativado consistem em aglomerados de microrganismos com composição altamente heterogênea, sendo

formados por dois tipos de componentes: o biológico, constituído por uma grande variedade de bactérias, protozoários, fungos e alguns micrometazoários; e um componente não biológico composto por grande quantidade de materiais particulados e coloidais orgânicos e inorgânicos, todos juntos numa matriz orgânica compacta (JENKINS *et al.*, 1993).

A comunidade estabelecida nesse sistema é dinâmica e fundamental ao tratamento, sendo que cada espécie tem sua importância para o bom funcionamento do sistema (AMMAN *et al.*, 1997).

No sistema são encontradas bactérias que dependem da oxidação de compostos para obtenção de energia. Em águas residuárias, há basicamente, dois substratos que podem ser oxidados: o material orgânico e o nitrogênio na forma de amônia. As bactérias heterotróficas usam o material orgânico tanto como fonte de energia como para sínteses de material celular. As bactérias autotróficas utilizam apenas o dióxido de carbono como fonte nutritiva. As heterotróficas são responsáveis pela remoção de matéria orgânica, enquanto que o processo nitrificante (oxidação de amônia) é realizado pela ação de dois grupos de bactérias autotróficas. O primeiro grupo, predominantemente pertencendo ao gênero *Nitrosomonas*, é responsável pela nitrificação, isto é, a oxidação da amônia a nitrito. Já o segundo grupo, pertencendo predominantemente ao gênero *Nitrobacter*, promove a conversão do nitrito em nitrato, etapa designada por nitratação (METCALF e EDDY, 1991).

O metabolismo ou a utilização do material orgânico pelas bactérias nos sistemas de lodos ativados tem duas vertentes: (1) anabolismo, que é a conversão de material orgânico em massa bacteriana e (2) catabolismo, que é o consumo de oxigênio para oxidação de material orgânico e geração de energia, necessária ao anabolismo (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999). Segundo Marais e Ekama (1976) é utilizado 1/3 do material orgânico para o catabolismo e 2/3 desse material para o anabolismo.

Mudanças nas condições ambientais provenientes da composição do afluente no reator, ou mesmo da operação do sistema, podem levar a alterações na comunidade do lodo, influenciando os processos de biodegradação e, portanto, reduzindo a qualidade do efluente tratado (MADONI *et al.*, 1996; DALZELL *et al.*, 2002).

2.1.2 Reator Sequencial por Batelada - RBS

Sistemas de lodo ativado operados em reatores de fluxo intermitente ou sequencias por batelada - RBS têm sido propostos como alternativa aos processos convencionais de fluxo contínuo. O princípio do processo de lodo ativado com operação intermitente consiste na incorporação de todas as etapas do tratamento em um único reator. Isso é alcançado por meio do estabelecimento de ciclos de operação com durações definidos, compostos por cinco etapas básicas que ocorrem num mesmo reator: alimentação, reação, sedimentação, retirada do efluente e repouso. Depois dessas fases inicia -se um novo ciclo com a alimentação (JORDÃO E PESSÔA 2005).

Principais características de cada etapa do ciclo:

Alimentação - Consiste na adição do efluente, contendo substrato para a atividade microbiana;

Reação - Com o reator cheio com a água residuária a ser tratada é ligado o sistema de aeração, o licor misto (água residuária mais lodo) fica em suspensão através de agitação e/ou aeração para oxidação biológica da matéria orgânica, no final da aeração é feito o descarte do lodo excedente, quando necessário;

Sedimentação - Interrompe-se a agitação e/ou aeração para repouso do efluente sem interferência de entrada e saída de líquidos, os sólidos sedimentam-se;

Descarte do efluente tratado - O efluente clarificado é removido;

Repouso - Feito isso, a biomassa permanece em repouso até que um novo ciclo se reinicie.

Na Figura 2.2 é mostrada uma representação esquemática das fases de operação de um RBS.

Figura 2.2 – Representação esquemática das fases de operação de um RBS.



Fonte: Adaptado de Jordão e Pessoa (2005).

Os reatores sequenciais por batelada apresentam vantagem em relação aos sistemas de fluxo contínuo, sendo as mais importantes a redução de custos de investimento e a possibilidade de implementar com relativa facilidade automação do sistema de tratamento, que ao menos em princípio, dispensa a presença contínua de operadores. Os RBS mais avançados de lodo ativado são aqueles que além da remoção de material orgânico, também efetuam a remoção dos macronutrientes nitrogênio e fósforo (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999). Na presente investigação experimental, a variante RBS do sistema de lodo ativado foi utilizada.

Este trabalho tem ênfase na determinação da influência de composto tóxico sobre o crescimento específico máximo dos microrganismos heterotróficos e autotróficos, bem como a interferência na eficiência do sistema, sendo utilizado a respirometria para tal fim.

A respirometria permite avaliar o efeito tóxico de algum componente afluente, realizar o balanço de massa em sistemas de tratamento de lodo ativado e determinar as constantes cinéticas de organismos heterotróficos e autotróficos presentes em sistemas de tratamento aeróbio.

2.2 Metais Pesados

A denominação atribuída aos metais pesados tem sido historicamente controversa, mesmo sendo um termo comumente usado, diversas pesquisas relatam definições distintas o que reflete à inconsistência na literatura científica. Metais são elementos que conduzem eletricidade, possuem baixa eletronegatividade, brilho característico, alto ponto de fusão e ebulição, maleabilidade e ductilidade. A partir desta definição, aproximadamente 80% dos elementos químicos podem ser descritos como metais, evidenciando-se assim a necessidade da classificação.

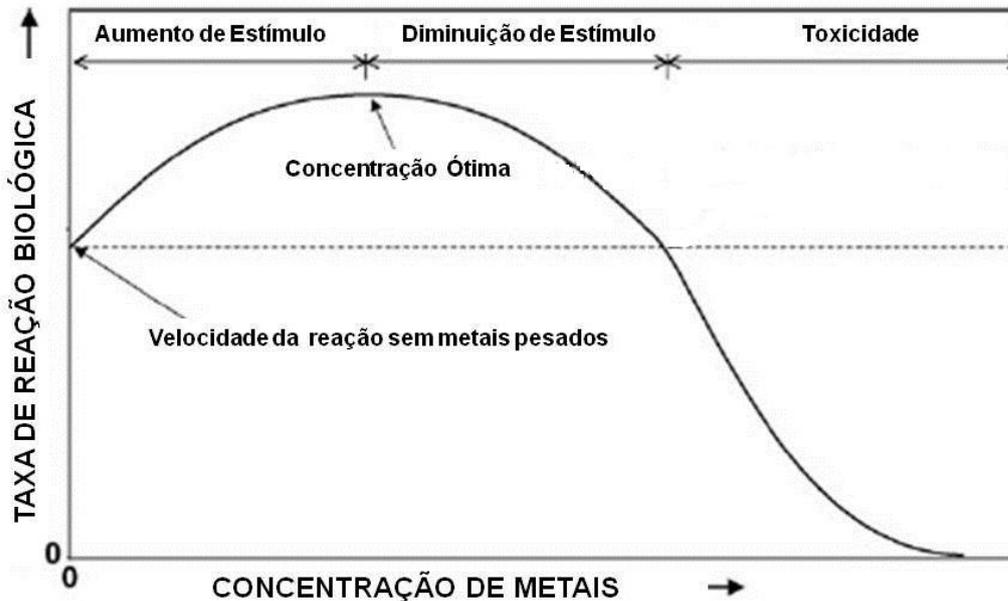
Convencionalmente, o termo "metal pesado" refere-se ao elemento puro ou a uma liga dos elementos metálicos com alta densidade. Consensualmente, o metal é considerado pesado quando, em sua forma elementar, apresenta uma densidade igual ou maior a 5 g/cm³ (NIES, 1999; PIVELI *et al.*, 2005; ROANE, PEPPER, 2000; MARQUES, 2000).

2.2.1 Toxicidade de Metais Pesados em Sistemas de Lodo Ativado

Os metais pesados estão incluídos na categoria de poluentes ambientais que permanecem, indefinidamente, no meio ambiente (GRATÃO *et al.*, 2005), pois diferente da matéria orgânica, não podem ser degradados, e portanto, se acumulam na água, no solo, nos sedimentos mais profundos e nos organismos vivos (MIRETZKY *et al.*, 2004).

A fauna dos lodos biológicos, composta, principalmente, de bactérias, tem comportamento variado quanto à presença de metais pesados (LASKAUSKAITE, 1989). Os metais têm um efeito dual no crescimento microbiano e agem tanto como elementos-traços quanto como inibidores. A resposta de microrganismos à presença de metais pesados é demonstrado na Figura 2.3, esquematizada já em 1964 por McCarthy (1964).

Figura 2.3 - Efeito da concentração de metais pesados em reações biológicas.



Fonte: Adaptado de McCarthy (1964).

A Figura 2.3 classifica estes efeitos em relação com a concentração de metal pesado, em três zonas: (1) a zona de aumento da estimulação; (2) a zona de diminuição da estimulação; e, (3) a zona de toxicidade. A adição de pequenas quantidades de metais pesados à célula é geralmente benéfica para o crescimento celular, até o ponto em que a concentração ótima é ultrapassada e uma diminuição do efeito de estimulação é observada. Um aumento adicional da concentração de metais pesados terá um efeito adverso sobre o crescimento das células, até que ocorra redução completa da atividade microbiana. Segundo Gikas e Romanos (2006), este tipo de comportamento, no entanto, depende do tipo de microrganismo e do metal pesado em particular, uma vez que os microrganismos têm a capacidade de se adaptar com o tempo para as concentrações, relativamente, mais elevadas de metais pesados, de acordo com um processo chamado de aclimatação. Quando os metais pesados são aplicados às culturas mistas, tais como lodos ativados, a tolerância é grande, devido à alta diversidade dos microrganismos presentes no processo. Assim, algumas espécies podem ser, significativamente, afetadas, enquanto outros podem se adaptar ao novo ambiente.

Sendo assim, a avaliação da qualidade da biomassa de lodos é de fundamental importância para o controle eficiente do tratamento de efluentes contendo cargas tóxicas. Os critérios utilizados para tal avaliação envolvem um

grande número de variáveis físicas, químicas e biológicas, necessárias para compreender a complexidade de interações entre os toxicantes e os microrganismos.

Os testes de toxicidade representam importantes ferramentas na compreensão dos efeitos de impactos sobre os compartimentos bióticos, utilizando-se dos organismos vivos como biosensores (CAIRNS *et al.*, 1988). Esses testes podem avaliar a toxicidade de diversas substâncias químicas para uma ou diversas espécies, assim como a sensibilidade dessas espécies ao agente tóxico (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008), sendo, esses testes, importantes na determinação de concentrações tóxicas para preservação dos microrganismos e para a qualidade dos efluentes. Segundo van Haandel & Marais (1999), a determinação da Taxa de Consumo de Oxigênio - TCO é o teste mais adequado para se obter informações sobre os processos aeróbios de tratamento.

Os ensaios de toxicidade podem ser classificados de acordo com os efeitos que os organismos apresentam durante o tempo de exposição dos ensaios, em: Toxicidade Aguda e Crônica.

2.2.1.1 Toxicidade Aguda

Toxicidade aguda é o efeito deletério aos organismos vivos causados por agentes físicos ou químicos, resultando, normalmente, a letalidade ou alguma outra manifestação que a antecede, em um curto período de exposição.

Os ensaios de toxicidade aguda são usados para determinar o efeito da concentração de uma substância aos organismos por um curto tempo de exposição, que resulta em danos biológicos severos ou a morte (PANKRATZ, 2001). Normalmente, os ensaios de toxicidade abrangem apenas parte do ciclo de vida do organismo-teste e avaliam a mortalidade ou a imobilidade dos organismos; e influências em reações bioquímicas, metabolismo, entre outros.

Para Silva (2002), a toxicidade aguda pode ser expressa através do parâmetro CL50, que corresponde à concentração que causa o efeito (letalidade) a 50% da população testada.

2.2.1.2 Toxicidade Crônica

A toxicidade crônica é interpretada pela resposta a um estímulo contínuo, geralmente por períodos que podem abranger parte ou todo o ciclo de vida do organismo teste.

Os ensaios de toxicidade crônica são usados para determinar o efeito adverso da concentração da substância em organismos testes, a partir da exposição prolongada (PANKRATZ, 2001). Os ensaios de toxicidade crônica são utilizados quando se deseja avaliar os efeitos sobre as funções biológicas, tais como reprodução e crescimento.

Os resultados da toxicidade crônica podem ser determinados em CENO (concentração de efeito não observado) - que é maior concentração que não causa efeito deletério aos organismos.

2.2.2 Características do Metal Pesado Estudado

2.2.2.1 Cromo: Origens e aplicações

O cromo ocorre naturalmente em rochas, solos, emissões vulcânicas e em concentrações reduzidas em água natural e, conseqüentemente, em plantas e animais. O cromo é o sétimo elemento mais abundante na Terra, o 21º elemento mais abundante na crosta terrestre, com uma concentração média de 100 ppm (CERVANTES E CAMPOS-GARCIA, 2007).

O cromo é principalmente usado no processo de revestimento de proteção dos acessórios e equipamentos automobilísticos, em componentes plástico para a resistência à corrosão, na pesquisa nuclear e como constituinte de pigmentos inorgânico (BARNHART, 1997). A maioria dos aplicativos de cromo são na metalurgia, siderurgia, galvanoplastia, curtumes, construção e na indústria de corantes e tintas (ELLIS *et al.*, 2002). O cromo é também usado como um aditivo na produção de fitas magnéticas, como aditivo para gasolina, em agentes de limpeza de vidro de laboratório, como agente de titulação (dicromato de potássio), como um suplemento dietético (em quantidades vestigiais), como catalisadores e em muitas outras aplicações. Como o cromo é amplamente utilizado como matéria-prima industrial, seus compostos são muitas vezes lançado em águas superficiais, águas

subterrâneas e em águas residuais, conseqüentemente, o cromo se tornou um metal de importância ambiental.

2.2.2.2 Especificação

Cromo é um elemento químico, sob o símbolo Cr, com número atômico 24, massa atômica 51,996, classificados em metal de transição, com alto ponto de fusão (1907° C). Foi nomeado por seus compostos intensamente coloridos, seu nome deriva da palavra grega "chroma", que significa cor. Seus compostos apresentam uma ampla gama de estados de oxidação possíveis de -2 até $+6$, mas os mais comuns são cromo trivalente [Cr(III)] e hexavalente [Cr(VI)] devido à sua estabilidade na água, sendo os compostos Cr(III) ainda mais estáveis. A diferença entre os dois estados de oxidação refletem não só mudanças em suas propriedades físico-químicas, bem como em sua reatividade química e bioquímica (CERVANTES, *et al.*, 2001; KOTÁS, STASICKA, 2000).

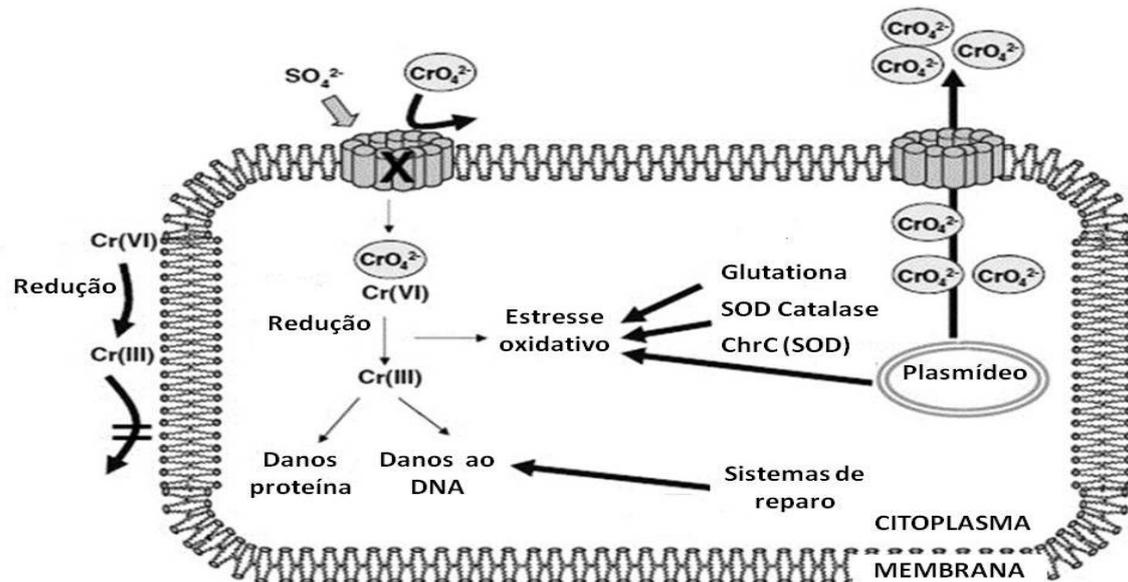
2.2.2.3 Papel bioquímico

Muitas espécies de bactérias acumulam os metais pesados por meio de duas vias de entrada, uma inespecífica e outra de grande especificidade. A primeira ocorre através de um gradiente quimiosmótico da membrana citoplasmática - que é o transporte passivo das substâncias para dentro ou para fora da célula - e a segunda envolve hidrólise de ATP - que é o transporte ativo, o que requer da célula gasto de energia para o transporte das substâncias (NIES; SILVER, 1995). De maneira geral, as proteínas envolvidas no transporte passivo de íons são expressas, constitutivamente, pelas células, enquanto a expressão das proteínas de transporte ativo é regulada.

O cromato (CrO_4^{-2}) entra na célula pela via de assimilação passiva de sulfato (SO_4^{-2}), esta ação é permitida devido à semelhança entre os ânions SO_4^{-2} e CrO_4^{-2} , dispondo de quatro átomos de oxigênio arranjados tetraedricamente e duas cargas negativas (BRUINS *et al.*, 2000; GHARIEB; GADD, 2004; CERVANTES E CAMPOS-GARCIA, 2007). Em contrapartida, a maioria das células são impermeáveis a Cr(III), que formam compostos insolúveis em ambientes com pH neutro e ligeiramente básico. Cr(VI) é mais móvel do que o Cr(III) e pode atravessar a membrana

relativamente mais facilmente. Uma vez dentro da célula, o Cr(VI) é facilmente reduzido a Cr(III) que em seguida, pode exercer efeitos diferentes no citoplasma, como estresse oxidativo, danos as proteínas e ao DNA (BENCHEIKE - LATMANI *et al.*, 2007; CERVANTES E CAMPOS-GARCIA, 2007). Na Figura 2.4 estão esquematizados os mecanismos de transporte de cromato, o efeito da toxicidade e a resistência em células bacterianas.

Figura 2.4 - Representação esquemática do cromato em células bacterianas.



Fonte: adotada por RAMÍREZ-DÍAZ *et al.* (2008).

Deste modo, o Cr(VI) é altamente tóxico para a maioria das bactérias, enquanto que o Cr(III) é relativamente inócuo, devido à sua insolubilidade e subsequente incapacidade para penetrar as membranas celulares.

Em altas concentrações de SO_4^{2-} , a entrada de cromato na célula é inibida, no entanto, quando existe restrição de sulfato e presença de cromato, a bactéria tende a aumentar o mecanismo de captação de sulfato, causando o aumento dos níveis de cromato no interior da célula.

A resistência celular ao cromo é baseada em três mecanismos:

1) bombas de efluxo - os sistemas de plasmídeos estão relacionados mais, especificamente, a mecanismos de efluxo, pois permitem o bombeamento de íons

tóxicos do meio intracelular para o extracelular (BRUINS *et al.*, 2000, CERVANTES E CAMPOS-GARCIA, 2007; RAMÍREZ-DÍAZ *et al.*, 2008).

2) biossorção em moléculas ricas em grupamentos tióis (SH) - por este mecanismo, ocorre a imobilização do metal, prevenindo sua toxicidade. Essas moléculas podem ocorrer na superfície celular, como exopolímeros, ou ainda, como moléculas semelhantes à glutatona, presentes no interior da célula (ROANE; PEPPER, 2000).

3) mudança do estado de oxidação do íon - alteração para um estado oxidativo menos tóxico pode ocorrer por redução, por metilação ou por formação de complexos que resultem na precipitação de sais de metais insolúveis. A bactéria pode reduzir Cr(VI) em ambas as condições aeróbicas e anaeróbicas através de sistemas de transporte de elétrons contendo citocromos (BRUINS *et al.*, 2000, CERVANTES E CAMPOS-GARCIA, 2007; RAMÍREZ-DÍAZ *et al.*, 2008).

A resistência natural ao cromo, na verdade, refere-se à aclimação gradual e pode ser atribuída a mutações nos componentes celulares ou por alterações na composição da membrana celular, o que, subsequentemente, diminui a sensibilidade aos metais. Os microrganismos também podem se proteger através da produção de proteínas específicas resistentes ao metal ou alternando vias bioquímicas em um esforço para contornar os componentes sensíveis (BRUINS *et al.*, 2000; CERVANTES E CAMPOS-GARCIA, 2007).

2.2.2.4 Efeitos de Cr(VI) em Lodo Ativado

Os efeitos do cromo hexavalente em lodo ativado têm sido estudados mais, extensivamente, em comparação com os de cromo trivalente, provavelmente devido às implicações mais graves de Cr(VI) sobre o crescimento microbiano, em comparação com o Cr(III). Todas as pesquisas concordam que o Cr(VI) afeta o crescimento de lodo ativado, porém há uma grande variação na gravidade dos efeitos. A inibição da respiração microbiana depende se o lodo ativado foi aclimatado ou não ao cromo hexavalente. A presença de Cr(VI) em lodo ativado não aclimatado inibe severamente as reações catabólicas, enquanto que na biomassa aclimatada, inibe em primeiro lugar as reações anabólicas.

Stasinakis *et al.* (2002) estudaram o efeito do Cr(VI) sobre a cinética bacteriana de biomassa heterotrófica de lodo ativado aclimatado e não aclimatado.

Avaliando em específico a taxa de crescimento máxima (μm) e produção de biomassa (YH), os valores foram determinados através da medição da taxa de consumo de oxigênio e do aumento de concentração de sólidos suspensos voláteis. Verificaram-se que concentrações iguais ou superiores a 10mgCr(VI)/L inibiram o crescimento de lodos ativados não aclimatados e causaram uma redução significativa em (μm) e valores (YH), enquanto, com a aclimação da biomassa o efeito inibidor do Cr(VI) foi reduzido.

Gokcay e Yetis em 1991 reportaram que uma cultura aclimatada de lodo ativado é completamente capaz de lidar com o Cr (VI) e, além disso, a cultura pode ser, significativamente, estimulada. Nesse estudo, demonstraram-se que todas as concentrações testadas 1, 5, 10 e 25mgCr(VI)/L estimularam expressamente a taxa de crescimento máxima.

Gikas e Romanos (2006) encontraram aumento na produção de biomassa e estimulação da taxa específica de crescimento em bactérias heterotróficas em lodo não aclimatado em até 25mg/L, sendo registrada a taxa máxima de crescimento em 10mg/L, enquanto que a dose letal foi estimada entre 80 e 160mg/L.

