

**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES
PAULO HENRIQUE GOMES FERREIRA**

**PROCESSO DE ELIMINAÇÃO DE ÁGUA E
ESTABILIZAÇÃO POR ENZIMAS DO LODO ATIVADO DA
INDÚSTRIA PAPELEIRA E SUAS POSSÍVEIS
APLICAÇÕES**

**Mogi das Cruzes, SP
2009**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES
PAULO HENRIQUE GOMES FERREIRA

PROCESSO DE ELIMINAÇÃO DE ÁGUA E
ESTABILIZAÇÃO POR ENZIMAS DO LODO ATIVADO DA
INDÚSTRIA PAPELEIRA E SUAS POSSÍVEIS APLICAÇÕES

Dissertação apresentada ao curso de mestrado em Biotecnologia da Universidade de Mogi das Cruzes como parte dos requisitos para conclusão do curso.

Área de Concentração: Ciências Ambientais

Orientador: Prof^o. Dr. Nelson Eduardo Duran Caballero

Mogi das Cruzes, SP
2009

FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade de Mogi das Cruzes - Biblioteca Central

Ferreira, Paulo Henrique Gomes

Processo de eliminação de água e estabilização por enzimas do lodo ativado da indústria papelreira e suas possíveis aplicações / Paulo Henrique Gomes Ferreira. – 2009.

93 f.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Mogi das Cruzes, 2009

Área de concentração: Ciências Ambientais)

Orientador: Prof^o. Dr^o. Nelson Eduardo Duran Caballero

1. Tratamento enzimático 2. Redução de sólidos 3. Lodo ativado 4. Celulase I. Caballero, Nelson Eduardo Duran

CDD 660.634

ATAS
ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES

Às catorze horas do dia trinta de abril de dois mil e nove, na Universidade de Mogi das Cruzes, realizou-se a defesa de dissertação "Processos de Eliminação de Água e Estabilização por Enzimas do Lodo Ativado da Indústria Papeleira e suas Possíveis Aplicações" para obtenção do grau de Mestre pelo(a) candidato(a) **Paulo Henrique Gomes Ferreira**. Tendo sido o número de créditos alcançados pelo(a) mesmo(a) no total de 48 (quarenta e oito), a saber: 24 unidades de crédito em disciplinas de pós-graduação e 24 unidades de crédito no preparo da dissertação, o(a) aluno(a) perfaz assim os requisitos para obtenção do grau de Mestre. A Comissão Examinadora estava constituída dos Senhores Professores Doutores Nelson Eduardo Duran Caballero da Universidade Estadual de Campinas, Elisa Espósito e André Fernando de Oliveira da Universidade de Mogi das Cruzes, sob a presidência do(a) primeiro(a), como orientador(a) da dissertação. A Sessão Pública da defesa de dissertação foi aberta pelo Senhor Presidente da Comissão que apresentou o(a) candidato(a). Em seguida o(a) candidato(a) realizou uma apresentação oral da dissertação. Ao final da apresentação da dissertação, seguiram-se as arguições pelos Membros da Comissão Examinadora. A seguir a Comissão, em Sessão Secreta, conforme julgamento discriminado por cada membro, considerou o(a) candidato(a)

APROVADO por UNANIMIDADE
 (aprovado(a)/reprovado(a)) (unanimidade/maioria)

Mogi das Cruzes, 30 de ABRIL de 2009.

Comissão Examinadora

Julgamento

Nelson Duran
 Prof. Dr. Nelson Eduardo Duran Caballero

APROVADO
 (aprovado(a)/reprovado(a))

Elisa Espósito
 Prof.^a Dr.^a Elisa Espósito

APROVADO
 (aprovado(a)/reprovado(a))

André Fernando de Oliveira
 Prof. Dr. André Fernando de Oliveira

APROVADO
 (aprovado(a)/reprovado(a))

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Nelson Duran agradeço pela oportunidade para desenvolver este trabalho, pela confiança, estímulo e orientação competente.

A professora Dra. Elisa Espósito, que colaborou na elaboração deste trabalho e que também permitiu a utilização de seu laboratório.

Ao professor Dr. André Fernando, que colaborou na elaboração deste trabalho, assim como, na realização de algumas análises.

Aos colegas do Laboratório: Fabio e Gabriel, pelo apoio e amizade durante todos esses anos.

A Secretaria Estadual de Educação do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro;

Muito Obrigado.