A grande variedade de resultados que se encontra na literatura pode ser atribuída a: (1) à elevada diversidade de comportamento do lodo ativado; (2) ao sistema que foi utilizado para o crescimento de microrganismos (fluxo contínuo ou reatores sequencias por batelada - RBS); (3) à concentração de lodo ativado durante o período de ensaio (desde o Cr(VI) pode ser adsorvida a partir da biomassa); (4) à idade de lodo; (5) à aclimação da biomassa ao Cr(VI) e, finalmente, (6) aos diferentes métodos de medição e as técnicas utilizadas pelos pesquisadores.

Diversos métodos têm sido propostos para medir a toxicidade do metal em sistemas de lodo ativado, os mais comumente utilizados incluem a medição da atividade enzimática, e a medição da taxa respiratória (VANKOVA *et al.*, 1999; STASINAKIS *et al.*, 2002; ZERDAZI *et al.*, 2012) e a influência sobre parâmetros de crescimento dos microrganismos (GIKAS E ROMANOS, 2006). Neste trabalho, a respirometria foi adotada como técnica de avaliação de toxicidade.

2.3 Respirometria

A respirometria é uma técnica aplicada na medição da Taxa de Consumo de Oxigênio - TCO, visto que, nesta técnica aproveita-se do fato que tanto durante a degradação da matéria orgânica por microrganismos heterotróficos, como na oxidação de amônia por autotróficos, há consumo de oxigênio. O respirômetro é o instrumento utilizado neste processo. O uso da TCO para avaliação dos processos biológicos que ocorrem em sistemas de lodo ativado, operando sobre condições dinâmicas, tem sido realizado por diversos pesquisadores (DOLD *et al.*,1980; SPANJERS *et al.*,1996; VAN HAANDEL & MARAIS, 1999; SILVA FILHO, 2009; SANTOS, 2009).

Van Haandel (1999) empregaram a respirometria no controle operacional de sistemas de lodo ativado, determinando as constantes cinéticas de organismos autotróficos e heterotróficos; o balanço de massa do material orgânico e nitrogenado; a toxicidade de afluentes; a atividade de lodo em termos da taxa máxima de utilização do material orgânico e o grau de estabilização de lodo em digestores aeróbios. Segundo Fernandes (1999) a TCO é um parâmetro particularmente adequado para avaliar o desempenho de um sistema de tratamento, não somente por que o seu valor pode ser relacionado diretamente com a atividade microbiana no sistema, mas, também, por que a natureza do teste da TCO é tal que, há a possibilidade de obtenção de dados continuamente ou semicontinualmente sem destruição do lodo.

Os respirômetros baseiam-se na medida da concentração de oxigênio na fase líquida e na concentração de oxigênio na fase gasosa (SPANJERS *et al.*, 1996). Neste trabalho a respirometria foi baseada em medições na fase líquida.

2.3.1 Tipos de Respirômetros:

Os respirômetros variam desde equipamentos mais simples operados manualmente, até equipamentos sofisticados totalmente automatizados, que utilizam o próprio tanque de aeração da estação de tratamento de esgotos como a câmara de reação. Entretanto, Spanjers *et al.* (1998) apontam que, para fins de pesquisa, ainda prevalece o uso de equipamentos configurados como protótipos,

desenvolvidos em escala de laboratório e baseados, usualmente, em medidas da taxa de respiração a partir de sensores de OD.

Ros (1993) classifica os respirômetros em dois tipos: Respirômetros Fechados e Respirômetros Abertos.

2.3.1.1 Respirômetros Fechados

São respirômetros que não permitem trocas gasosas entre o ambiente e o material, podendo ser manométricos, volumétricos ou combinados. Como exemplos de respirômetros fechados, têm-se o frasco padrão de DBO e o aparelho Warburg.

A aplicação dos respirômetros fechados é normalmente desvantajosa por não se considerar a reoxigenação do meio - fenômenos importantes como o estabelecimento da TCO endógena e o início da TCO exógena tornam-se difíceis de serem identificados. Para distinguir essas duas formas diferentes de utilização de oxigênio, fala-se em respiração exógena para a oxidação de material extracelular e de respiração endógena para a oxidação de material intracelular da massa bacteriana.

2.3.1.2 Respirômetros Abertos

São respirômetros que permitem trocas gasosas entre o ambiente e o material, considerando a reoxigenação através de aeradores em sua estrutura de funcionamento. Respirômetros abertos apresentam vantagens em relação aos fechados pelo fato de possibilitarem a medição da TCO diretamente do reator de lodo ativado, podendo ser medida tanto a TCO exógena, quanto a endógena, sem necessidade de suspensão da operação do sistema, principalmente quando se trata de determinar a toxicidade de afluentes (VAN HAANDEL *et al.*, 1998). A utilização dos respirômetros abertos permite determinar a TCO em sistemas de lodo ativado ou bateladas de lodo com substratos adicionados, através do método contínuo ou semicontínuo.

2.3.2 Determinação da TCO pelo Método Contínuo

Na determinação da TCO pelo método contínuo, a aeração não é interrompida, no entanto, a taxa de transferência de oxigênio não é constante porque a concentração de oxigênio dissolvido no líquido varia em função do tempo.

Com o registro do valor da concentração de OD_t em função do tempo, dispondo da constante de transferência de oxigênio (K_{la}), aplica-se a seguinte Equação (2.1):

$$TCO = K_{la} (OD_s - OD_t) - \Delta OD / \Delta t \quad (2.1)$$

Sendo:

TCO: Taxa de Consumo de Oxigênio ($mgO_2.L^{-1}.h^{-1}$);

OD_s : Concentração de saturação de oxigênio ($mgO_2.L^{-1}$);

OD_t : Concentração de oxigênio dissolvido no licor misto ($mg.L^{-1}$);

ΔOD : Variação da concentração de oxigênio dissolvido ($mgO_2.L^{-1}$);

Δt : Intervalo de tempo.

K_{la} = Constante de transferência

O método contínuo pode ser aplicado diretamente em reatores de escala real, por não ser necessário a interrupção da aeração, além de fornecer uma medida contínua da TCO. A desvantagem é que é preciso saber o valor da constante de transferência de oxigênio

2.3.3 Determinação da TCO pelo Método Semicontínuo

O método semicontínuo é bastante simples, baseia-se na interrupção de períodos de aeração a partir da variação da concentração de oxigênio dissolvido em função do tempo (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999). Através da aeração, a concentração de OD é elevada de uma referência inferior ($OD_{inf.}$) até uma referência superior ($OD_{sup.}$), sendo interrompida automaticamente pelo software. O decréscimo

de OD, empregado no consumo dos microrganismos para a atividade metabólica, é registrado em função do tempo até que estabeleça a referência inferior pré-fixada, logo à aeração é reiniciada.

Durante o período sem aeração, o software calcula os valores da TCO por regressão linear, conforme a Equação (2.2):

$$TCO = \frac{\Delta OD}{\Delta t} = \frac{OD_{sup} - OD_{inf}}{t_1 - t_0} \quad (2.2)$$

Sendo:

TCO: Taxa de Consumo de Oxigênio ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$);

OD_{sup} : Valor de oxigênio dissolvido de referência superior ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$);

OD_{inf} : Valor de oxigênio dissolvido de referência inferior ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$);

Δt : Intervalo de tempo entre OD_{sup} e OD_{inf} .

Um aspecto importante para obter valores confiáveis da TCO usando o método semicontínuo é a definição das referências de concentração de OD superior e inferior (VAN HAANDEL *et al.* 1998). Em princípio é interessante que a diferença seja pequena, porque assim aumenta a frequência de pontos de medição da TCO. No entanto, devido às oscilações naturais da TCO e do ruído no sistema eletrônico, provocado pelo efeito da relaxação, a diferença não deve ser muito pequena para evitar erros nas determinações da TCO. Van Haandel e Marais (1999) apontam que uma diferença de 2 mg/l dá bons resultados para um sistema de lodo ativado que opera sob condições normais, TCO variando entre 20 e 60 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

Os valores de referência de oxigênio dissolvido devem ser definidos de maneira que o OD superior seja atingido em um curto espaço de tempo através da aeração e o OD inferior com atenção para que não seja um fator limitante na respiração das bactérias.

Para que a TCO não seja influenciada pela concentração de OD, a concentração inferior deve ser maior que a concentração crítica, normalmente o OD crítico é para valores inferiores a 1mg/L (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999). Em relação à concentração superior, não está determinada um valor a priori. Por um

lado, com a referência superior alta, obtém -se dados confiáveis, pois a reta da diminuição de OD em função do tempo é mais longa e quaisquer oscilações da TCO durante o teste, bem como o efeito da relaxação são minimizados; por outro lado, o número de determinação por unidade de tempo é baixo, o que é uma desvantagem quando a valor da TCO varia rapidamente (VAN HAANDEL E CATUNDA, 2014).

Acrescentam ainda van Haandel e Catunda (2014), que nos sistemas em escala real não é possível determinar a TCO pelo método semicontínuo diretamente no tanque de aeração de sistemas em escala real, uma vez que os motores dos aeradores danificam-se rapidamente ao serem ligados e desligados com muita frequência. Além do mais, quando a aeração fosse interrompida, também não haveria mais agitação do licor misto, ocasionando a sedimentação do material suspenso, não permitindo uma leitura correta da TCO.

Nesse caso, à alternativa de usar o método semicontínuo em reatores de grande porte é retirar amostras do lodo do tanque de aeração ou construir um reator em escala de bancada com as mesmas condições do sistema real.

As relações seguintes devem ser mantidas conforme a Equação (2.2.1):

$$Rh = V_r/Q_a = v_r/q_a \quad (2.2.1)$$

Sendo:

R_h : Tempo de permanência hidráulica;

V_r : Volume útil do reator em escala real(L);

Q_a : Vazão afluyente do sistema em escala real(L/d);

v_r : Volume útil do reator em escala de laboratório(L);

q_a : Vazão afluyente para reator em escala de laboratório (L/d).

Para a investigação experimental dessa dissertação, foi utilizado o respirômetro modelo *Beluga S4.0C*, do tipo aberto e aeração de forma semicontínua para determinações da TCO, desenvolvido no Departamento de Engenharia Elétrica da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG (CATUNDA *et al.*, 1996).

CAPÍTULO 3

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Introdução

Neste capítulo serão descritos a montagem, os procedimentos operacionais e analíticos do sistema operacional para avaliação da toxicidade aguda e crônica de cromo hexavalente Cr(VI). O sistema constitui-se de dois reatores de lodo ativado operados em regime de bateladas sequenciais - RBS1 e RBS2: sendo que o primeiro recebia águas residuárias e o segundo, além de água residuária, recebia também a substância tóxica cromo hexavalente Cr(VI). A respirometria foi utilizada para determinar a capacidade metabólica dos lodos gerados nos dois reatores.

A presente pesquisa foi realizada na Estação Experimental de Tratamentos Biológicos de Esgotos Sanitários (EXTRABES), em Campina Grande - PB, numa área pertencente à Universidade Federal de Campina Grande e à Universidade Estadual da Paraíba (UFCG/UEPB), no laboratório do grupo de pesquisa do Programa de Saneamento Básico (PROSAB), no período de setembro /2012 a dezembro /2013.

3.2 Composto Tóxico

3.2.1 Seleção e Concentrações do Metal Pesado Estudado

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas - NBR 10004, o limite máximo permitido para lançamento de cromo total é de 5mg/L. Dessa forma, foi adotada, inicialmente, para realização dos testes de toxicidade aguda e crônica, a concentração inicial 5mg/L, a fim de observar o quanto, a partir do limite inferior máximo, influencia o desempenho dos microrganismos presentes no sistema de tratamento. Para os testes de toxicidade crônica, a mudança de concentração ocorreu com uma frequência igual ao valor mantido da idade de lodo (15 dias). A cada mudança, duplicou-se a concentração que estava sendo pesquisada. Assim, temos as seguintes concentrações aplicadas nos testes: (5mg/L; 10mg/L; 20mg/L; 40mg/L; 80mg/L; 160mg/L).

3.3 Descrição do Sistema

Os reatores foram construídos em PVC com 150mm de diâmetro e 1m de altura de forma cilíndrica com volume útil de 15L, sendo duas unidades com as mesmas características físicas: O RBS1 - empregado como reator controle e também para a realização de testes agudos e o RBS2 - reator para os testes crônicos. Conforme mostra a Figura 3.1 e 3.2, os reatores possuem uma abertura no fundo do reator para a entrada do esgoto afluyente, uma torneira para retirada do lodo de excesso e um conector na parte superior para saída do efluente.

O esgoto afluyente, é proveniente da rede coletora de esgotos da Companhia de Água e Esgoto da Paraíba (CAGEPA), era bombeado de um ramal do interceptor Leste que transporta os esgotos domésticos da cidade de Campina Grande, passando pelo campo experimental do laboratório. No bombeamento é utilizado um motor-bomba do poço para um tanque de armazenamento com capacidade de 2m³. A partir deste o esgoto era encaminhado para um caixa de equalização de 2000 litros (Figura 3.3). No momento da alimentação o esgoto era bombeado por bombas de drenagem de máquina de lavar roupa do tipo Pcx-a (Figura 3.4.A) para uma caixa de amortecimento com volume de 9 litros (Figura 3.4.B). Em seguida o afluyente entrava pela abertura inferior do sistema por gravidade.

Figura 3.1 - Esquema do sistema - RBS1 e RBS2. **A:** Afluyente; **D:** Difusor de ar; **L:** Lodo de Excesso; **E:** Efluente.

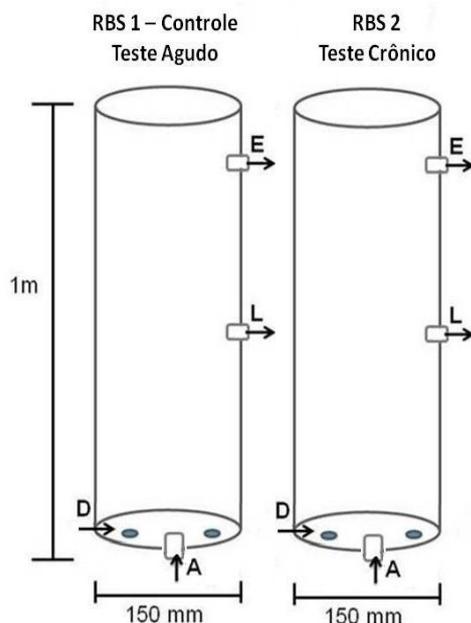
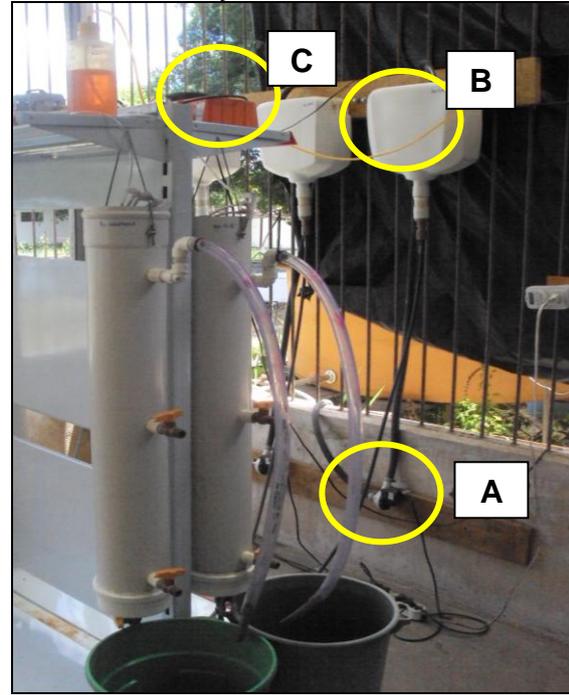


Figura 3.3 - Caixa de equalização do sistema RBS1 e RBS2.



Figura 3.4 - **A:** Bombas utilizadas para alimentação do sistema RBS; **B:** Caixa de amortecimento do sistema RBS; **C:** Bomba dosadora da solução cromada.



O RBS2 recebia as concentrações de (CrVI) através de uma bomba dosadora de ajuste manual da vazão (Figura 3.4.C), que era acionada no momento da alimentação do sistema pelo mesmo temporizador usado para bombear o esgoto. A solução tóxica era recalada para a caixa de amortecimento e, subsequentemente, junto com o afluente alimentava o reator.

Para aeração dos sistemas, foram instalados dois aeradores, um para cada reator, modelo (Air Compressor, BOYU), com capacidade para 50L/min, com moto eletromagnético e potência de 35W, pressão máxima de 0,028 MPa, que insuflava bolhas de ar através de pedras porosas presas no fundo do reator, garantindo o suprimento de oxigênio dissolvido (OD) aos microrganismos. A vazão afluente, a descarga do sobrenadante e o tempo de aeração e sedimentação foram controlados automaticamente através de temporizadores. O descarte do lodo de excesso era realizado manualmente.

3.4 Operação do Sistema

Durante a pesquisa, os reatores foram operados simultaneamente e sob condições ambientais idênticas, programados para operar em Regimes de Bateladas Sequenciais (RBS) com alimentação diária, compreendendo 4 bateladas com uma vazão de 8 litros de esgoto bruto por batelada, totalizando uma vazão de 32 L/d.

A idade de lodo foi estabelecida em 15 dias. A operação dos sistemas, com esse tempo de retenção celular, foi estabelecida para que prevalecesse no sistema uma comunidade estável de bactérias heterotróficas e autotróficas.

O sistema foi operado em seis fases, todavia a descarga do efluente e alimentação do afluente eram realizadas simultaneamente:

1. Alimentação/descarte do efluente - O afluente era introduzido gradualmente na parte inferior do reator em sentido ascendente para que se assegurasse bom contato entre o lodo no sistema e o substrato sendo introduzido. Ao entrar no reator, o afluente provocava uma descarga de igual volume de efluente no topo do reator, enquanto a massa de lodo permanece parada porque a velocidade ascendente do líquido devida à alimentação era compensada pela velocidade de sedimentação do lodo. Esta situação continuava até que se parasse a alimentação, que possuía duração de 1 minuto.
2. Hidrólise do material orgânico - Nesta fase acontecia a quebra de macromoléculas presentes no afluente, tornando-as solúveis e simples.
3. Aeração - Nesta fase aplicou-se aeração para introduzir oxigênio na fase líquida que era utilizado pelos microrganismos para remoção do material orgânico e nutrientes.
4. Descarte de lodo de excesso - Tendo concluído a remoção do material orgânico e nutrientes, era necessário que se desse um descarte ao lodo de excesso para manter a idade de lodo no valor desejado. O volume diário de lodo de excesso é igual à razão entre volume do reator e a idade de lodo ($V_r/R_s = 15/15 = 1$ L/d), que é retirado no momento em que o conteúdo do reator estava completamente misturado, no final da aeração.

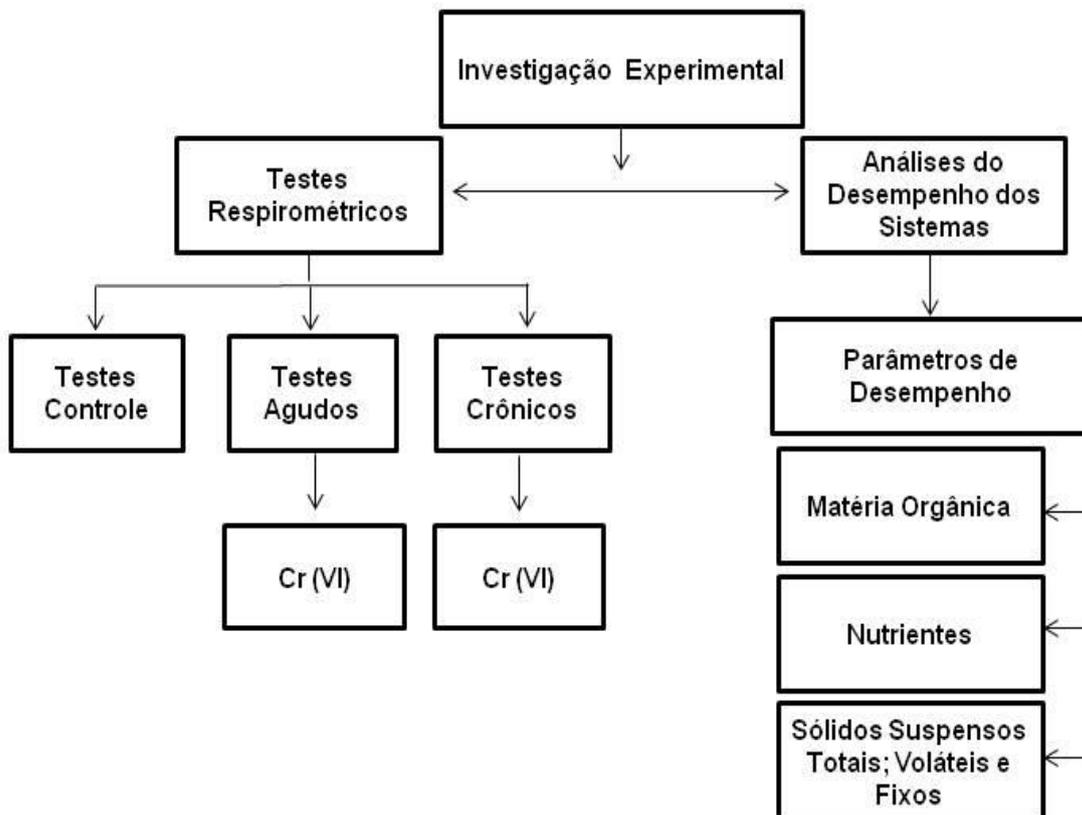
5. Sedimentação de lodo - Na ausência de aeração ocorria a separação das fases líquida (o sobrenadante) e sólida (o lodo) pelo processo de sedimentação.

3.5 Método Experimental

Durante a investigação experimental eram realizados testes para caracterizar os lodos que se geravam nos dois reatores e caracterizar o desempenho dos sistemas de lodo ativado. Nos testes de caracterização dos lodos usou-se a respirometria como técnica de avaliação. Os testes de desempenho eram aqueles que caracterizam a remoção de material orgânico e nutrientes, além da concentração e composição do lodo.

A Figura 3.5 representa um fluxograma dos principais testes realizados durante a fase experimental com intuito de atender aos objetivos propostos nesta dissertação.

Figura 3.5 - Fluxograma representativo das principais etapas da fase experimental.



3.5.1 Testes Respirométricos

Para realização dos testes respirométricos utilizou-se o respirômetro *Beluga S4.0C*, do tipo aberto e aeração de forma semicontínua (CATUNDA *et al.*, 1996). As concentrações de OD estabelecidas como de referências mínima e máxima foram de 1,0 e 3,0 mg/L, respectivamente. Os valores de referência foram escolhidos de acordo com a resposta metabólica do lodo, para que não houvesse erro na leitura da TCO.

O respirômetro *Beluga* calcula a Taxa de Consumo de Oxigênio (TCO) utilizando os dados adquiridos da diminuição da concentração de OD, através de regressão linear apresentada na Equação (3.1):

$$TCO = (dOD/dt) = (OD_{max} - OD_{min})/\Delta t \quad (3.1)$$

Sendo:

TCO: Taxa de consumo de oxigênio ($mgO_2.L^{-1}.h^{-1}$);

OD_{max} : Valor de oxigênio dissolvido de referência superior;

OD_{min} : Valor de oxigênio dissolvido de referência inferior;

Δt : Variação do tempo.

3.5.1.1 Equipamento utilizado para Análise Respirométrica

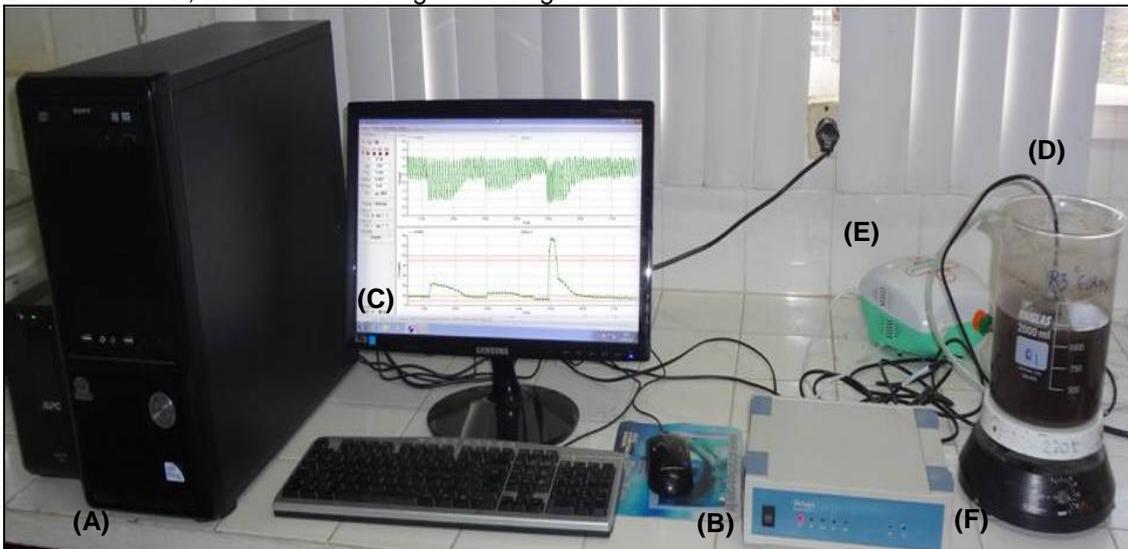
Para os testes respirométricos foi montado um sistema contendo alguns materiais específicos:

- CPU (*Central Processing Unit*) com o software *S4.0C* instalado e seus periféricos (monitor, mouse, teclado);
- Respirômetro *Beluga* com saída para a CPU, aerador e entrada para o eletrodo de OD;
- Aerador de aquário com pedra porosa;
- Eletrodo de oxigênio (Modelo YSI 5718);
- Béquer com 2 litros de capacidade;

- Agitador magnético com bastão, para manter o lodo em suspensão.

Na Figura 3.6 é mostrada uma foto dos equipamentos utilizados nos testes.

Figura 3.6: Equipamentos utilizados para a realização dos testes respirométricos: **A:** CPU - controle do respirômetro e aquisição dos dados; **B:** Respirômetro; **C:** Respirograma; **D:** Eletrodo de OD; **E:** Aerador e **F:** Agitador magnético.



Foi utilizado o seguinte procedimento básico utilizado nos testes respirométricos:

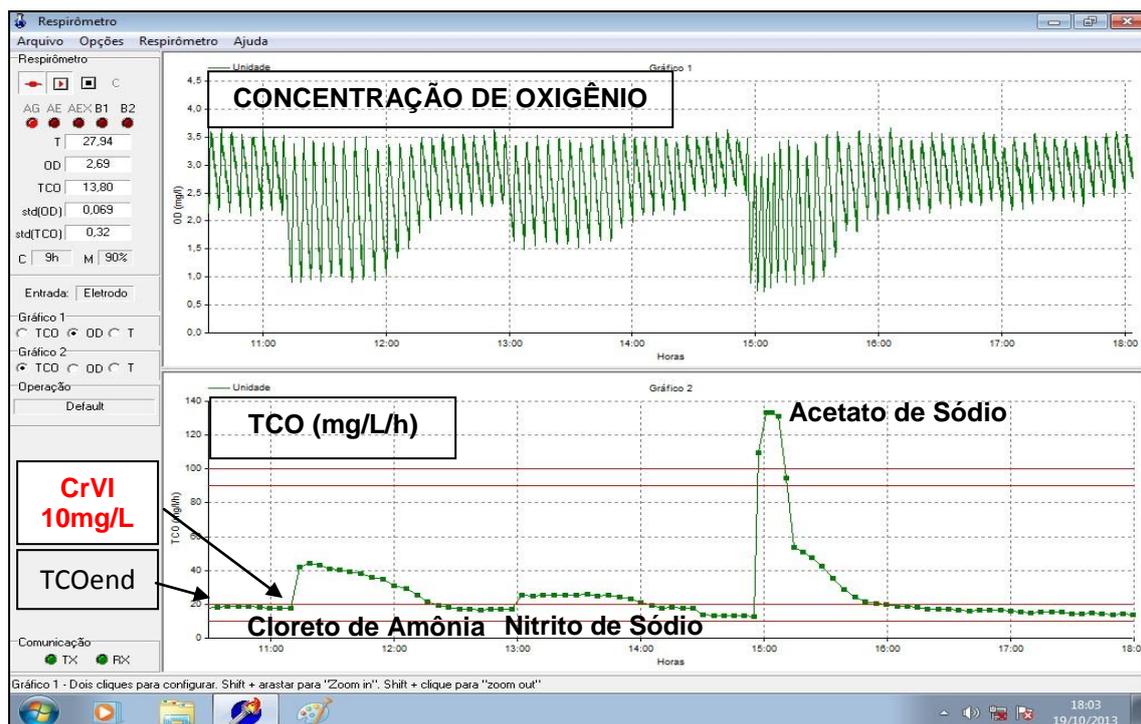
- Inicialmente ligava-se o respirômetro e esperava, aproximadamente, 10 minutos para calibrar o eletrodo de oxigênio de acordo com a temperatura ambiente;
- Coletava-se um litro de licor misto dos reatores aeróbios e armazenava - os em béquer de 2 litros;
- Deixava-se o licor misto sob agitação e emergia o eletrodo de OD, ligado ao respirômetro, dando início aos ciclos com e sem aeração. O software do respirômetro calcula a TCO, por regressão linear, através dos dados de depleção de OD. No início do teste não adicionava substrato, com a finalidade de se determinar a TCO endógena (TCOend);
- Aguardava-se o teste por um período de tempo suficiente para todo material extracelular ser utilizado (verificava esta utilização quando o valor da TCOend ficava constante) e assim, determinava a TCOend;
- Estabelecida a respiração endógena, eram adicionados, sequencialmente, os substratos específicos para determinação das constantes cinéticas. Em seguida, o

respirômetro começava a registrar valores da TCO relativos à utilização do substrato adicionado;

- Em planilhas eletrônicas do Excel eram armazenados automaticamente os dados de temperatura, OD e os dados da TCO calculados a cada 4 minutos pelo respirômetro, podendo esse tempo ser reduzido caso a referência inferior fosse alcançada antes de completar 4 minutos ou se o desvio padrão da reta pelos pontos de OD na fase sem aeração fosse menor que o valor pré-estabelecido de 0,1 mg/L/h.

A Figura 3.7 mostra um respirograma obtido durante a realização de um teste pelo método semicontínuo de determinação da TCO. A tela principal apresenta dois gráficos. O primeiro (janela superior) mostra o gráfico com os valores de referência da concentração de oxigênio dissolvido máximo e mínimo ($OD_{m\acute{a}x} - OD_{m\acute{i}n}$), traçado a partir dos dados de OD medidos no período em que há aeração (atingida a concentração superior máxima) e sem aeração (quando atingida a concentração de OD mínima) e o segundo gráfico (janela inferior) apresenta os valores da TCO calculados pelo software do respirômetro *Beluga S4.0C* para o método semicontínuo.

Figura 3.7 - Respirograma típico de um teste de toxicidade aguda com adição de 10mgCr(VI)/L e os seguintes substratos: cloreto de amônia, nitrito de sódio e acetato de sódio.



3.5.1.2 Determinação das constantes cinéticas das bactérias heterotróficas

A partir dos dados de TCO determinam-se as constantes cinéticas utilizadas neste trabalho das bactérias heterotróficas: taxa de utilização específico máxima do substrato solúvel (K_{ms}) e taxa de crescimento específico máxima (μ_m).

A taxa de utilização do substrato é determinada conforme mostra a Equação (3.2):

$$r_{us} = \frac{TCO_{exo}}{fra_{cat}} \times 24 \quad (3.2)$$

Sendo:

r_{us} : Taxa de utilização do substrato;

TCO_{exo} : Taxa de consumo de oxigênio exógena;

fra_{cat} : Fração catabolizada.

A partir da TCO endógena, pode ser determinado o valor de X_a (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999). (Equação (3.3)):

$$X_a = \frac{TCO_{end}}{f_{cv}(1-f)b_h} \quad (3.3)$$

Sendo:

TCO_{end} : Taxa de consumo de oxigênio endógena;

f_{cv} : 1,5 mgSSV/mgDQO;

f : 0,2 (fração de massa que não pode ser oxidada);

b_h : Taxa de decaimento endógeno de bactérias heterotróficas influenciada pela temperatura ($b_h=0,24 \times 1,04^{(t-20)}$).

Assim, calcula-se a constante de utilização do substrato mostrada a seguir na Equação (3.4):

$$K_{ms} = \frac{r_{us}}{X_a} \quad (3.4)$$

A Equação (3.5) permite encontrar a constante de crescimento.

$$\mu_m = \frac{Y_h K_{ms}}{X_a} \quad (3.5)$$

Sendo:

μ_m : Constante de crescimento;

Y_h : Coeficiente de rendimento das heterotróficas - 0,45 mg X_a /mg S_b (MARAIS E EKAMA, 1976);

K_{ms} : Taxa de utilização máxima do substrato solúvel (mg.L⁻¹.d⁻¹);

X_a : Concentração ativa de bactérias heterotróficas (mg.L⁻¹).

3.5.1.3 Determinação das constantes cinéticas das bactérias autotróficas

A taxa máxima de crescimento específico (μ_{max}) é determinada quando se tem o conhecimento de alguns fatores: a taxa de nitrificação (r_n), a concentração de bactérias nitrificantes no reator (X_n) e a capacidade de nitrificação no reator (N_c). A taxa máxima de crescimento específico (μ_{max}) pode ser determinada de acordo com a Equação (3.6):

$$\mu_{max} = \frac{(Y * r_{max})}{X_n} \quad (3.6)$$

Sendo:

X_n : Concentração ativa das bactérias (X_N para autotróficas, mg X .L⁻¹);

Y : Coeficiente de rendimento das bactérias (0,1 mg X_N /mg N para autotróficas);

r_{max} : Taxa máxima de consumo do substrato ($\text{mgS.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$), determinada através da TCO.

A taxa de nitrificação para os dois grupos de bactérias atuantes nesse processo é determinada pelas seguintes Equações (3.7) e (3.8):

$$\text{Nitritadoras} - r_{n(\text{nitri})}: \frac{\text{TCOn}}{4,57} \quad (3.7)$$

$$\text{Nitratadoras} - r_{n(\text{nitra})}: \frac{\text{TCOn}}{1,14} \quad (3.8)$$

Sendo:

TCO_n : TCO total devido à nitrificação ($\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}.\text{h}^{-1}$);

$r_{n(\text{nitri})}$: Taxa de utilização máxima da amônia e do nitrito gerado ($\text{mgNH}_4/\text{mgX}_n/\text{d}$);

$r_{n(\text{nitra})}$: Taxa de utilização máxima do nitrito ($\text{mgNO}_2/\text{mgX}_n/\text{d}$).

Os valores, 4,57 e 1,14 respectivamente, apresentam o consumo estequiométrico de oxigênio por mol do substrato considerado (amônia e nitrito).

A capacidade de nitrificação é o resultado do material nitrogenado disponível para a realização da nitrificação, uma vez que parte desse material não é oxidado e outra parte é utilizado para a produção de lodo (Equação (3.9)):

$$N_c = N_{ta} - N_{te} - N_l \quad (3.9)$$

Sendo:

N_{ta} : Concentração de NTK afluente (mgN.L^{-1});

N_{te} : Concentração de NTK efluente (mgN.L^{-1});

N_l : Concentração de NTK para a produção de lodo de excesso (mgN.L^{-1}).

Em que N_i é calculado pela Equação (3.10):

$$N_i = \frac{f_n X_v R_n}{R_s} \quad (3.10)$$

Sendo:

f_n : Fração de nitrogênio em lodo volátil = $0,1\text{g.g}^{-1}\text{SSV}$;

X_v : Concentração de sólidos voláteis no licor misto (mgSSV.L^{-1})

A concentração das bactérias estudadas foi determinada conforme a Equação (3.11):

$$X_N = \frac{Y_n R_s N_c}{(1 + b_n R_s) R_n} \quad (3.11)$$

Sendo:

R_s : Idade de lodo (d);

N_c : Fluxo da concentração de amônia nitrificada (mgN.d^{-1});

b_n : Constante de decaimento para as $B_N = 0,04 * 1,04^{(t-20)}$, onde t é a temperatura de operação (d^{-1});

R_n : Tempo de permanência (d).

3.5.2 Testes de Toxicidade

Para análise da toxicidade aguda e crônica de Cr(VI) em sistema de lodo ativado foram estudadas seis concentrações (5mg/L; 10mg/L; 20mg/L; 40mg/L; 80mg/L; 160mg/L).

Através dos testes respirométricos, determinavam-se as constantes cinéticas de oxidação da matéria orgânica e nitrificação a partir da TCO endógena (TCO_{end}) e da TCO máxima ($\text{TCO}_{\text{máx}}$). A $\text{TCO}_{\text{máx}}$ era obtida após a adição dos substratos específicos que eram: Cloreto de Amônia (NH_4Cl) e Nitrito de Sódio (NaNO_2) para as

bactérias autotróficas (nitrificantes e nitrificadoras, respectivamente) e Acetato de sódio ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) para as heterotróficas. A TCO_{end} , era obtida na ausência do substrato.

3.5.2.1 Testes Controle

Para a efetivação dos testes controle fora usado o lodo proveniente do RBS1. Logo em seguida, a amostra era encaminhada ao laboratório para realização do teste respirométrico no qual era realizado o procedimento apresentado na seção 3.5.2.2. O teste controle seguia a mesma adição de substratos específicos para cada grupo de bactérias estudadas.

Durante o período experimental, era realizado, semanalmente, um teste controle do RBS1 sem a presença de compostos tóxicos, que servia de parâmetro comparativo para os testes de toxicidade aguda e crônica.

3.5.2.2 Testes de Toxicidade Aguda

Os testes de toxicidade aguda eram realizados com o lodo de excesso do RBS1 - reator controle que não recebia a solução cromada. O lodo retirado era levado ao laboratório para realização dos testes respirométricos.

Para analisar o efeito tóxico agudo do Cr(VI) sobre a biomassa heterotrófica e autotrófica, foi adicionado cromo hexavalente como uma solução de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Para cada concentração de Cr(VI) investigada (5mg/L; 10mg/L; 20mg/L; 40mg/L; 80mg/L; 160mg/L), foram realizados três testes respirométricos, sendo retirada uma amostra de 1 litro de lodo do RBS1 para cada teste de toxicidade aguda.

Ao iniciar o teste respirométrico, quando a amostra alcançava a TCO_{end} , adicionava inicialmente a concentração de cromo e em seguida a mesma sequência de substratos aplicados no teste controle.

O efeito tóxico era então deduzido da diferença dos resultados dos testes respirométricos das duas amostras de lodo do teste controle/teste agudo com os três substratos.

3.5.2.3 Testes de Toxicidade Crônica

Os testes de toxicidade crônica eram realizados com o lodo de excesso retirado do RBS2 - reator que recebia as concentrações de Cr(VI).

Para analisar o efeito tóxico crônico, a amostra era submetida ao teste respirométrico e quando alcançava a TCO_{end} , adicionava a mesma sequência de substratos aplicados no teste controle. Para cada concentração de Cr(VI) investigada (5mg/L; 10mg/L; 20mg/L; 40mg/L; 80mg/L; 160mg/L), foram realizados cinco testes respirométricos, sendo retirada uma amostra de 1 litro de lodo do RBS2 para cada teste de toxicidade crônica.

O efeito tóxico era então deduzido da diferença dos resultados dos testes respirométricos das duas amostras de lodo do teste controle/teste crônico com os três substratos.

3.5.3 Testes de caracterização do desempenho dos reatores

Durante a fase experimental, alguns parâmetros foram analisados para acompanhamento da eficiência dos sistemas. As amostras para análises do afluente e do efluente foram coletadas da caixa de alimentação e dos recipientes onde ficavam armazenados os efluentes, respectivamente. As amostras eram coletadas semanalmente e retiradas através de torneiras dispostas nos reatores. A coleta era realizada sempre no mesmo horário entre às 07h30min e às 08h00min, logo após as coletas, eram realizados os procedimentos analíticos das amostras.

Os parâmetros analisados para identificar a eficiência do sistema, bem como a periodicidade e o método utilizado para as análises, encontram-se na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Análises realizadas em amostras coletadas semanalmente para avaliar o desempenho dos sistemas e métodos analíticos de determinação.

Variáveis	Freq	Métodos analíticos	Referência
DQO (mg/L)	Semanal	Titulométrico Refluxação fechada	APHA <i>et al.</i> (2012)
NTK (mgN/L)	Semanal	Semi-Micro Kjeldahl	APHA <i>et al.</i> (2012)
(SST, SSV e SSF mg/L)	Semanal	Gravimétrico	APHA <i>et al.</i> (2012)

CAPÍTULO 4

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Introdução

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados dos testes respirométricos para análise da toxicidade aguda e crônica de Cr(VI) em sistema de lodo ativado. Também serão apresentados os parâmetros de desempenho referentes à eficiência de remoção de matéria orgânica e nitrogênio.

Para analisar o efeito tóxico agudo e crônico causado pelo Cr(VI), sobre a atividade metabólica dos microrganismos heterotróficos e autotróficos presentes no sistema de lodo ativado, foram realizados testes respirométricos adicionando-se três substratos: Cloreto de Amônia (NH_4Cl) e Nitrito de Sódio (NaNO_2), para as bactérias autotróficas (nitrificantes e nitrificadoras) e Acetato de sódio ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) para as bactérias heterotróficas. Por meio dos testes respirométricos foi possível determinar as constantes cinéticas de oxidação da matéria orgânica e nitrificação a partir da TCO, sendo adotadas neste trabalho: taxa de crescimento específico máxima (μ_m). O procedimento para determinação da taxa de crescimento específico máxima (μ_m), está detalhado nas seções 3.5.1.2 e 3.5.1.3 do capítulo 3 deste trabalho.

Os dados para determinação do efeito tóxico de cada concentração de Cr(VI) utilizados nos testes agudos e crônicos (5mg/L; 10mg/L; 20mg/L; 40mg/L; 80mg/L; 160mg/L), foram compilados em médias, para cada média identificou-se os valores de desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV).

4.2 Toxicidade aguda de Cr(VI) em sistema de lodo ativado

Para realização dos testes respirométricos foram utilizados o licor misto proveniente do RBS1 - reator controle, sendo os testes controle sem adição de Cr(VI) e os testes de toxicidade aguda com adição de diferentes concentrações de Cr(VI).

Nas Tabelas 4.1 e 4.2 encontram-se os valores da taxa de crescimento máxima (μ_m) média, (DP) e (CV), relativos aos testes controle (sem adição de Cr(VI)) que foram realizados concomitantemente aos testes agudos, e aos testes agudos, respectivamente. Os valores médios dos testes controle variaram de 5,18 d⁻¹ a 6,39 d⁻¹. Quanto os dados referentes aos testes de toxicidade aguda, a variação média foi de 0,76 d⁻¹ a 4,32 d⁻¹.

Tabela 4.1 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos no RBS1, referentes aos períodos nos quais foram realizados os testes de toxicidade aguda.

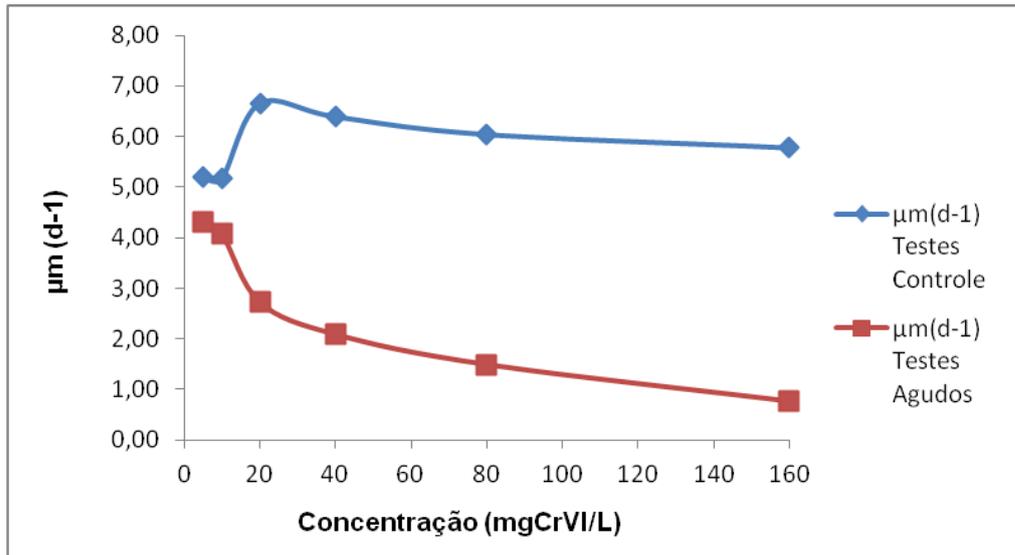
RBS1 - Teste Controle	Período referente a cada concentração de Cr(VI) investigada nos testes de toxicidade aguda					
	5	10	20	40	80	160
Testes ($\mu_m(d-1)$)						
Teste 1	6,30	5,78	6,99	6,99	5,78	6,99
Teste 2	4,08	4,57	6,30	5,78	6,30	4,57
MÉDIA	5,19	5,18	6,65	6,39	6,04	5,78
DP	1,57	0,86	0,49	0,86	0,37	1,72
CV	30,25	16,63	7,38	13,39	6,04	29,69

Tabela 4.2 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos no RBS1, referentes aos testes de toxicidade aguda.

RBS1 - Teste Agudo	Concentração (mgCr(VI)/L)					
	5	10	20	40	80	160
Testes ($\mu_m(d-1)$)						
Teste 1	5,30	3,95	2,17	2,14	1,56	0,63
Teste 2	3,51	4,04	3,35	2,03	1,30	0,87
Teste 3	4,14	4,24	2,68	2,10	1,61	0,80
MÉDIA	4,32	4,08	2,73	2,09	1,49	0,76
DP	0,91	0,15	0,59	0,06	0,17	0,12
CV	21,14	3,67	21,59	2,64	11,18	16,05

Os valores médios (μ_m) obtidos através dos testes respirométricos, apresentados nas Tabelas 4.1 e 4.2 é mostrado na Figura 4.1, indicando a ação do efeito tóxico agudo do Cr(VI) sobre a taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos em lodo ativado.

Figura 4.1 - Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos em testes controle e em testes de toxicidade aguda com diferentes concentrações de Cr(VI).



Conforme mostra a Figura 4.1 e as Tabelas 4.1 e 4.2, a medida que ocorre o aumento da concentração de Cr(VI) nas adições em cada teste de toxicidade aguda, proporcionalmente, ocorre a diminuição da taxa de crescimento (μ_m), esse fenômeno é mais pronunciado para as concentrações acima de 10mgCr(VI)/L.