RESUMO

Avaliou-se o efeito de enzimas microbianas industriais em reduzir o volume de lodo ativado da indústria papaleira. Uma mistura de celulase, protease e lipase, em igual proporção, reduziu o volume em 60%. Um aumento contínuo na redução de volume foi observado com enzimas em crescentes concentrações. O efeito das combinações de tratamentos indicou que duas enzimas combinadas protease e celulase produziram melhor efeito de redução de volume, do que enzimas individuais e a lipase adicional melhorou este efeito. Não se observou melhora dos resultados com ajuste de pH do lodo tratado enzimaticamente. Avaliou-se também a produção da alface em solo tratado com doses de lodo ativado tratado enzimaticamente como fonte de matéria orgânica. Os tratamentos foram conduzidos: solo sem adubação (testemunha) e solo + lodo ativado em doses crescentes de 33,3; 66,6; 99,9 e 133,2 gdm⁻³ em base seca. O crescimento da parte aérea e o aumento de matéria fresca nas folhas das plantas foram estatisticamente superiores ao controle.

Palavras-chave: tratamento enzimático, redução de sólidos, lodo ativado, celulase.

ABSTRACT

The effect of industrial microbial enzyme in reducing the disposable solid content of sludge was investigated. A mixture of industrial cellulase, protease, and lipase, in equal proportion by enzymatic activities, reduced the bulk of sludge on 60%. An increase in bulk reduction was observed with increasing enzyme concentration. The effect of combinations of enzyme treatments indicated that two-enzyme combinations of protease and cellulase produced better bulk reduction than individual enzymes and that lipase further augmented this effect. The lettuce production also was evaluated in soil treated with enzymatically treated sludge as source of organic matter. The treatment was conducted: soil mixture using sludge in increasing doses of 0; 33,3; 66,6; 99,9 and 133,2 gdm⁻³. The development of lettuce plants in soil treated with sludge differed significantly from the control.

Keywords: enzyme treatment; solids reduction; biosolid.

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Efeito das enzimas sobre a redução de volume Lodo 1º | 36 |
| Tabela 2 – Efeito das enzimas sobre a redução de volume Lodo 2º | 39 |
| Tabela 3 – Redução de volume em lodo 2º sem ajuste de pH | 40 |
| Tabela 4 – Determinação COT material líquido lodo | 42 |
| Tabela 5 – Determinação COT material sólido lodo..... | 43 |
| Tabela 6 – Caracterização química Lodo Primário..... | 43 |
| Tabela 7 – Determinação de metais Lodo Primário..... | 44 |
| Tabela 8 – Determinação de metais Lodo Primário material sólido..... | 45 |
| Tabela 9 – Caracterização química Lodo Secundário..... | 46 |
| Tabela 10 – Determinação de metais Lodo Secundário..... | 47 |
| Tabela 11 – Determinação de metais Lodo Secundário material sólido..... | 48 |
| Tabela 12 – Número de folhas Lodo Primário..... | 56 |
| Tabela 13 – Matéria fresca Lodo Primário..... | 58 |
| Tabela 14 – Matéria seca Lodo Primário | 60 |
| Tabela 15 – Número de folhas Lodo Secundário..... | 67 |
| Tabela 16 – Matéria fresca Lodo Secundário..... | 69 |
| Tabela 17 – Matéria seca Lodo Secundário..... | 71 |

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Aplicação de lodo na agricultura..... | 18 |
| Figura 2 – Atividade das enzimas em função do tempo..... | 35 |
| Figura 3 – Redução de volume Lodo Primário..... | 37 |
| Figura 4 – Redução de volume lodo primário em função da atividade enzimática | 38 |
| Figura 5 – Redução de volume lodo secundário..... | 41 |
| Figura 6 – Germinação de alface com Lodo Primário..... | 50 |
| Figura 7 – Germinação de alface com Lodo Primário após 14 dias..... | 51 |
| Figura 8 – Plantio da alface com Lodo Primário | 52 |
| Figura 9 – Plantio da alface com Lodo Primário após 42 dias/ (a)..... | 53 |
| Figura 10 – Plantio da alface com Lodo Primário após 42 dias/(b)..... | 54 |
| Figura 11 – Plantio da alface com Lodo Primário após 42 dias/(c) | 54 |
| Figura 12 – Plantio da alface com Lodo Primário após 42 dias/(d)..... | 55 |
| Figura 13 – Número de folhas da alface Lodo Primário..... | 57 |
| Figura 14 – Comparação entre médias do número de folhas Lodo Primário..... | 57 |
| Figura 15 – Matéria fresca da parte área da alface com Lodo Primário | 59 |
| Figura 16 – Comparação entre médias da matéria fresca Lodo Primário..... | 59 |
| Figura 17 – Matéria seca da parte área de alface com Lodo Primário | 61 |
| Figura 18 – Comparação entre médias da matéria seca Lodo Primário | 61 |
| Figura 19 – Suplementação de Lodo Primário na Alface | 62 |
| Figura 20 – Germinação da alface com Lodo Secundário..... | 63 |
| Figura 21 – Plantio da alface com Lodo Secundário..... | 64 |