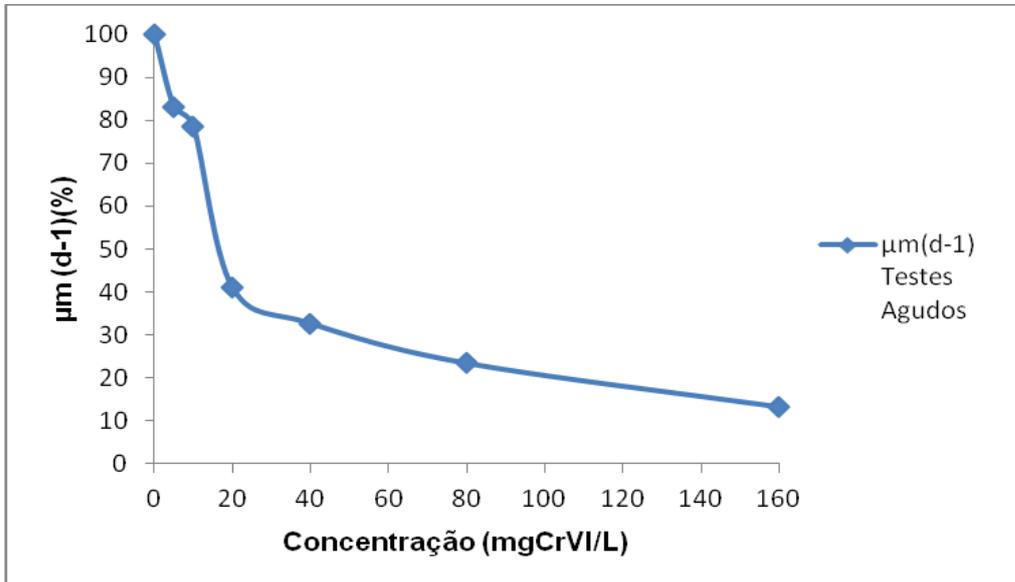
Quando comparado com o teste controle, o (μ_m) apresentou valor mais elevado com 5mgCr(VI)/L. de 4,32 d⁻¹, para concentrações superiores o (μ_m) diminuiu e atingiu 0,76 d⁻¹ com a adição da concentração máxima de 160mgCr(VI)/L.

Na Tabela 4.3 e nas Figuras 4.2 e 4.3 estão apresentados os valores do (μ_m) em porcentagem, utilizando o RBS1 - reator controle, como referência de crescimento máximo dos microrganismos presentes no sistema, no período em que cada concentração foi estudada.

Tabela 4.3 – Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos no RBS1, referentes aos testes de toxicidade aguda.

Concentração (mgCr(VI)/L)	LN-Concentração (mgCr(VI)/L)	Testes Agudos μ_m (d-1)(%)
0	0	100
5	1,6	83
10	2,3	79
20	3,0	41
40	3,7	33
80	4,4	23
160	5,1	13

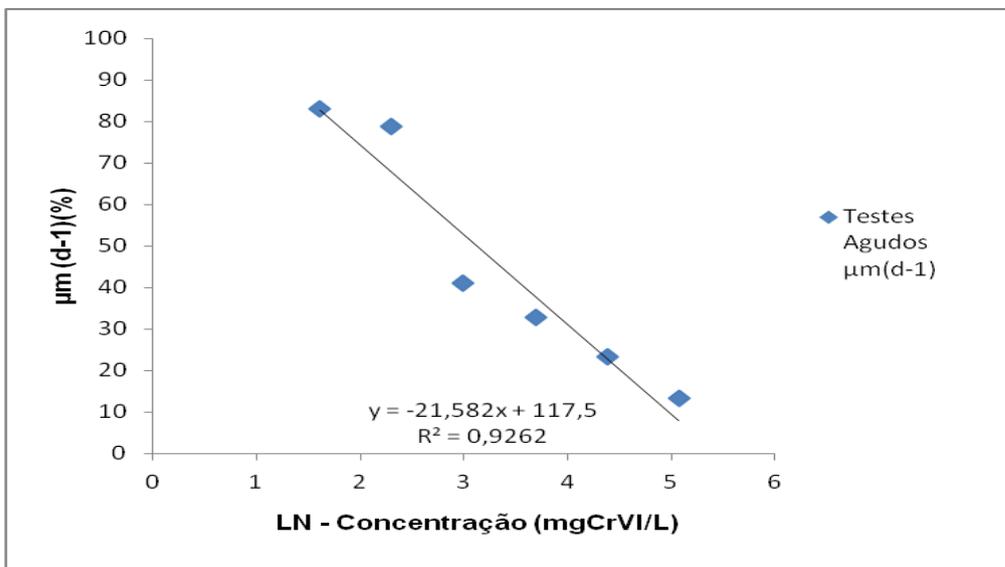
Figura 4.2 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos em função da concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade aguda.



Em termos percentuais, quando os microrganismos foram expostos a um estresse imediato de 5mgCr(VI)/L a taxa de crescimento máximo foi reduzida para 83% da sua capacidade máxima, duplicando-se a concentração para 10mgCr(VI)/L houve apenas uma redução de 4% da adição inicial, permanecendo com 79%. Logo, quando a concentração de Cr(VI) foi acrescida para 20mgCr(VI)/L, o crescimento específico máximo (μ_m) reduziu-se para menos que metade, alcançando 41%, com as concentrações de 40mgCr(VI)/L, 80mgCr(VI)/L e 160mgCr(VI)/L reduziram para 33%, 23% e 13%, respectivamente.

Os resultados obtidos em percentuais da taxa de crescimento específico máxima de cada concentração de Cr(VI), foram organizados em um gráfico semilogaritmo, conforme apresenta a Figura 4.3.

Figura 4.3 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos em função de LN concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade aguda.



A toxicidade aguda do Cr(VI) sobre a taxa de crescimento máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes, estão representados nas Tabelas 4.4 e 4.5 e na Figura 4.4. Na Tabela 4.4 estão expostos os valores médios da taxa de crescimento máxima (μ_m) dos testes controle, com variação de $0,32 \text{ d}^{-1}$ a $0,36 \text{ d}^{-1}$. Na Tabela 4.5 encontram-se os dados referentes aos testes de toxicidade aguda, os valores médios do (μ_m) variaram de $0,00 \text{ d}^{-1}$ a $0,19 \text{ d}^{-1}$.

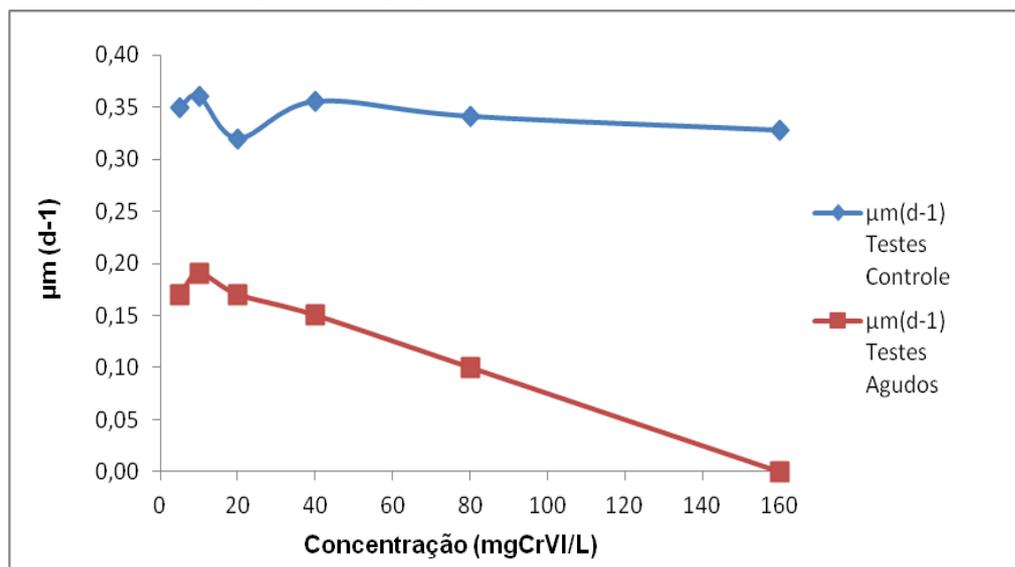
Tabela 4.4 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes no RBS1, referentes aos períodos nos quais foram realizados os testes de toxicidade aguda.

RBS1 - Teste Controle	Período referente a cada concentração de Cr(VI) investigada nos testes de toxicidade aguda					
	5	10	20	40	80	160
Testes (μ_m (d-1))						
Teste 1	0,30	0,38	0,33	0,33	0,38	0,33
Teste 2	0,39	0,33	0,30	0,38	0,30	0,33
MÉDIA	0,35	0,36	0,32	0,36	0,34	0,33
DP	0,06	0,04	0,02	0,04	0,06	0,00
CV	18,45	9,96	6,73	9,96	16,64	0,00

Tabela 4.5 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes no RBS1, referentes aos testes de toxicidade aguda.

RBS1 - Teste Agudo	Concentração (mgCr(VI)/L)					
Testes ($\mu_m(d-1)$)	5	10	20	40	80	160
Teste 1	0,15	0,20	0,18	0,16	0,09	0,00
Teste 2	0,10	0,19	0,16	0,15	0,11	0,00
Teste 3	0,28	0,19	0,17	0,15	0,10	0,00
MÉDIA	0,17	0,19	0,17	0,15	0,10	0,00
DP	0,09	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00
CV	53,57	4,86	3,27	3,77	10,00	0,00

Figura 4.4 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes em testes controle e em testes de toxicidade aguda com diferentes concentrações de Cr(VI).



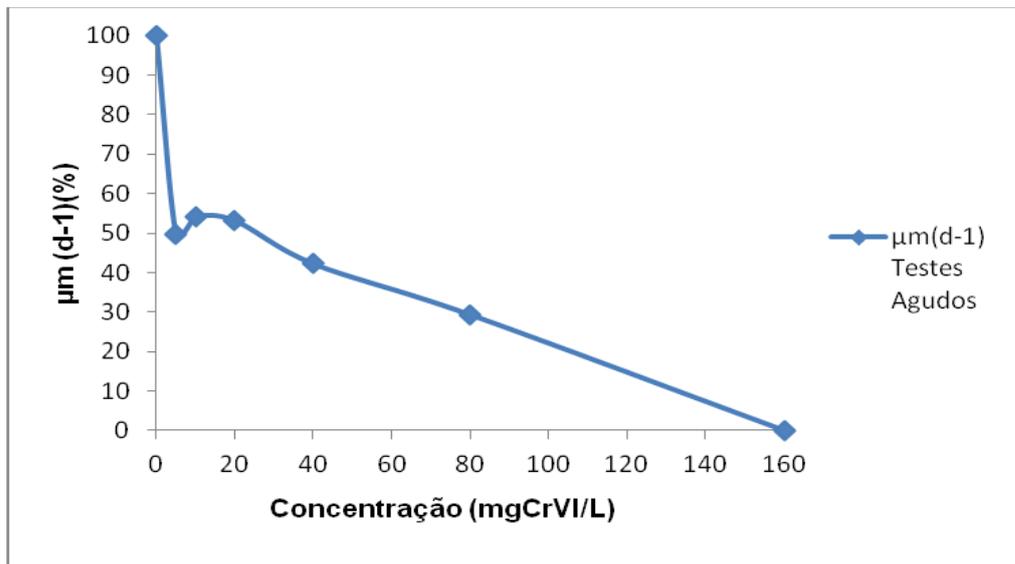
Conforme a Figura 4.4 e as Tabelas 4.4 e 4.5, quando comparados os valores da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) obtidos dos testes controle e dos testes de toxicidade aguda, verifica-se na primeira adição de 5mgCr(VI)/L metade do (μ_m), de 0,35 d⁻¹ diminuiu para 0,17 d⁻¹, o que indica uma maior sensibilidade dos microrganismos autotróficos na presença de Cr(VI). Segundo Juliasuti *et al.* (2003) reportam que a nitrificação consiste no processo mais sensível dentre os processos de remoção biológica de nutrientes de águas residuárias, sendo a biomassa autotrófica nitrificante aproximadamente 10 vezes mais sensível que a biomassa heterotrófica aeróbia.

Na Tabela 4.6 e nas Figuras 4.5 e 4.6 apresentam os valores percentuais do (μ_m) para microrganismos autotróficos nitrificantes nos testes de toxicidade aguda.

Tabela 4.6 – Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes no RBS1, referentes aos testes de toxicidade aguda.

Concentração (mgCr(VI)/L)	LN-Concentração (mgCr(VI)/L)	Testes Agudos $\mu_m(d-1)(\%)$
0	0	100
5	1,6	50
10	2,3	54
20	3,0	53
40	3,7	42
80	4,4	29
160	5,1	0

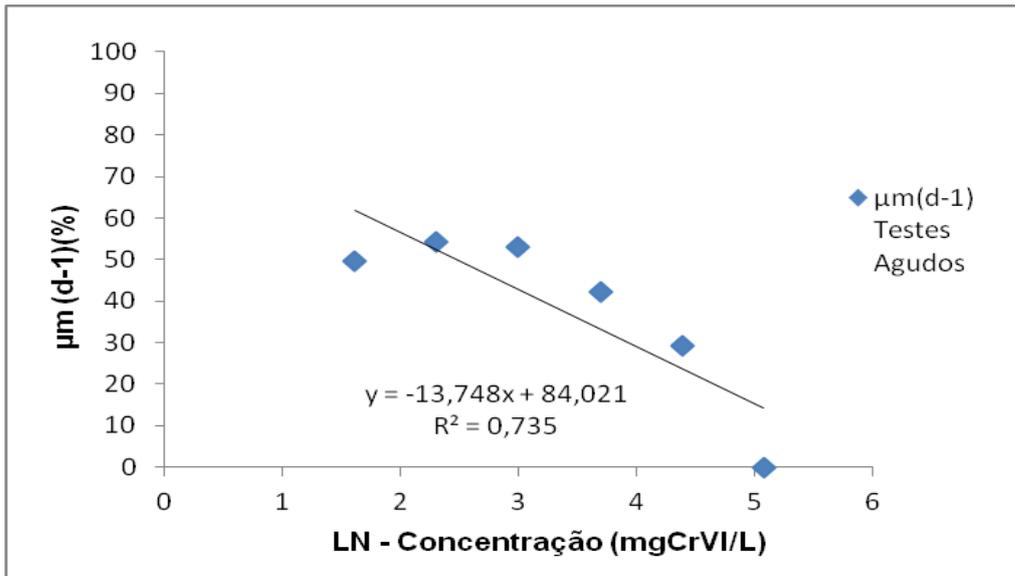
Figura 4.5 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes em função da concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade aguda.



Em termos percentuais, quando os microrganismos foram expostos a uma concentração de 5mgCr(VI)/L houve uma redução de 50%, variando entre 54% e 42% nas concentrações de 10mgCr(VI)/L à 40mgCr(VI)/L. No entanto, ao adicionar 80mgCr(VI)/L houve uma redução significativa para 29% e na última concentração adicionada de 160mgCr(VI)/L os microrganismos não responderam aos testes respirométricos, acarretando inibição total de crescimento.

Posteriormente os dados obtidos em percentuais da taxa de crescimento específico máxima de cada concentração de Cr(VI), foram organizados em um gráfico semilogaritmo, assim como mostra a Figura 4.6.

Figura 4.6 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes em função de LN concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade aguda.



Nas Tabelas 4.7 e 4.8 encontram-se os valores médios da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes, relativos aos testes controle e aos testes de toxicidade aguda, respectivamente. Os valores médios dos testes controle variaram de $0,27 \text{ d}^{-1}$ a $0,30 \text{ d}^{-1}$. Quanto os dados referentes aos testes de toxicidade aguda, a variação média foi de $0,00 \text{ d}^{-1}$ a $0,18 \text{ d}^{-1}$.

Tabela 4.7 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes no RBS1, referentes aos períodos nos quais foram realizados os testes de toxicidade aguda.

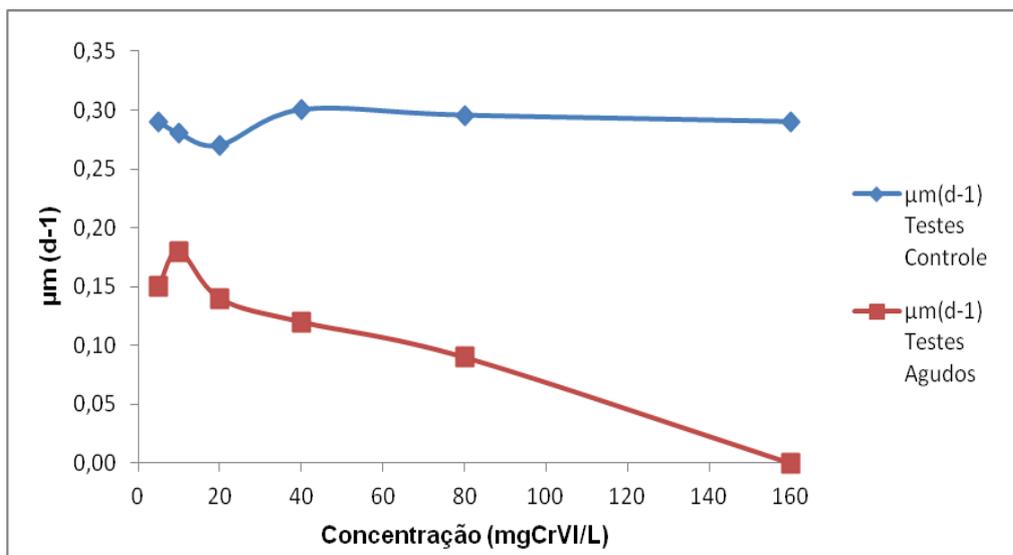
RBS1 - Teste Controle	Período referente a cada concentração de Cr(VI) investigada nos testes de toxicidade aguda					
	5	10	20	40	80	160
Testes μ_m (d-1)						
Teste 1	0,24	0,29	0,30	0,30	0,29	0,30
Teste 2	0,33	0,27	0,24	0,29	0,30	0,27
MÉDIA	0,29	0,28	0,27	0,30	0,30	0,29
DP	0,06	0,01	0,04	0,01	0,01	0,02
CV	22,33	5,05	15,71	2,40	2,40	7,44

Tabela 4.8 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitratores no RBS1, referentes aos testes de toxicidade aguda.

RBS1 - Teste Agudo	Concentração (mgCr(VI)/L)						
	Testes μ_m (d-1)	5	10	20	40	80	160
Teste 1		0,09	0,17	0,15	0,14	0,09	0,00
Teste 2		0,10	0,19	0,14	0,12	0,10	0,00
Teste 3		0,26	0,17	0,13	0,11	0,09	0,00
MÉDIA		0,15	0,18	0,14	0,12	0,09	0,00
DP		0,10	0,01	0,01	0,02	0,01	0,00
CV		64,26	6,54	6,63	12,39	6,19	0,00

A Figura 4.7 mostra os valores médios concernente à toxicidade aguda do Cr(VI) sobre a taxa de crescimento máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitratores.

Figura 4.7 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitratores em testes controle e em testes de toxicidade aguda com diferentes concentrações de Cr(VI).



As bactérias nitradoras reagem em conjunto as nitrificantes quando adiciona-se Cloreto de Amônia (NH_4Cl). Para isolarmos apenas a atividade metabólica das nitradoras adicionou-se Nitrito de Sódio (NaNO_2). Conforme o esperado, à atividade metabólica das nitradoras, tanto nos testes controle, quanto nos testes agudos foi menor em relação as bactérias nitrificantes.

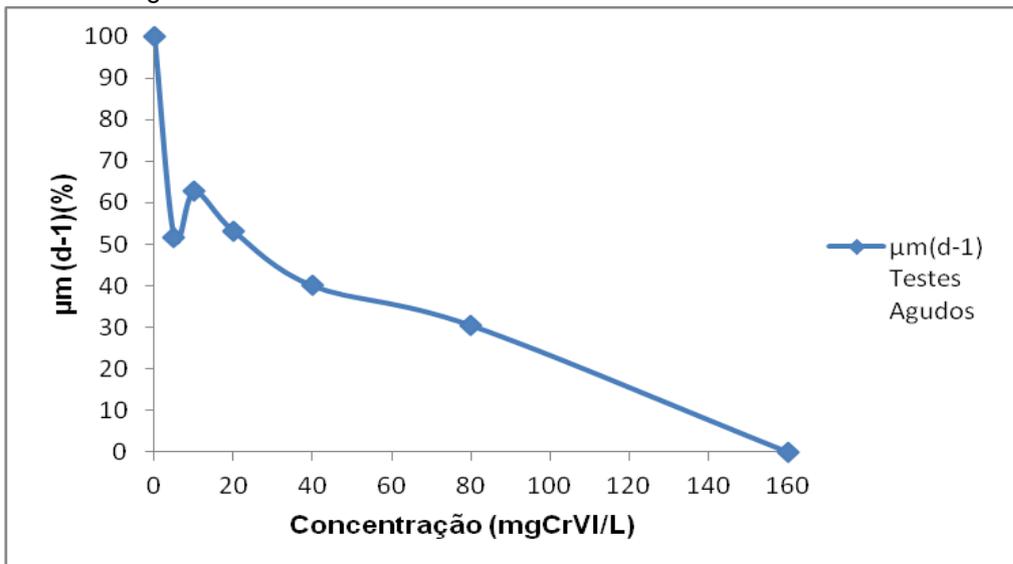
Os resultados do (μ_m) obtidos nos testes controle e de toxicidade aguda, foram descritos em porcentagem na Tabela 4.9 e apresentados em Figuras, sendo:

na Figura 4.8 o (μ_m) em função da concentração de Cr(VI) e na Figura 4.9 (μ_m) em função da Ln (concentração de Cr(VI)).

Tabela 4.9 – Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitratores no RBS1, referentes aos testes de toxicidade aguda.

Concentração (mgCr(VI)/L)	LN-Concentração (mgCr(VI)/L)	Testes Agudos $\mu_m(d-1)(\%)$
0	0,0	100
5	1,6	52
10	2,3	63
20	3,0	53
40	3,7	40
80	4,4	30
160	5,1	0

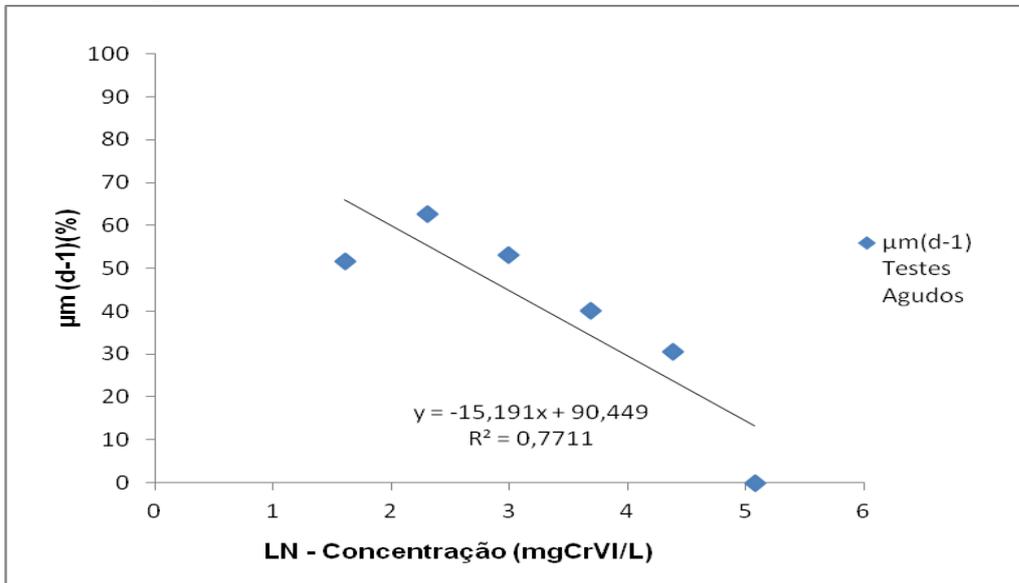
Figura 4.8 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitratores em função da concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade aguda.



O comportamento das bactérias nitradoras, foi bem semelhante as bactérias nitrificantes, em termos percentuais na primeira adição de 5mgCr(VI)/L, obteve-se metade do (μ_m) com uma taxa de 52%, no entanto com 10mgCr(VI)/L houve um aumento de 11% do (μ_m) em relação a concentração anterior, atingindo 63%, quando a concentração de Cr(VI) foi acrescida para 20mg/L, reduziu para 53%, permanecendo com uma taxa de 40% com 40mgCr(VI)/L. Ao adicionar 80mgCr(VI)/L houve uma redução significativa para 30% e na última concentração

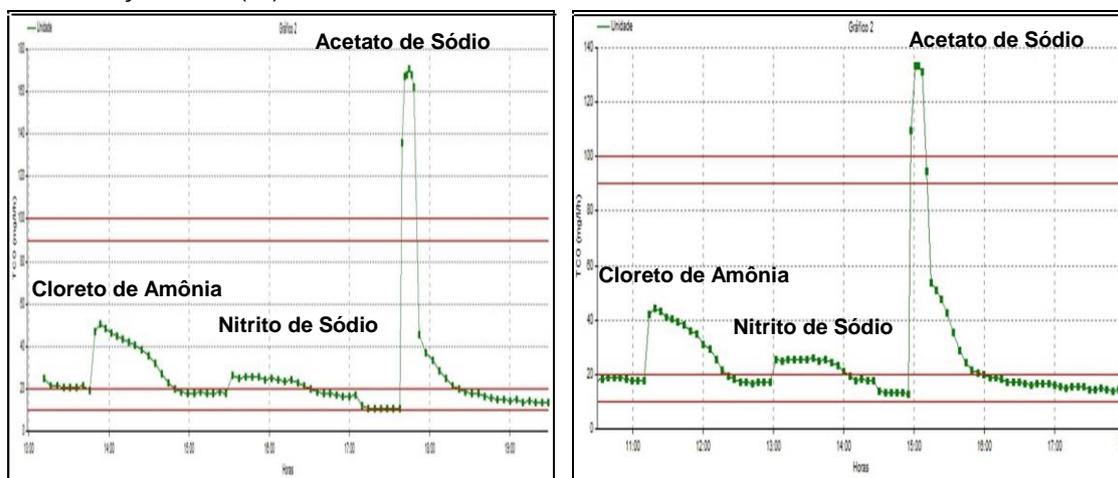
adicionada de 160mgCr(VI)/L os microrganismos não responderam aos testes respirométricos, indicando inibição total de crescimento.

Figura 4.9 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitratores em função de ln concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade aguda.



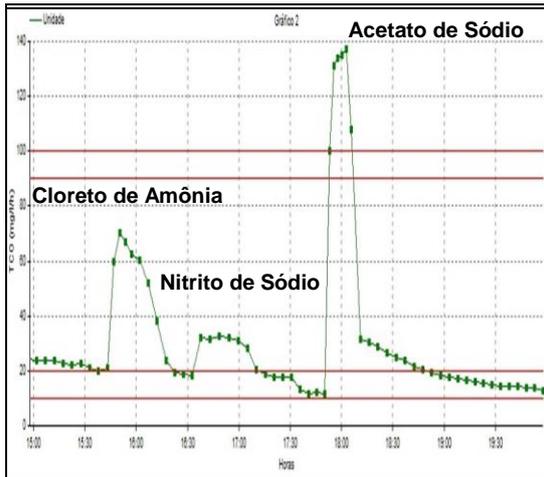
Na Figura 4.10 encontram-se uma sequência de testes respirométricos realizados para avaliação da toxicidade aguda dos microrganismos autotróficos e heterotróficos. Cada respirograma apresenta à ação tóxica imediata da concentração de Cr(VI) adicionada em amostras retiradas do RBS1 - reator controle.

Figura 4.10 - Série de respirogramas representando a Taxa de Consumo de Oxigênio - TCO dos microrganismos autotróficos e heterotróficos dos testes agudos - RBS1, referente a cada concentração de Cr(VI).

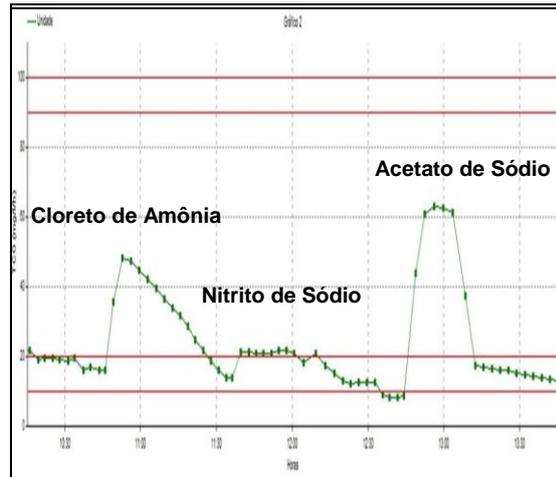


A: Teste Agudo: 5mgCr(VI)/L

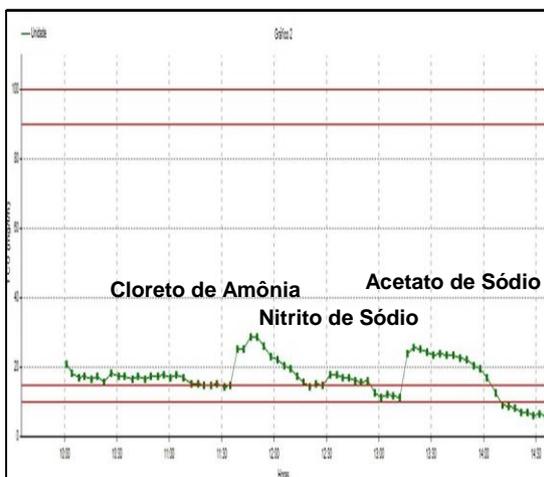
B: Teste Agudo: 10mgCr(VI)/L



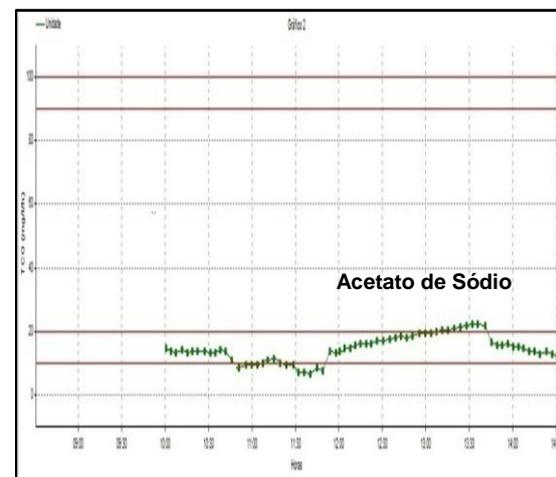
C: Teste Agudo: 20mgCr(VI)/L



D: Teste Agudo: 40mgCr(VI)/L



E: Teste Agudo: 80mgCr(VI)/L



F: Teste Agudo: 160mgCr(VI)/L

4.3 Toxicidade crônica do Cr(VI) em sistema de lodo ativado

Conforme mostra as Tabelas 4.10 e 4.11 estão descritos os valores médios do (μ_m) no RBS1 - reator controle, referentes a cada período no qual o RBS2 recebia as concentrações de Cr(VI) e no RBS2 - reator que recebia diariamente doses da concentração de Cr(VI), respectivamente. No RBS1 as médias do (μ_m) variaram entre $4,27 \text{ d}^{-1}$ e $7,53 \text{ d}^{-1}$. No RBS2 as médias do (μ_m) variaram entre $1,82 \text{ d}^{-1}$ e $6,04 \text{ d}^{-1}$. A Figura 4.11 apresenta a média da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos do RBS1 e do RBS2.

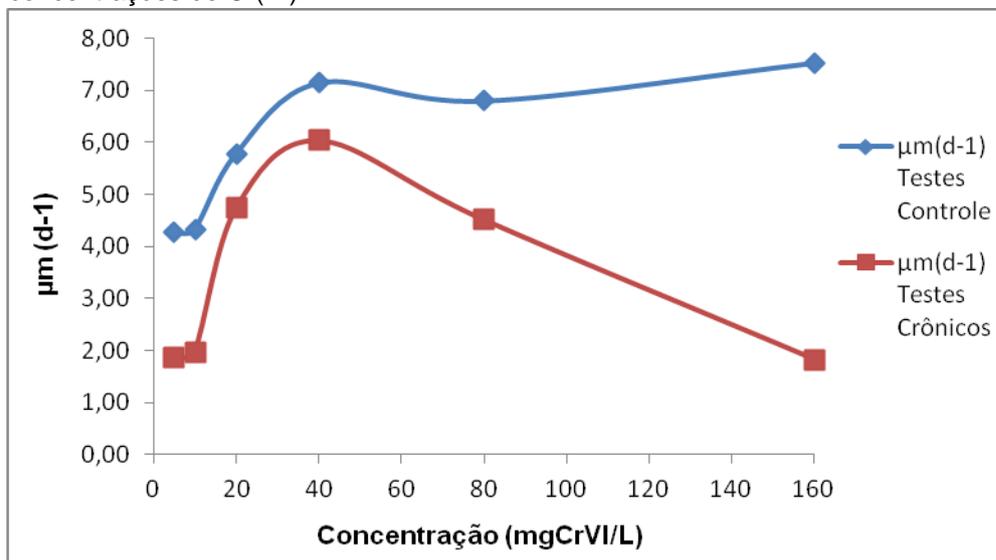
Tabela 4.10 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos no RBS1, referente aos períodos nos quais foram realizados os testes de toxicidade crônica.

RBS1 - Teste Controle	Período referente a cada concentração de Cr(VI) adicionada ao RBS2						
	Testes ($\mu_m(d-1)$)	5	10	20	40	80	160
Teste 1		4,45	4,08	4,57	6,99	7,30	6,30
Teste 2		4,08	4,57	6,99	7,30	6,30	8,77
MÉDIA		4,27	4,33	5,78	7,15	6,80	7,53
DP		0,26	0,34	1,71	0,22	0,71	1,74
CV		6,01	7,88	29,64	3,05	10,40	23,15

Tabela 4.11 – Taxa de crescimento específico máximo (μ_m) dos microrganismos heterotróficos no RBS2, referentes aos testes de toxicidade crônica.

RBS2 - Teste Crônico	Concentração (mgCr(VI)/L)						
	Testes ($\mu_m(d-1)$)	5	10	20	40	80	160
Teste 1		2,31	2,31	3,53	5,18	3,61	1,90
Teste 2		1,62	1,31	4,34	5,32	4,85	1,43
Teste 3		1,06	1,35	4,24	4,47	4,34	1,64
Teste 4		1,90	2,44	5,91	7,89	4,36	1,85
Teste 5		2,37	2,43	5,63	7,36	5,39	2,31
MÉDIA		1,85	1,97	4,73	6,04	4,51	1,82
DP		0,54	0,58	1,01	1,49	0,66	0,33
CV		29,01	29,72	21,25	24,68	14,69	18,11

Figura 4.11 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos em testes controle e em testes de toxicidade crônica com diferentes concentrações de Cr(VI).



De acordo com as constantes cinéticas de crescimento dos microrganismos exposto a cada concentração de Cr(VI) apresentados na Figura 4.11 e nas Tabelas 4.10 e 4.11, pode-se analisar que o RBS1 manteve-se a taxa de crescimento específico máxima (μ_m) compatíveis com os valores encontrados na literatura $\mu_m=(1,5 - 7,2 \text{ d}^{-1})$, revelando-se apropriado para o reator controle. Durante o período experimental houve um forte aumento da constante de crescimento máximo no RBS1 - reator controle, provavelmente devido a adaptação da massa bacteriana ao material orgânico no esgoto.

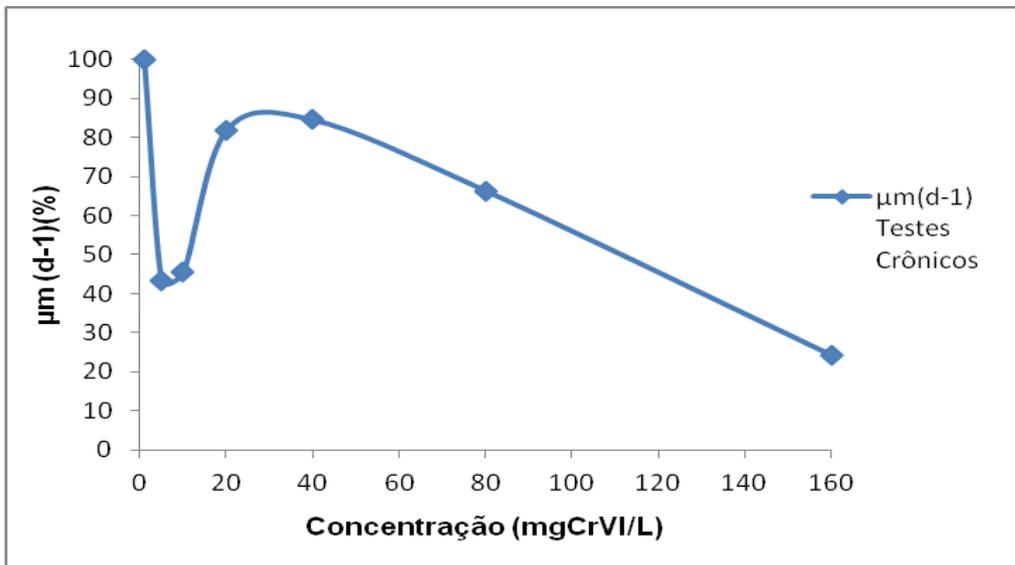
Ao analisar o RBS2, a taxa de crescimento específico máxima (μ_m) da biomassa, alcançou valores mais elevados com concentração de Cr(VI) de 20mg/L até cerca de 80mg/L, atingindo o máximo de crescimento com 40mgCr(VI)/L com $6,04 \text{ d}^{-1}$. Em concentração de 160mgCr(VI)/L, o (μ_m) diminuiu significativamente para $1,82 \text{ d}^{-1}$.

Na Tabela 4.12 estão descritos os valores de (μ_m) dos testes de toxicidade crônica em porcentagem, utilizando-se o RBS1 como parâmetro de capacidade máxima de crescimento dos microrganismos, referente aos períodos nos quais foram adicionados no RBS2 cada concentração de Cr(VI), esses resultados estão esquematizados na Figura 4.12.

Tabela 4.12 – Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos no RBS2, referente aos testes de toxicidade crônica.

Concentração (mgCr(VI)/L)	Testes Crônicos $\mu_m(\text{d}^{-1})$
0	100
5	43
10	45
20	82
40	85
80	66
160	24

Figura 4.12 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos em função da concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade crônica.



Quando se compara a taxa crescimento específico máximo (μ_m) do RBS1 em relação ao RBS2 em termos percentuais, nota-se que quando adicionou-se a concentração de 5mgCr(VI)/L o (μ_m) reduziu em mais de 50%, permanecendo entre 43% com 5mgCr(VI)/L e 45% com 10mgCr(VI)/L. No entanto, quando a concentração de Cr(VI) foi acrescida para 20mgCr(VI)/L o (μ_m) duplicou, aumentado sua taxa em 82%, obtendo-se a faixa ótima do crescimento específico máximo (μ_m) com uma taxa de 85% com 40mgCr(VI)/L. A concentração de 80mgCr(VI)/L conservou o (μ_m) em 66%. Ao adicionar a última concentração de 160mgCr(VI)/L o (μ_m), reduziu significativamente a 24% .

Segundo Forstner e Wittmann (1983) o aumento na concentração pode-se promover o crescimento máximo, que é chamada de faixa ótima, além dessa concentração, passam a exibir toxicidade até atingirem uma concentração letal.

Constata-se que através da curva delineada, obtida a partir dos testes respirométricos (Figura 4.15), que os microrganismos aclimatizaram-se com o tempo, contudo este processo de aclimação torna-se limitado as concentrações relativamente mais elevadas de Cr(VI), visto que os microrganismos não foram capaz de continuar à aclimação em concentração de 160mgCr(VI)/L.

As bactérias autotróficas nitrificantes só reagiram ao primeiro teste depois da adição inicial de 5mgCr(VI)/L, no RBS2, conforme mostram as Tabelas 4.13 e 4.14 onde pode-se observar os resultados do crescimento específico máximo (μ_m) das

bactérias autotróficas, obtidos através dos testes respirométricos. Os valores médios do (μ_m) no RBS1 (Tabela 4.13) variaram de 0,19 d⁻¹ a 0,34 d⁻¹. Quanto ao RBS2 (Tabela 4.14), detectou-se o (μ_m) de 0,18 d⁻¹ com a concentração de 5mgCr(VI)/L mas, para concentrações maiores nenhuma atividade nitrificante foi observada, esse comportamento encontra-se ilustrado na Figura 4.13.

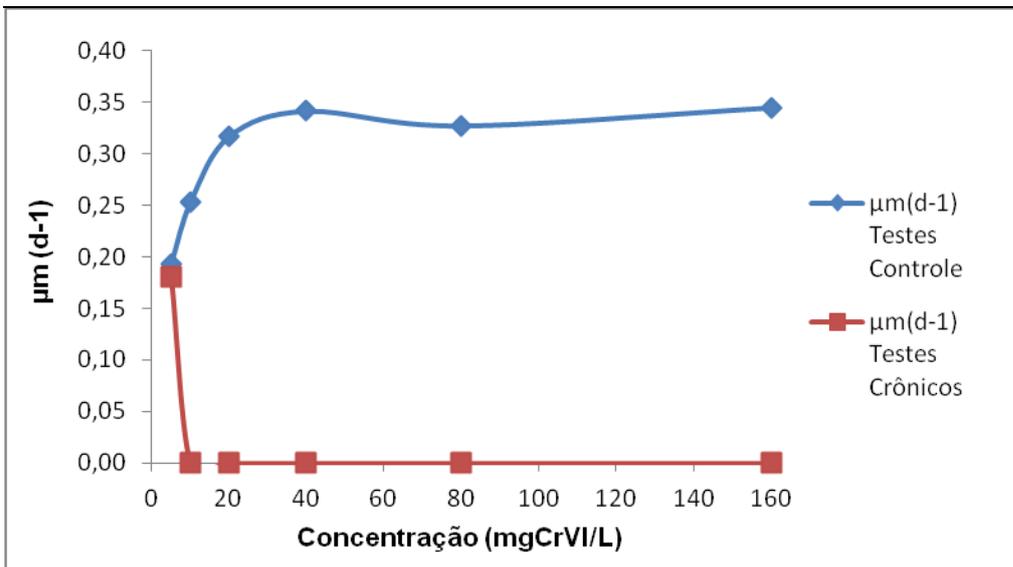
Tabela 4.13 - Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes no RBS1, referentes aos períodos nos quais foram realizados os testes de toxicidade crônica.

RBS1 - Teste Controle	Período referente a cada concentração de Cr(VI) adicionada ao RBS2						
	Testes (μ_m (d-1))	5	10	20	40	80	160
Teste 1		0,18	0,21	0,30	0,33	0,35	0,30
Teste 2		0,21	0,30	0,33	0,35	0,30	0,39
MÉDIA		0,19	0,25	0,32	0,34	0,33	0,34
DP		0,02	0,07	0,02	0,01	0,03	0,06
CV		9,05	26,74	7,29	3,60	9,88	16,60

Tabela 4.14 - Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes no RBS2, referentes aos testes de toxicidade crônica.

RBS2 - Teste Crônico	Concentração (mgCr(VI)/L)						
	Testes (μ_m (d-1))	5	10	20	40	80	160
Teste 1		0,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Teste 2		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Teste 3		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Teste 4		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Teste 5		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MÉDIA		0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
DP		0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CV		223,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Figura 4.13 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes em testes controle e em testes de toxicidade crônica com diferentes concentrações de Cr(VI).



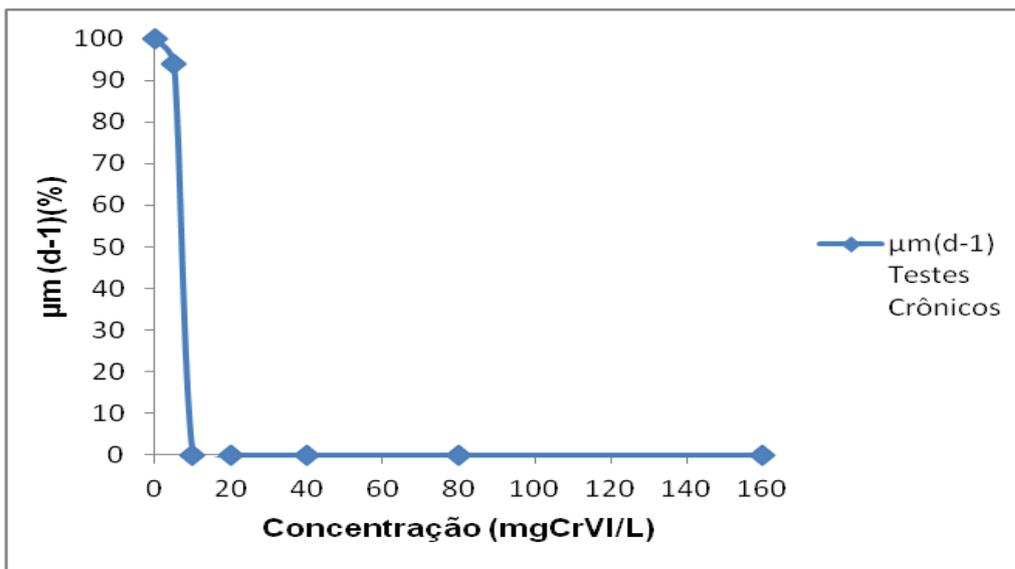
Quando se comparam os valores para as bactérias nitrificantes do RBS1 e RBS2, nota-se que não houve diferença significativa na Taxa de crescimento específico máximo (μ_m) no período no qual o RBS2 estava recebendo a concentração de $5mgCr(VI)/L$. Neste período o RBS1 apresentou valor médio do (μ_m) de $0,19 d^{-1}$ e o RBS2 apresentou (μ_m) = $0,18 d^{-1}$ apenas no primeiro teste, antes de completar os 15 dias de exposição da biomassa a concentração de $5mgCr(VI)/L$, as bactérias não reagiram mais ao Cloreto de Amônia (NH_4Cl) e nem ao Nitrito de Sódio ($NaNO_2$). Assim como, a partir da concentração de $10mgCr(VI)/L$, os microrganismos autotróficos não reagiram aos testes respirométricos.

Esse comportamento revela que a exposição da biomassa a diferentes concentrações de $Cr(VI)$, mesmo sendo adicionados inicialmente em quantidades relativamente baixas de $5mgCr(VI)/L$ inviabilizou a existência de bactérias autotróficas nitrificantes no reator. Este fato comprova-se através das análises físicas e químicas, que mostraram pouca eficiência na remoção de NTK e de nitrogênio amoniacal do efluente à medida que aumentava a concentração de $Cr(VI)$. Os dados em percentuais estão expostos na Tabela 4.15 e apresentados na Figura 4.14.

Tabela 4.15 – Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes no RBS2, referente aos testes de toxicidade crônica.

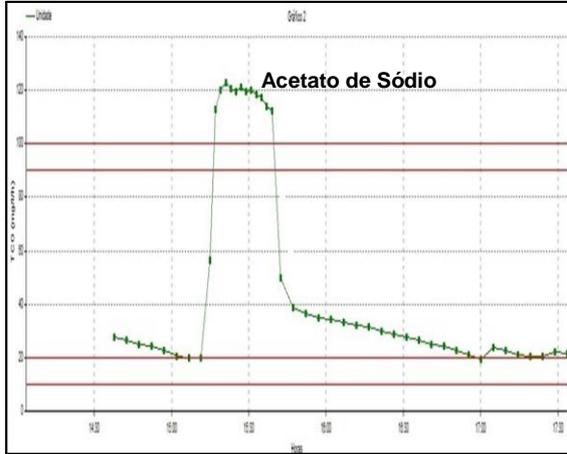
Concentração (mgCr(VI)/L)	Testes Crônicos $\mu_m(d-1)(\%)$
0	100
5	94
10	0
20	0
40	0
80	0
160	0

Figura 4.14 – Taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes em função da concentração de Cr(VI), nos testes de toxicidade crônica.

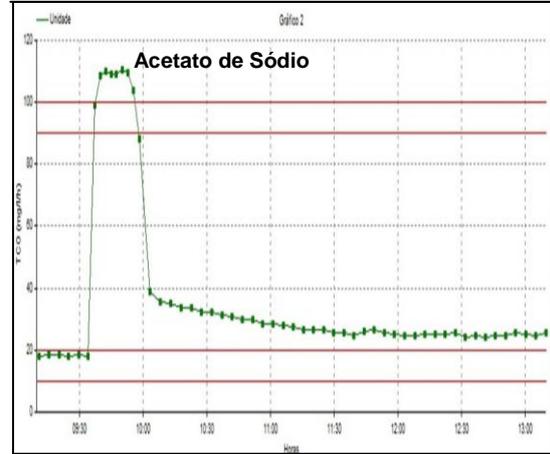


Na Figura 4.15 encontram-se uma sequência de testes respirométricos realizados para avaliação da toxicidade crônica dos microrganismos heterotróficos presentes no RBS2. Cada respirograma apresenta a ação tóxica do Cr(VI) referente ao 15º dia de exposição, ou seja, o último dia com a concentração adicionada.

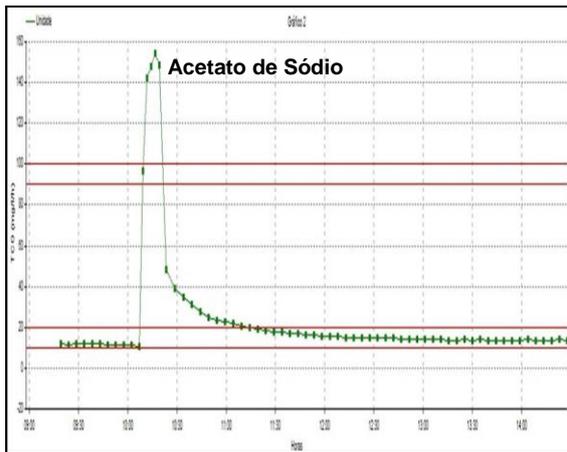
Figura 4.15 - Série de respirogramas representando a Taxa de Consumo de Oxigênio - TCO dos microrganismos autotróficos e heterotróficos no RBS2, referente a cada concentração de Cr(VI).



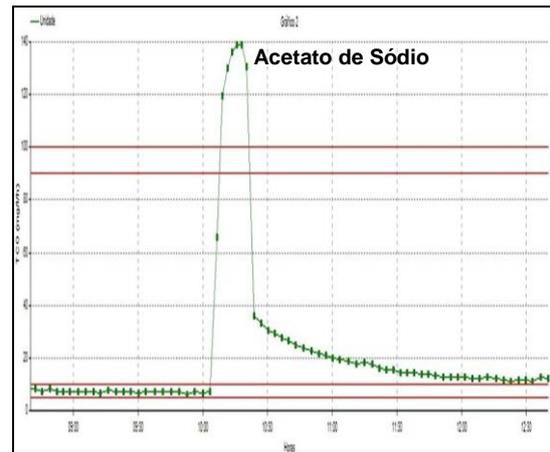
A: Teste Crônico: 5mgCr(VI)/L



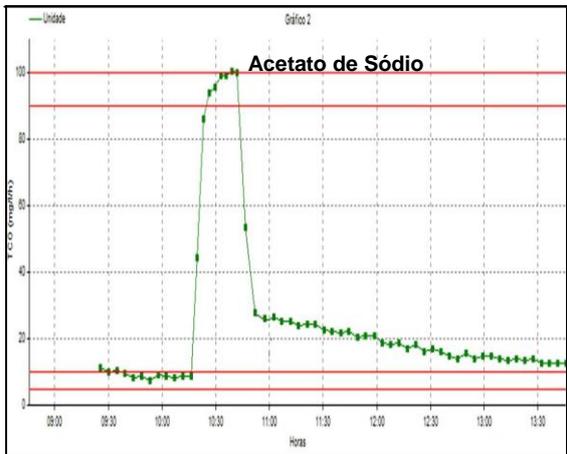
B: Teste Crônico: 10mgCr(VI)/L



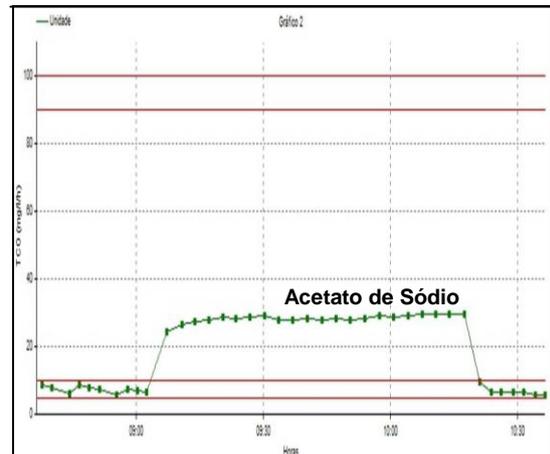
C: Teste Crônico: 20mgCr(VI)/L



D: Teste Crônico: 40mgCr(VI)/L



E: Teste Crônico: 80mgCr(VI)/L



F: Teste Crônico: 160mgCr(VI)/L

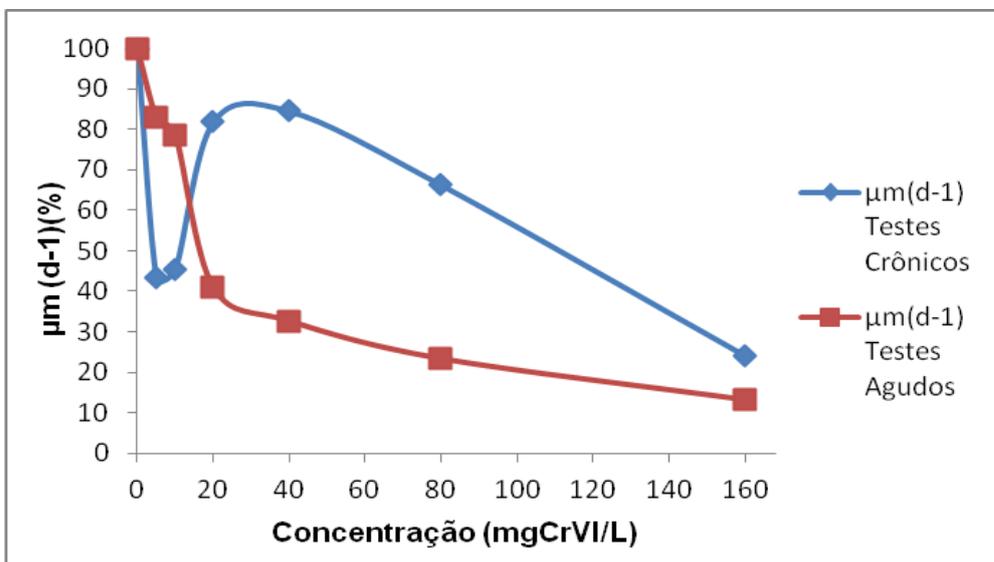
Em cada teste respirométrico foi adicionado inicialmente Cloreto de Amônia (NH_4Cl) e Nitrito de Sódio (NaNO_2), para verificar a TCO das bactérias autotróficas (nitrificantes e nitradoras), não houve reação em nenhum dos testes, posteriormente foi adicionado o Acetato de Sódio ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) para as heterotróficas, conforme o observado, em todas as concentrações de Cr(VI) as bactérias reagiram positivamente, ultrapassando a linha vermelha do gráfico que marca nestes testes os limites superiores de 90 e 100 $\text{mgO}_2/\text{L/h}$, exceto quando a biomassa estava exposta a concentração de 160 mgCr/L (Figura 15.F) que embora caracterizasse a entrada de uma carga tóxica que chegou a reduzir drasticamente a TCO, a quantidade de material tóxico foi insuficiente para causar instabilidade das bactérias heterotróficas no sistema, devido à aclimação da biomassa.

A fim de confirmar a inibição das bactérias autotróficas era realizada uma segunda adição de Cloreto de Amônia (NH_4Cl) e Nitrito de Sódio (NaNO_2).

4.4 Comparação do Efeito Tóxico Agudo e Crônico de Cr(VI) para a Biomassa em Sistema de Lodo Ativado.

Os dados da Figura 4.16 apresentam os resultados em porcentagem da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos em testes de toxicidade aguda e crônica.

Figura 4.16 - Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos heterotróficos, referentes a diferentes concentrações de Cr(VI) nos testes de toxicidade aguda e crônica.



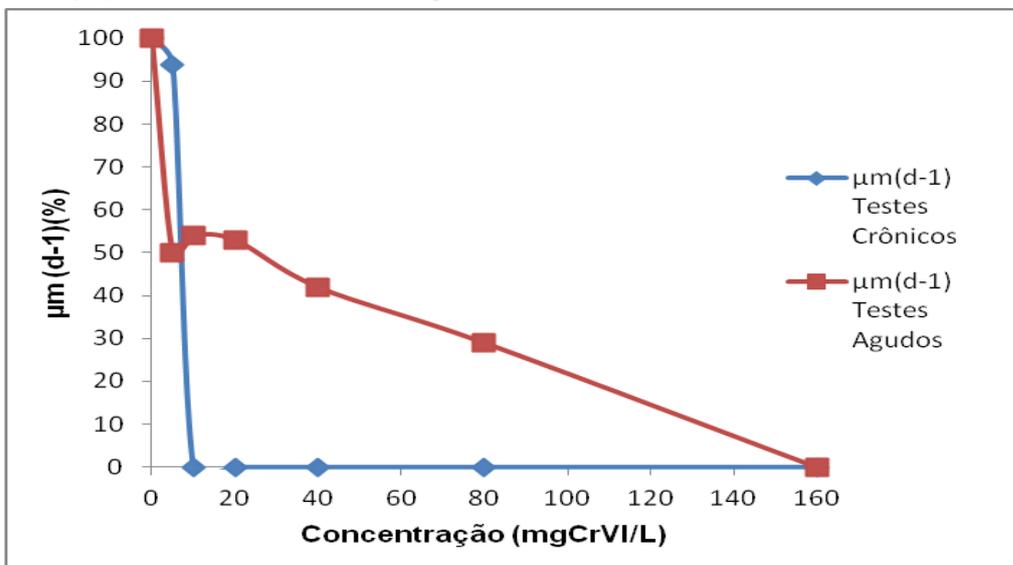
Constata-se que, enquanto nos testes agudos o (μ_m) decai gradativamente de acordo com o aumento da concentração de Cr(VI), nos testes crônicos houve um aumento pronunciado do (μ_m) a partir de 10mgCr(VI)/L em relação as adições Cr(VI).

Os resultados indicam que o efeito tóxico crônico sobre o crescimento da biomassa torna-se moderado, demonstrando a aclimatação do lodo que recebia diariamente em seu afluente concentrações de Cr(VI), quando comparado ao efeito tóxico agudo, que apresentou um impacto maior sobre a inibição de crescimento, devido ao estresse imediato ao Cr(VI), evidenciando que uma cultura aclimatada de lodo ativado é completamente capaz de lidar com o Cr(VI).

Nas primeiras adições de 5mgCr(VI)/L e 10mgCr(VI)/L nos testes crônicos, o (μ_m) apresentou maior inibição do que nos testes agudos, fato explicado pelo processo inicial de adaptação dos microrganismos à presença de Cr(VI), no RBS2 - testes de toxicidade crônica.

A ação tóxica da concentração de 20mgCr(VI)/L sobre os microrganismos é veemente em ambos os testes; no teste de toxicidade aguda o (μ_m) reduziu em mais de 50%, enquanto que, no teste de toxicidade crônica nota-se o crescimento dos microrganismos em mais de 50%. Na Figura 4.17 estão expostos os resultados em porcentagem da taxa de crescimento específico máximo (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes em testes de toxicidade aguda e crônica.

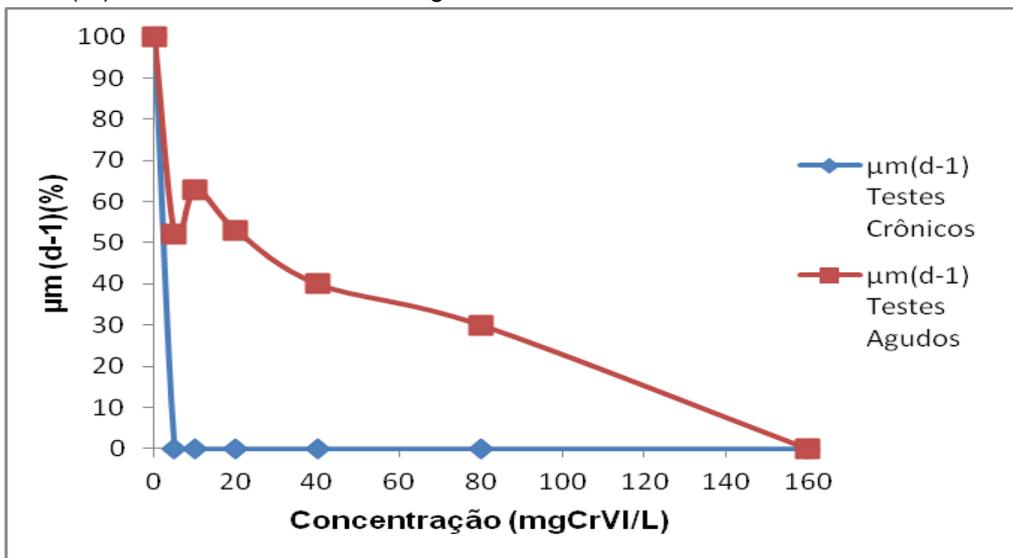
Figura 4.17 – Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificantes, referentes a diferentes concentrações de Cr(VI) nos testes de toxicidade aguda e crônica.



De acordo com os dados apresentados as bactérias nitrificantes não responderam a nenhum teste respirométrico de avaliação da toxicidade crônica a partir de 10mgCr(VI)/L, exceto no segundo dia de adição de 5mgCr(VI)/L no RBS2, depois não apresentaram mais reação com esta concentração. Nota-se que o tempo de exposição das bactérias nitrificantes as concentrações diárias de Cr(VI) torna-se um fator limitante, não admitindo o processo de aclimação.

Na avaliação da toxicidade aguda as bactérias reagiram as concentrações iniciais de 5mgCr(VI)/L, 10mgCr(VI)/L, 20mgCr(VI)/L, 40mgCr(VI)/L, embora com a metade de sua atividade metabólica, mantendo-se aproximadamente em 50%, apresentando dose letal com apenas 160mgCr(VI)/L. A Figura 4.18 esquematiza os valores percentuais do efeito tóxico agudo e crônico das bactérias autotróficas nitrificadoras.

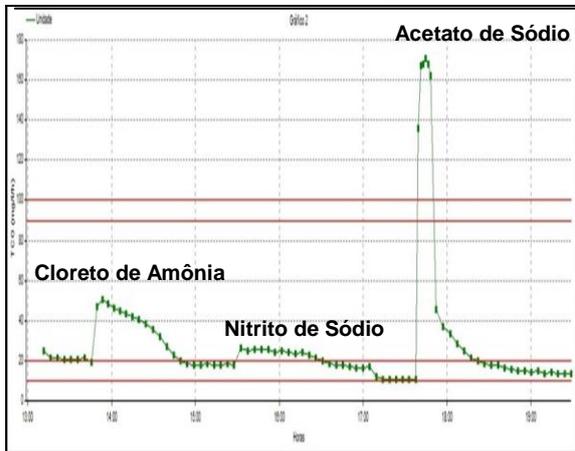
Figura 4.18 – Valores percentuais da taxa de crescimento específico máxima (μ_m) dos microrganismos autotróficos nitrificadores, referentes a diferentes concentrações de Cr(VI) nos testes de toxicidade aguda e crônica.



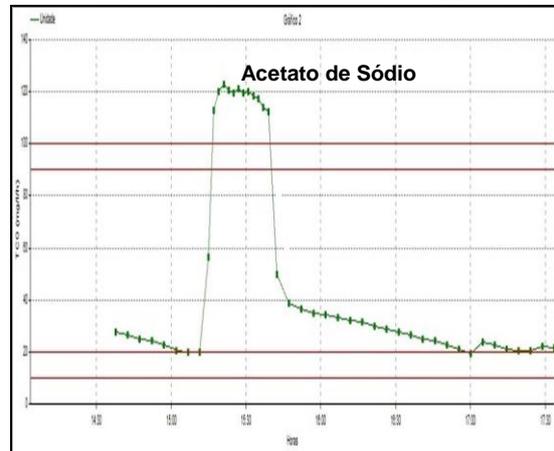
Conforme o esperado, as bactérias autotróficas nitrificadoras não reagiram a nenhum dos testes respirométricos de toxicidade crônica, fato já diagnosticado nos testes anteriores com as autotróficas nitrificantes, sendo neste caso, ausente qualquer reação inicial das nitrificadoras. Em relação aos testes de toxicidade aguda, as bactérias nitrificadoras apresentaram comportamento semelhante as nitrificantes, porém apresentando redução maior do (μ_m) e dose letal quando expostas a concentração de 160mgCr(VI)/L. A Figura 4.19 retrata uma série comparativa de

respirogramas dos testes de toxicidade aguda e crônica, sendo a biomassa exposta as mesmas concentrações de Cr(VI).

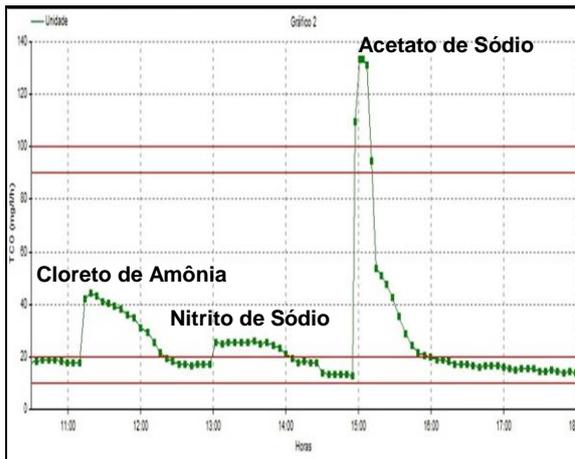
Figura 4.19 - Série de respirogramas representando a Taxa de Consumo de Oxigênio - TCO dos microrganismos autotróficos e heterotróficos, referentes a diferentes concentrações de Cr(VI) nos testes de toxicidade aguda e crônica.



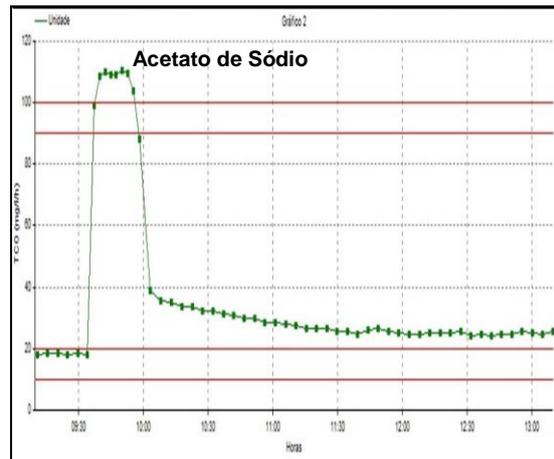
A.1: Teste Agudo - 5mgCr(VI)/L



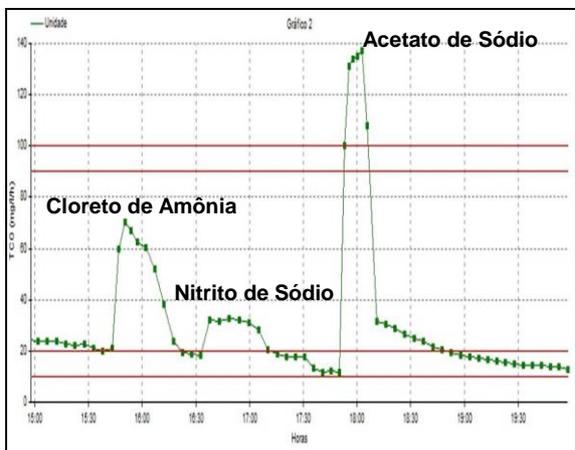
A.2: Teste Crônico - 5mgCr(VI)/L



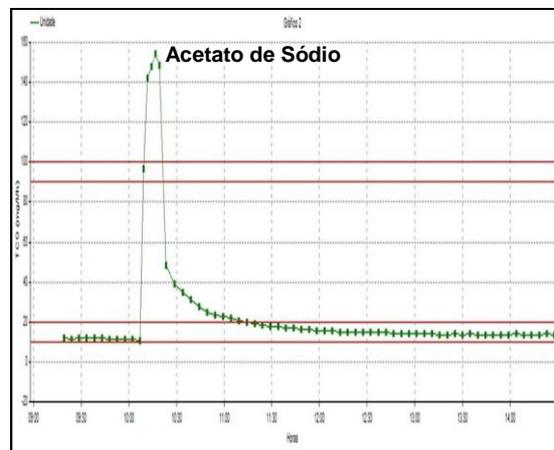
B.1: Teste Agudo - 10mgCr(VI)/L



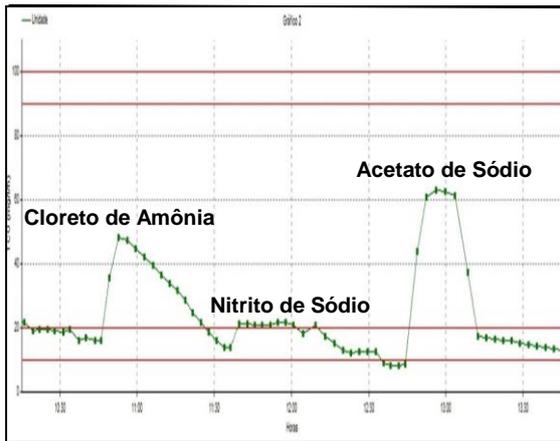
B.2: Teste Crônico - 10mgCr(VI)/L



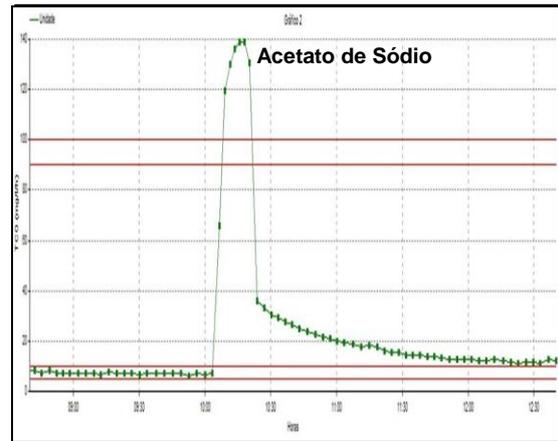
C.1: Teste Agudo - 20mgCr(VI)/L



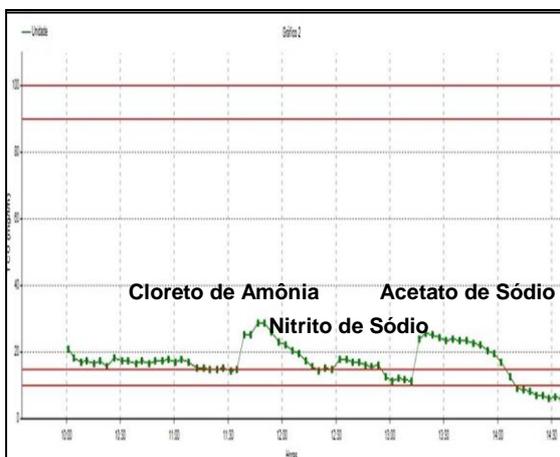
C.2: Teste Crônico - 20mgCr(VI)/L



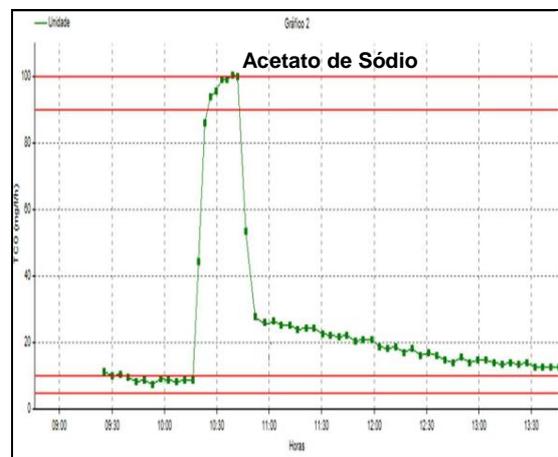
D.1: Teste Agudo - 40mgCr(VI)/L



D.2: Teste Crônico - 40mgCr(VI)/L



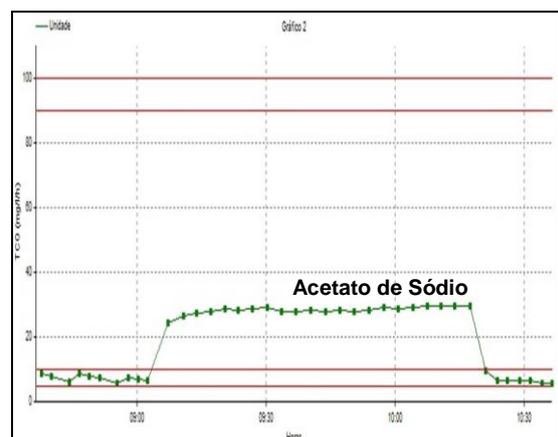
E.1: Teste Agudo - 80mgCr(VI)/L



E.2: Teste Crônico - 80mgCr(VI)/L



F.1: Teste Agudo - 160mgCr(VI)/L



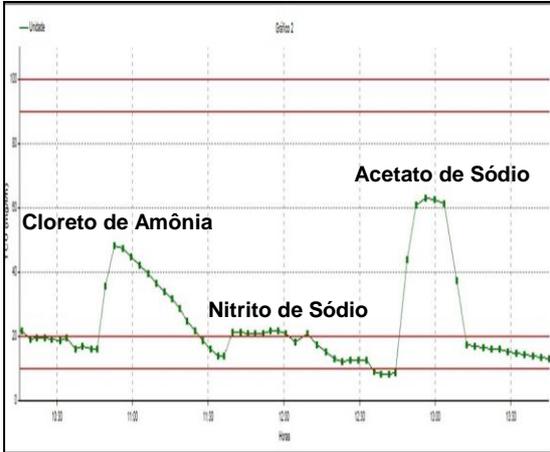
F.2: Teste Crônico - 160mgCr(VI)/L

Analisando os respirogramas dois aspectos importantes foram comparados: (a) a taxa máxima de consumo de oxigênio - $TCO_{m\acute{a}x}$, exercida pelos microrganismos nos dois cenários e a (b) área total do gráfico (que representa proporcionalmente o total de oxigênio consumido). É possível visualizar a ação das bactérias autotróficas nitrificantes e nitradoras em todas as concentrações de Cr(VI) nos testes de

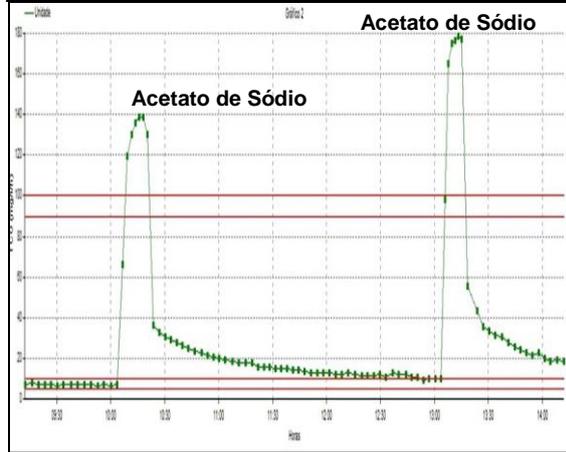
toxicidade aguda (Figura 4.19 - A1; B1; C1; D1 e E1) exceto quando exposto a 160mgCr(VI)/L (Figura 4.19 - F1), enquanto que para as bactérias heterotróficas pode-se associar a redução da $TCO_{m\acute{a}x}$, com o aumento da concentração de Cr(VI), visto nas Figuras 4.19 - A1; B1; C1; D1, E1 e F1, através da reação das bactérias ao acetato de sódio, além disso a partir dos testes realizados com 20mgCr(VI)/L, verifica-se aumento total de oxigênio consumido, levando aproximadamente cerca de 2h para o consumo do substrato adicionado, em uma concentração de 160mgCr(VI)/L (Figura 4.19 - F1). Comparando, aos testes de toxicidade crônica, as bactérias nitrificantes apresentaram condições de inibição em todas as concentrações de Cr(VI) adicionadas no RBS2, conforme as Figuras 4.19 - A2; B2; C2; D2, E2 e F2, que representam os respirogramas realizados no 15º dia de exposição da biomassa ao Cr(VI). O comportamento apresentado das bactérias heterotróficas ao efeito tóxico crônico do Cr(VI), difere do observado pelo efeito tóxico agudo, a $TCO_{m\acute{a}x}$ que decai gradativamente nos testes de toxicidade aguda, no crônico eleva-se a partir da exposição da biomassa a uma concentração de 20mgCr(VI)/L (Figura 4.19 - C2) revelando-se a maior $TCO_{m\acute{a}x}$ com 40mgCr(VI)/L (Figura 4.19 - D2), reduzindo quando exposto a 80mgCr(VI)/L e 160mgCr(VI)/L (Figura 4.19 - E2 e F2), em relação ao consumo de oxigênio, a biomassa com 160mgCr(VI)/L, apresentou -o aumento.

Após, diagnosticado que no RBS2 o lodo aclimatado atingiu faixa ótima de crescimento máximo de $6,04\text{ d}^{-1}$ com 40mgCr(VI)/L, foram realizados a partir desta concentração testes agudo no lodo aclimatado, adicionando a concentração de Cr(VI) que a biomassa já estava exposta. Na Figura 4.20, mostra uma sequência comparativa de um teste de toxicidade aguda e um teste de toxicidade crônica com as mesmas concentrações de Cr(VI), sendo que no término do teste de toxicidade crônica realizava-se um agudo, aplicando-se antes da segunda adição de Acetato de Sódio ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) a mesma concentração de Cr(VI) do teste de toxicidade aguda, resultando o dobro da concentração Cr(VI) presente na biomassa.

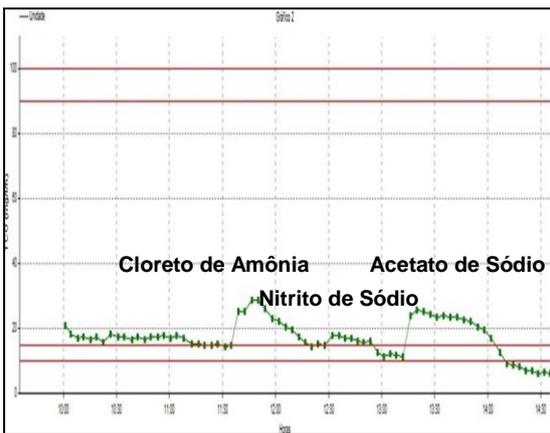
Figura 4.20 - Série de respirogramas representando a Taxa de Consumo de Oxigênio - TCO dos microrganismos autotróficos e heterotróficos, nos testes de toxicidade aguda e crônica e de testes de toxicidade aguda no lodo aclimatado.



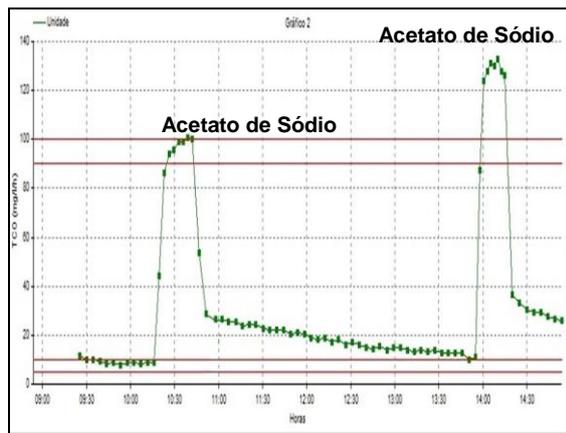
A.1: Teste Agudo - 40mgCr(VI)/L



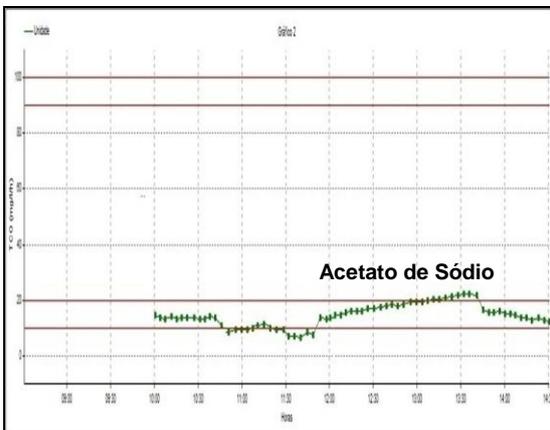
A.2: Teste Crônico - 40mgCr(VI)/L; Teste Agudo - 40mgCr(VI)/L



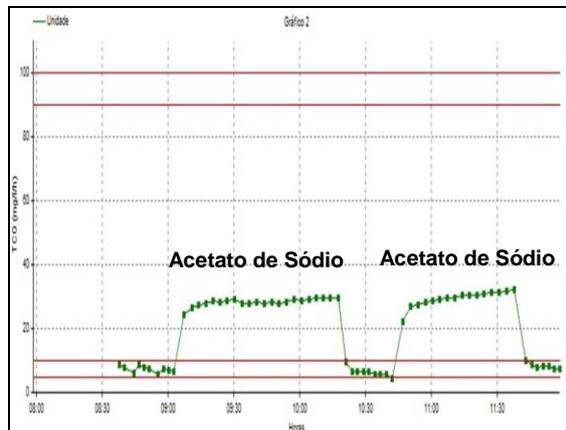
B.1: Teste Agudo - 80mgCr(VI)/L



B.2: Teste Crônico - 80mgCr(VI)/L; Teste Agudo - 80mgCr(VI)/L



C.1: Teste Agudo - 160mgCr(VI)/L



C.2: Teste Crônico - 160mgCr(VI)/L; Teste Agudo - 160mgCr(VI)/L

Através dos testes respirométricos apresentados na Figura 4.20, observa-se o comportamento da TCO no teste agudo em lodo não aclimatado e em lodo aclimatado. A segunda batelada representada no final do teste crônico mostra o quanto os microrganismos reagiram eficientemente na presença de Cr(VI), quando comparado ao teste agudo inicial.

4.5 Desempenho do Sistema Experimental - RBS1 e RBS2

O desempenho do sistema operado, constituído por dois reatores RBS1 e RBS2 foram analisados a partir das variáveis citadas na Seção 3.5.3, Tabela 3.1 do Capítulo 3. As Tabelas 4.16, 4.17, 4.18 e 4.19 contêm os valores médios, das variáveis analisadas de amostras coletadas do afluente e efluente, durante os meses de agosto de 2013 a dezembro de 2013.

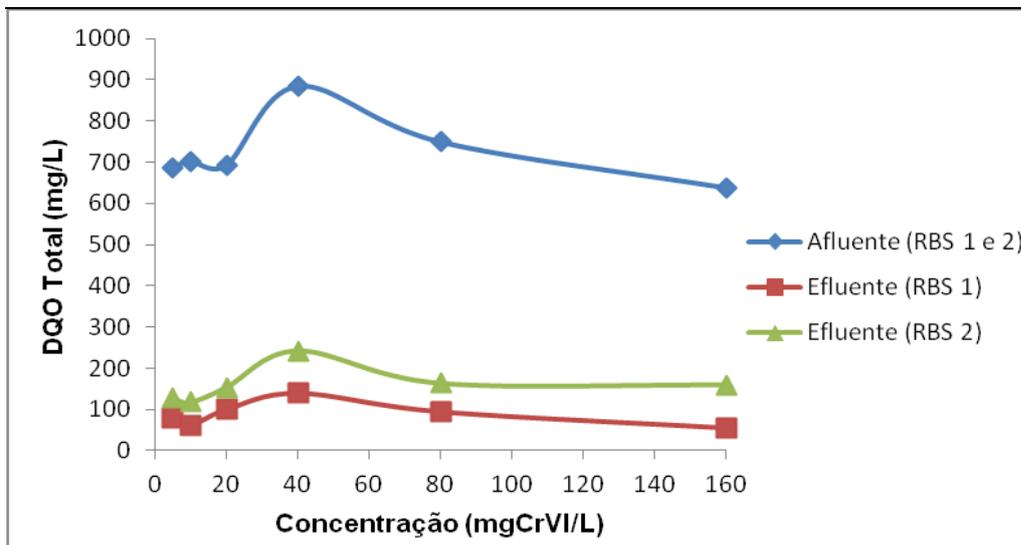
4.5.1 DQO Total

O parâmetro DQO foi utilizado para avaliar a remoção da matéria orgânica no sistema experimental. De acordo com a Tabela 4.16 e a Figura 4.21 apresentam a variação média da concentração de DQO total, encontrada no afluente RBS1 e 2 e nos efluentes do RBS1 e do RBS2.

Tabela 4.16 – Concentrações de DQO Total do afluente RBS1 e RBS2 e efluentes dos RBS1 e 2.

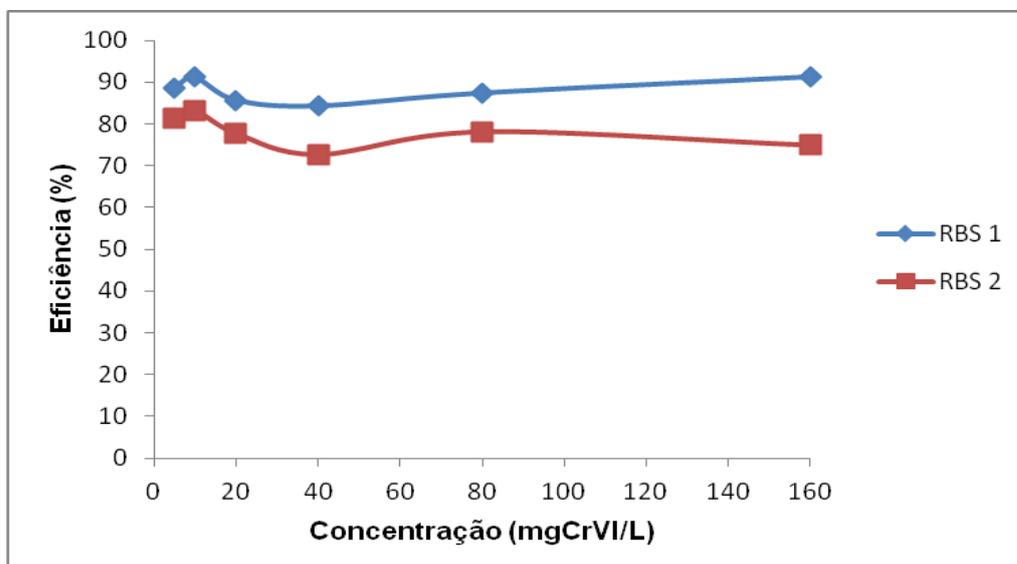
CONCENTRAÇÃO (mgCr(VI)/L)	AFLUENTE RBS1 e 2 DQO(mg/L)	EFLUENTE RBS1 DQO(mg/L)	EFLUENTE RBS2 DQO(mg/L)
5	686,33	78,33	127,33
10	702,50	62,00	118,00
20	692,50	99,50	153,50
40	884,50	139,50	241,00
80	749,50	94,50	163,50
160	638,00	55,00	159,50

Figura 4.21 – Variação média das concentrações de DQO Total do afluente RBS1 e RBS2 e efluentes dos RBS1 e 2.



Os valores médios de DQO total do afluente RBS1 e RBS2 variaram de 638mg/L a 885mg/L, no efluente RBS1 a variação média foi de 55mg/L a 140mg/L e no efluente RBS2 de 118mg/L a 241mg/L. A Figura 4.22 apresenta os resultados referentes a eficiência de remoção de DQO total do sistema. Pode se observar que apesar da grande diminuição da atividade das bactérias heterotróficas devido à presença de Cr(VI) no RBS2, a eficiência de remoção de material orgânico permaneceu relativamente alta, indicando que havia capacidade de tratamento nos reatores.

Figura 4.22 – Eficiência de remoção de DQO Total dos efluentes dos RBS1 e 2.



Analisando-se os valores médios da DQO efluente, calcula-se uma eficiência de remoção de 91% para o RBS1- reator controle e 83% aproximadamente para o RBS2 - reator que recebe as cargas tóxicas.

Durante todas as adições de concentrações de Cr(VI), o RBS2 removeu a DQO satisfatoriamente, variando entre 73% a 83%, obtendo o mínimo de remoção com 40mgCr/L, fato justificado também pela redução da eficiência do RBS1 - reator controle.

Esses percentuais de remoção indicam que o RBS1 atingiu o desempenho esperado para sistemas de lodo ativado (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999). Enquanto que o RBS2 apresentou eficiência reduzida em relação ao RBS1 em todas as concentrações de Cr(VI), sendo de forma mais acentuada quando exposto a 160mgCr(VI)/L, o que provocou um aumento da DQO no efluente, mas, em geral manteve-se a biomassa heterotrófica estável.

Os resultados obtidos através da análise de DQO confirmam com os calculados a partir dos testes respirométricos, em que a comunidade de bactérias heterotróficas apresentaram resistência a exposição de Cr(VI) durante todas as mudanças de concentração no RBS2.

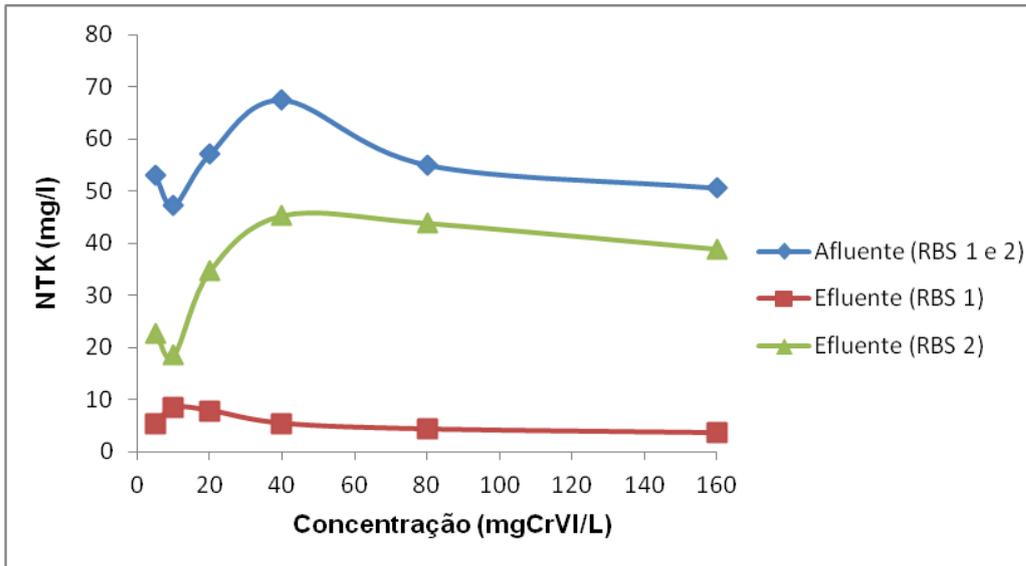
4.5.2 Nitrogênio Total Kjeldahl - NTK

A Tabela 4.17 e a Figura 4.23 apresentam os valores das concentrações médias de NTK no afluente e nos efluentes dos RBS1 e 2 correspondentes aos períodos nos quais cada concentração de Cr(VI) foi adicionada.

Tabela 4.17 – Concentrações de NTK do afluente RBS1 e RBS2 e efluentes dos RBS1 e 2.

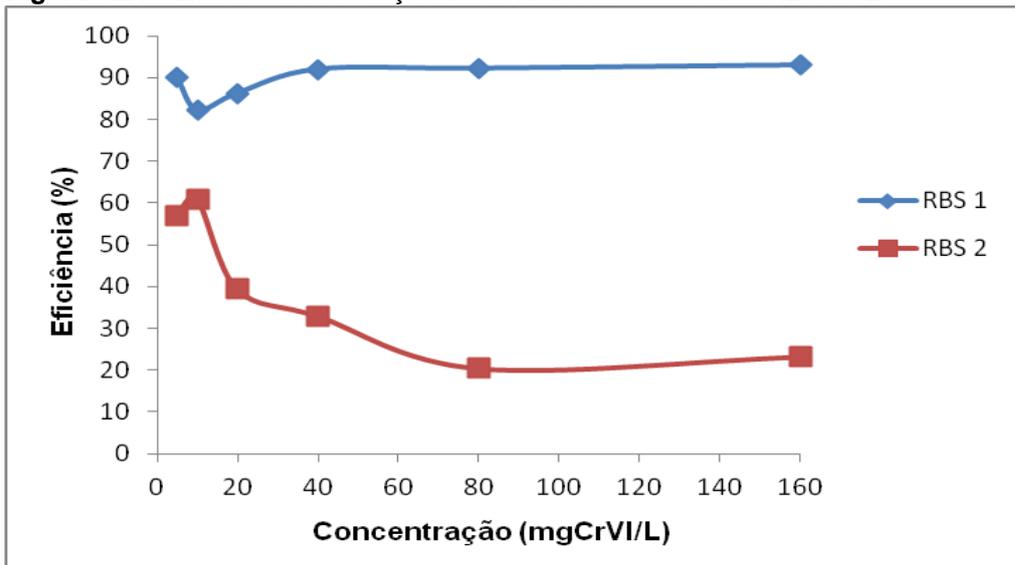
CONCENTRAÇÃO (mgCr(VI)/L)	AFLUENTE RBS1 e 2 NTK(mg/L)	EFLUENTE RBS1 NTK(mg/L)	EFLUENTE RBS2 NTK(mg/L)
5	53,01	5,23	22,77
10	47,32	8,40	18,48
20	57,11	7,83	34,64
40	67,50	5,37	45,26
80	55,06	4,26	43,80
160	50,64	3,53	38,87

Figura 4.23 – Variação média das concentrações de NTK do afluente RBS1 e RBS2 e efluentes dos RBS1 e 2.



Os resultados apresentados na Figura 4.23 mostram que os valores médios de NTK no afluente RBS1 e 2 variaram de 47 mg/L à 67 mg/L. Quanto às concentrações de NTK nos efluentes, a variação média foi de 3,53 mg/L à 8,40 mg/L no RBS1 e 6,73 mg/L à 39,12 mg/L no RBS2. Na Figura 4.24 estão ilustrados os resultados referentes a eficiência de remoção de NTK do sistema.

Figura 4.24 - Eficiência de remoção de NTK dos efluentes dos RBS1 e 2.



Em percentuais, a partir da primeira concentração de 5mgCr(VI)/L, o RBS2, apresentou eficiência média de 57%, reduzindo a 20% quando exposto a concentração de 80mgCr(VI)/L enquanto que, o RBS1 apresentava 92% de eficiência. Constatou-se que a exposição por período acentuado dos microrganismos autotróficos ao Cr(VI), reduz a eficiência da remoção de NTK do sistema de tratamento de lodo ativado. No entanto, mesmo apresentando baixa eficiência verifica-se que as autotróficas ainda estão presentes, este fato se deve, provavelmente, a inibição dos microrganismos autotróficos que desempenham a remoção dos compostos nitrogenados.

4.5.3 Sólidos Suspensos Totais, Voláteis e Fixos

Na Tabela 4.18 e Figuras 4.25 e 4.26 encontram-se os valores médios de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV) e sólidos suspensos fixos (SSF), referentes ao comportamento do RBS1 reator teste controle e RBS2 - reator teste crônico que recebeu as diferentes mudanças de concentrações de Cr(VI), respectivamente. Os resultados estão expressos em mg/L.

Tabela 4.18 – Concentrações de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV) e sólidos suspensos fixos (SSF) do RBS1 e do RBS2.

CONCENTRAÇÃO (mgCr(VI)/L)	RBS1 - Teste Controle			RBS2 - Teste Crônico		
	SST	SSV	SSF	SST	SSV	SSF
5	4996	4159	837	3762	3001	761
10	5686	4650	1036	3816	2970	846
20	5918	4966	952	4738	3693	1045
40	5414	4504	910	5825	4086	1739
80	4093	3420	673	5911	3754	2157
160	3814	3160	654	5280	3158	2122

Figura 4.25 – Variação média de SST, SSV, SSF do RBS1 em diferentes concentrações de (CrVI).

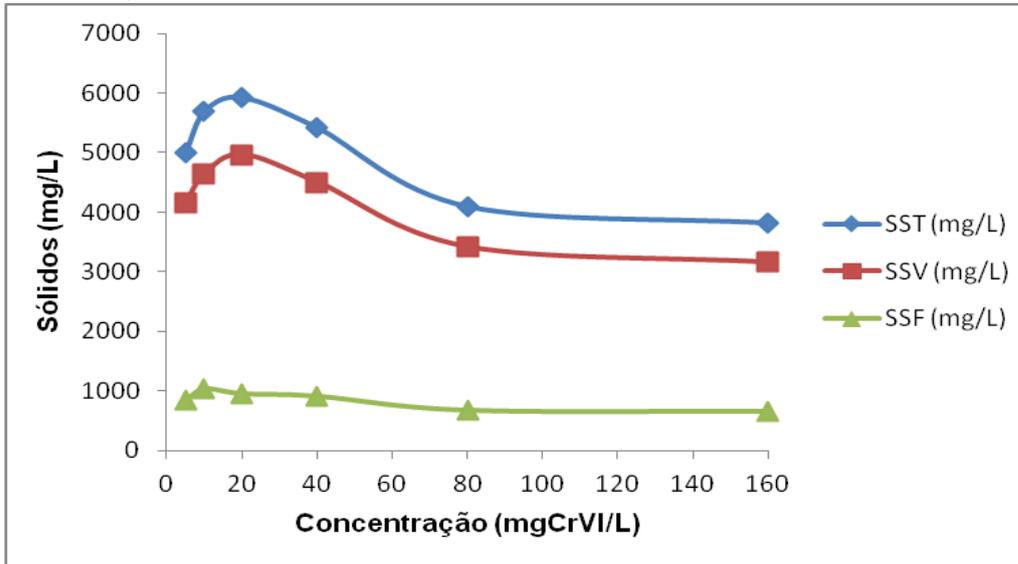
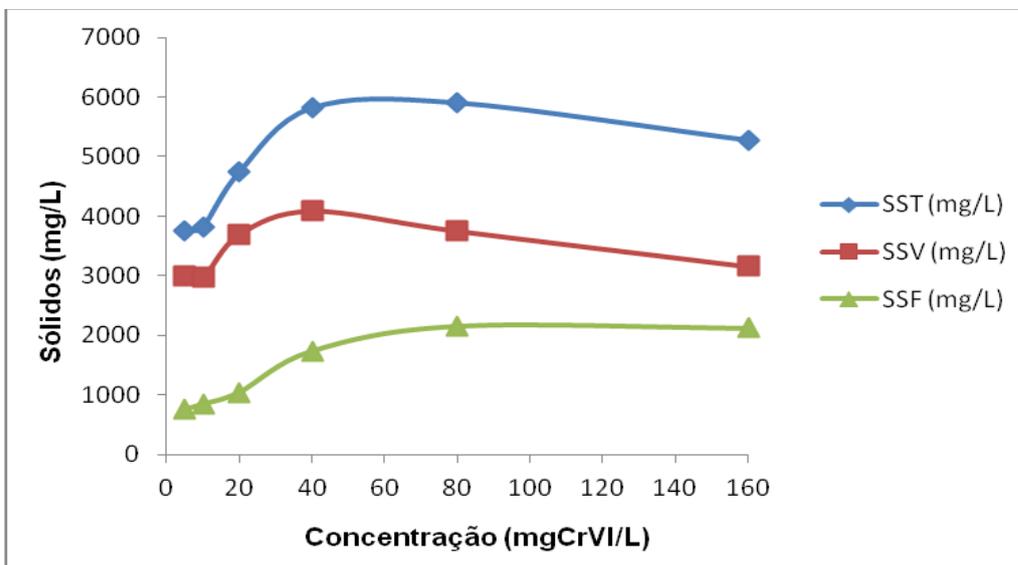


Figura 4.26 - Variação média de SST, SSV, SSF do RBS2 em diferentes concentrações de (CrVI).



O comportamento dos sólidos suspensos voláteis do RBS2 foram semelhantes aos testes respirométricos de toxicidade crônica, com o aumento da concentração de Cr(VI) no RBS2, o crescimento da biomassa foi mais pronunciado em 40mgCr(VI)/L, sendo mantido mesmo em concentração de 80mg/L de Cr(VI). Assim como, verificou-se pequenos acréscimos de sólidos suspensos fixos, em virtude da adição gradativa dos sais de Cr(VI).

Mesmo com uma variação simultânea dos valores de sólidos do RBS1 e do RBS2, entende-se que as concentrações de Cr(VI) introduzidas no RBS2 não afetou drasticamente a taxa de crescimento da biomassa, assegurando então que os microrganismos se aclimatizaram ao cromo. Por outro lado, houve perda significativa na eficiência no tratamento, desde as adições iniciais de Cr(VI).

CAPÍTULO 5

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em cumprimento aos objetivos propostos, os resultados obtidos nesta pesquisa podem ser resumidos nas seguintes conclusões:

Sobre os Testes de Toxicidade Aguda:

Os testes tóxicos agudos foram conduzidos em escala de bancada (alíquotas de 1L), utilizando a respirometria, as faixas de concentrações de Cr(VI) testadas foram 5mg/L, 10mg/L, 20mg/L, 40mg/L, 80mg/L e 160mg/L.

- O Cr(VI) apresentou efeito tóxico tanto para as bactérias heterotróficas quanto para as autotróficas. Os microrganismos heterotróficos apresentaram redução de 50% da sua capacidade de crescimento máximo para uma concentração de 20mgCr(VI)/L. Contudo, na concentração máxima de Cr(VI) testada (160mgCr(VI)/L), não foi observada inibição total das bactérias, verificando ainda 13% da taxa de crescimento.
- As bactérias autotróficas nitrificantes e o subgrupo nitrificadoras, quando foram expostas a um pulso de 5mgCr(VI)/L, obtiveram metade do (μ_m), com inibição total de crescimento a 160mgCr(VI)/L, apresentando assim, comportamento semelhantes nas duas situações.

Sobre os Testes de Toxicidade Crônica:

Os testes tóxicos crônicos foram conduzidos em reatores de 15L, recebendo diariamente concentrações de Cr(VI) nas faixas de 5mg/L, 10mg/L, 20mg/L, 40mg/L, 80mg/L, 160mg/L.

- Nas concentrações de 5mgCr(VI)/L e de 10mgCr(VI)/L, o efeito observado foi de CL50%, no entanto, nas fases seguintes (20mgCr(VI)/L, 40mgCr(VI)/L e

80mgCr(VI)/L) houve um reestabelecimento da atividade biológica, obtendo uma redução média de 80% em comparação com o controle. Por fim, na última concentração de 160mgCr(VI)/L, o efeito de redução foi de 24%.

- Os microrganismos heterotróficos aclimatizaram-se com o tempo, contudo este processo de aclimação, torna-se limitado as concentrações relativamente mais elevadas de Cr(VI), visto que os microrganismos não foram capaz de continuar à aclimação na concentração de 160mgCr(VI)/L.
- Para as biomassa autotrófica, mesmo recebendo as dosagens contínuas de Cr(VI), inviabilizou-se a existência de bactérias nitrificantes no reator.

Sobre a Eficiência do Sistema:

- Os parâmetros analisados de eficiência do RBS2 - reator que recebia doses tóxicas de Cr(VI), comparados com o RBS1 - reator controle, mostraram que, apesar de haver muita variação no valor da constante (μ_m) no RBS2, a eficiência da DQO se manteve aproximadamente constante nos dois reatores, independentemente, da concentração de Cr(VI) adicionado. Isto se explica pelo fato que a capacidade de tratamento nos sistemas é muito maior que a carga orgânica aplicada, mesmo havendo redução considerável do valor de (μ_m).
- Em contraste, a eficiência da nitrificação foi fortemente reduzida, na medida que aumentou a concentração de Cr(VI) adicionado, chegando a ser inibida para concentrações de Cr maiores que 10mgCr(VI)/L, fato verificado em todos os testes respirométricos de toxicidade crônica.
- Conclui-se que, o Cr(VI) tem o efeito inibidor mais acentuado para as bactérias autotróficas do que para as bactérias heterotróficas.
- A determinação da toxicidade aguda e crônica, para a biomassa de lodo ativado, utilizando a respirometria, mostrou ser confiável e muito mais rápida que os métodos

mais convencionais, sendo possível, realizar à análise do impacto do composto tóxico no tratamento do efluente.

6. REFERÊNCIAS

APHA, AWWA, WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington, DC, 21th Ed. 2012.

BARNHART, J. Occurrences, uses, and properties of chromium. **Regulatory Toxicology and Pharmacology** 26, p. 53-57, 1997.

BENCHEIKE-LATMANI, R.; OBRAZTSOVA, A.; MACKEY, M.R.; ELLISMAN, M.H.; TEBO, B.M. Toxicity of Cr(III) to *Shewanella* sp. strain MR-4 during Cr(VI) reduction. **Environmental Science e Tehnology** 41, p.214-220, 2007.

BENTO, A. P. *et al.* Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgoto do tipo lodos ativados: um instrumento de avaliação e controle do processo. **Eng. Sanit. Ambiental**, v. 10(4), 329-338. 2005.

BRUINS, M.R.; KAPIL, S.; OEHME, F.W. Microbial resistance to metals in the environment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v.45, p.198-207, 2000.

CAIRNS JR,J. NIEDERLEHNER, B. P.; BIDWELL, J. R. Ecological toxicity testing. In: MEYERS, R. A. (Ed.) **Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation**. Jonh Wiley & Sons, Inc.,1998.

CATUNDA, S. Y. C.; DEEP, G. S.; VAN HAANDEL, A. C.; FREIRE, R. C. S. **Fast on-line measurement of the respiration rate in activated sludge systems**. IEEE Instrumentation and measurement technology conference Bruxelas, Bélgica, p.4-6, Junho, 1996.

CERVANTES, C. E. V. *et al.* Interactions of chromium with microorganisms and plants. **FEMS Microbiol. Rev.**, 25, p. 335-347, 2001.

CERVANTES, C., CAMPOS-GARCIA, J. Reduction and Efflux of Chromate by Bacteria. **Molecular Microbiology of Heavy Metals**. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, p. 407-419, 2007.

DALZELL, D.J.B., ALTE, S., ASPICHUETA, E., DE LA SOTA, A., ETXEBARRIA, J., GUTIERREZ, M., HOFFMANN, C.C., SALES, D., OBST, U., CHRISTOFI, N A comparison of five rapid direct toxicity assessment methods to determine toxicity of pollutants to activated sludge. **Chemosphere** v. 47, p. 535 - 545, 2002.

DIVE, D.; GABRIEL, L.; HANSSENS, O.; *et. al.* Studies on interactions between components of electroplating industry wastes: influence of nickel and calcium on interactions between cadmium, copper, chromium and zinc. **The Science of the Total Environment**, v.87/88. p.355-364, 1989.

DIVE, D.; POMMERY, N.; LALANDE, M.; *et. al.* Cadmium complexation by humic substance: Chemical and ecotoxicological study with ciliate protozoan Colpidium campylum. **Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.**, v.1163. p.9-21, 1982.

DOLD, P.L.; EKAMA, G.A.; MARAIS, G.V.R., **A General Model for the Activated Sludge Process**, Prog. Wat. Tech, 12, p.47-77, 1980.

ECKENFELDER, W. W. **Activated sludge process design and control: Theory and practice**. Water Quality Management Library, Vol. 1. 1992.

ELLIS, A. S.; JOHNSON, T. M.; BULLEN, T. D. Chromium isotopes and the fate of hexavalent chromium in the environment. **Science**, v. 295, p.2060-2062, mar. 2002.

FERNANDES, J. G. S. **Utilização da Respirimetria no Controle Operacional de Sistemas Aeróbios de Tratamento de Águas Residuárias**. Dissertação. Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 1999.

FORSTNER, U.; WITTMANN, G. T. W. Metal pollution in the aquatic environment. **Springer- Verlag**. Germany. p. 487, 1983.

GHARIEB, M.M., GADD, G.M., Role of glutathione in detoxification of metal(loid)s by *Saccharomyces cerevisiae*. **BioMetals** 17, p. 183-188, 2004.

GIKAS, P., ROMANOS, P. Effects of tri-valent (Cr(III)) and hexa-valent (Cr(VI)) chromium on the growth rate of activated sludge. **Journal of Hazardous Materials** B133, p. 212-217, 2006.

GOKCAY, C.F. & YETIS, U. **Effect of Chromium(VI) on Activated Sludge**. *Wat. Res.* vol. 25, no. 1, p. 65-73, 1991.

GRATÃO, P. L.; POLLE, A.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Making life of heavy metal-stressed plants little easier. **Funct. Plant Biol.**, v. 32, p.481-494, 2005.

HORAN, N.J. **Biological wastewater treatment systems: theory and operation**. New York: Wiley, p 310, 1990.

JENKINS, D.; RICHARD, M. G.; DAIGGER, G. T. **Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming, and other solids separation problems**. Boca Raton: Lewis Publishers, 3rd ed. 2003.

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 4. ed. Belo Horizonte: Segrac Editora, v. 1, p 906, 2005.

JULIASTUTI, S.R.; BAEYENS, J.; CREEMERS, C.; BIXIO, D.; LODEWYCKX, E. **The inhibitory effects of heavy metals and organic compounds on the net maximum specific growth rate of the autotrophic biomass in activated sludge**. *J. Hazard. Mater.*100, p. 271–283, 2003.

KOTÁS, J.; STASICKA, Z. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. **Environ Pollut.** v.107, p. 263-283, 2000.

LASKAUSKAITE, D. A. **Abundance dynamics of protozoa in composted urban sewage sludge**. *Destruction of organic matter in soil*, p.86-88,1989.

MADONI, P., DAVOLI, D., GORBI, G., VESCOVI, L. Toxic effects of heavy metals on the activated sludge protozoan community. **Water Research** 30, p. 135 - 141, 1996.

MARAIS, G. V. R.; EKAMA, G. A. **The activated sludge process Part I: steady state Behaviour**. Water SA, v.2, n.4, p.164-200, October, 1976.

MARQUES, T.C.L.L. **Crescimento e absorção de metais em mudas de espécies arbóreas em solo contaminado com metais pesados**. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 2000.

MCCARTHY, P.L. **Anaerobic waste treatment fundamentals, Part III. Toxic materials and their control**, Public Works 95 (11) p.91–99, 1964

METCALF, EDDY. **Wastewater Engineering: treatment disposal and reuse**. 3^a ed. McGraw-Hill, Inc.: New York, p.1334, 1991.

MIRETZKY, P.; SARALEGUI, A.; CIRELLI, A. F. Aquatic macrophytes potential for the simultaneous removal of heavy metals (Buenos Aires, Argentina). **Chemosphere**, v. 57, n. 8, p.997-1005, 2004.

NIES, D.H. Microbial heavy-metal resistance. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 51, p.730- 750, 1999.

NIES, D.H.; SILVER, S. Ion efflux system involved in bacterial metal resistances. **J. Ind. Microbiol.** v. 14, p.186-199, 1995.

OLIVEIRA, A. S.; NIKAIDO, M.; FERREIRA, C. R.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. **Implantação do Sistema Tratamento de Esgoto por Lodos Ativados no Município de Ribeirão Preto, Sp: Importância da Avaliação de Metais Pesados no Lodo**. IRCT. NISAM - USP. 2004.

PANKRATZ, Tom M. **Environmental engineering dictionary and directory**. Thomas M. Pankratz. Lewis Publishers, Boca Raton; Florida. 2001.

PIVELI, R.P.; KATO, M.T. Ferro, Manganês e Metais Pesados em Águas. **Qualidade das águas e poluição**: aspectos físicos-químicos. São Paulo: ABES, p. 173-187, 2005.

RAMÍREZ-DÍAZ, M.I., DÍAZ-PEREZ, C., VARGAS, E., RIVEROS-ROSAS, H., CAMPOS-GARCÍA, J., CERVANTES, C. Mechanisms of bacterial resistance to chromium compounds. **Biometals**. v. 21, 321-332, 2008.

ROANE, T.M.; PEPPER, I.L. Microorganisms and metal pollutants. In: MAIER, R.M.; PEPPER, I.L.; GERBA, C. **Environmental Microbiology**. San Diego: Academic Press, chapter 17, 2000.

ROS, M. **Respirometry of activated sludge**. Technomic publishing company, Inc. Lancaster, p. 149, 1993.

SANTOS, E. V. M. **Desnitrificação em Sistemas de Lodo Ativado**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Campina Grande - UFCG. p. 114. 2009.

SILVA, A. C.; **Tratamento do percolado de aterro sanitário e avaliação da toxicidade do efluente bruto e tratado**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro- RJ, Brasil, 2002.

SILVA FILHO, H. A. **Nitrificação em Sistemas de Lodo Ativado**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Campina Grande - UFCG. p. 134. 2009.

SPANJERS, H., VANROLLEGHEM, P., OLSSON, G. e DOLD, P. Respirometry in control of the activated sludge process. **Water Science and Technology**, v34, n 3-4, p. 117-126, 1996.

SPANJERS, H., VANROLLEGHEM, P., OLSSON, G. e DOLD, P.L. IAWQ Task Group on Respirometry. Respirometry in control of the activated sludge process: principles, **Scientific and Technical Reports**. No. 7, IAWQ, London, 1998.

SPRAGUE, J. B.; RAMSAY, B. A. Lethal levels of mixed copper-zinc solutions for juvenile salmon. **J. Fish. Res.** v.22. p.425-432, 1965.

STASINAKIS, A.S., MAMAIS, D., THOMAIDIS, N.S., LEKKAS, T.D. Effect of chromium (VI) on bacterial kinetics of heterotrophic biomass of activated sludge. **Water Research** 36, p. 3341- 349, 2002.

VANKOVA, S., KUPEC, J., HOFFMANN, J. Toxicity of chromium to activated sludge. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 42, p.16-21,1999.

VAN HAANDEL, A. C.; CATUNDA, S. Y. C. **Respirometria aplicada ao sistema de lodo ativado: teoria e aplicações.** Campina Grande – PB. p.110. No prelo 2014.

VAN HAANDEL, A.; FERNANDES, J.G.S.; CAVALCANTI, P. F. F.; COURA L. R. **Utilização da Respirometria no Controle Operacional de Sistemas Aeróbios de Tratamento de Águas Residuárias** - A Experiência da Cetrel. Vol. 6 - Nº 3 - jul/set 2001 e Nº 4 - out/dez 2001.

VAN HAANDEL, A. C. & MARAIS, G. **O comportamento do sistema de lodo ativado: teoria e aplicações para projetos e operação.** Epgraf, Campina Grande, 1999.

VAN HAANDEL, A., CAVALCANTI, P. F. F., CATUNDA, S. Y. C. e FERNANDES, J. G. S. **Uso da Respirometria para Controle de Sistemas de Lodo Ativado.** In: Seminário de Meio Ambiente em Indústrias de Processo. São Paulo, Brasil. pp. 147 - 161. 1998.

VON SPERLING, M. **Princípios de Tratamento Biológico de Águas Residuárias - Lodos Ativados.** 2 ed. ampliada. Belo Horizonte, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, DESA, Universidade Federal de Minas Gerais, v. 4, p. 428. 2002.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações.** São Carlos: Rima, 486p, 2008.

ZERDAZI, R. *et al.* Application of respirometry in the assessment of chromium contaminated waste waters treatment. **Energy Procedia**. v18 p. 438 – 448. 2012.