| | |
|---|----|
| Figura 22 – Plantio da alface com Lodo Secundário/individual..... | 65 |
| Figura 23 – Plantio da alface com Lodo Secundário/comparação..... | 66 |
| Figura 24 – Número de folhas da alface Lodo Secundário..... | 68 |
| Figura 25 – Comparação entre médias do número de folhas Lodo Secundário..... | 68 |
| Figura 26 – Matéria fresca da parte área da alface com Lodo Secundário | 70 |
| Figura 27 – Comparação entre médias da matéria fresca Lodo Secundário..... | 70 |
| Figura 28 – Matéria seca da parte área da alface com Lodo Secundário..... | 72 |
| Figura 29 – Comparação entre médias da matéria seca Lodo Secundário..... | 72 |
| Figura 30 – Alface suplementada com Lodo Secundário..... | 73 |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 9 |
| 1.1 | Contextualização do Problema..... | 9 |
| 1.2 | Eliminação de água presente no lodo (dewatering)..... | 11 |
| 1.3 | Tratamento Enzimático de Lodo..... | 12 |
| 1.4 | Aplicação e disposição adequada do Lodo..... | 15 |
| 1.5 | Testes de ecotoxicidade para biossólidos..... | 18 |
| 2 | OBJETIVOS..... | 20 |
| 2.1 | Gerais..... | 20 |
| 2.2 | Específicos..... | 20 |
| 3 | MÉTODO | 21 |
| 3.1 | Medidas de Atividade das Enzimas Industriais..... | 21 |
| 3.1.1 | Determinação da atividade de Protease..... | 21 |
| 3.1.2 | Determinação da atividade de Celulase..... | 21 |
| 3.1.3 | Determinação da atividade de Lípase método titulométrico..... | 22 |
| 3.1.4 | Verificação da atividade das enzimas em função do tempo..... | 22 |
| 3.2 | Tratamento com enzimas de Lodo Primário..... | 23 |
| 3.2.1 | Lodo Primário sem ajuste de pH com uma única adição de enzima..... | 23 |
| 3.2.2 | Lodo primário com e sem ajuste de pH e com reposição de enzima..... | 23 |
| 3.3 | Lodo Secundário..... | 24 |
| 3.4 | Caracterização Química do Lodo..... | 24 |
| 3.4.1 | Determinação de Carbono Orgânico Total (COT) | 24 |

| | | |
|--------------|--|----|
| 3.4.2 | Determinação da Taxa % de umidade de lodo..... | 25 |
| 3.4.3 | Determinação de metais por Absorção Atômica | 25 |
| 3.4.3.1 | Método de digestão para amostras de lodo | 25 |
| 3.4.3.2 | Determinação de metais por absorção atômica | 26 |
| 3.4.4 | Determinação de Fenóis Totais..... | 26 |
| 3.4.5 | Determinação de Nitrogênio em Lodo | 27 |
| 3.5 | Caracterização Biológica do Lodo | 27 |
| 3.5.1 | Análise de Coliformes | 27 |
| 3.6 | Ensaio de toxicidade com o micro crustáceo <i>Artemia salina</i> | 28 |
| 3.7 | Aplicação de Lodo controlado no cultivo da alface..... | 28 |
| 3.7.1 | Parâmetros de cultivo | 28 |
| 3.7.2 | Metodologia para o plantio das sementes de Alface | 29 |
| 3.7.2.1 | Cálculos – Quantidade de Lodo Primário para plantio de sementes | 30 |
| 3.7.2.2 | Cálculos – Quantidade de Lodo Secundário para plantio de sementes | 31 |
| 3.7.3 | Metodologia para o plantio de mudas de Alface..... | 32 |
| 3.7.3.1 | Cálculos – Quantidade de Lodo Primário para plantio de mudas de Alface | 32 |
| 3.7.3.2 | Cálculos – Quantidade de Lodo Secundário para plantio da Alface..... | 33 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 34 |
| 4.1 | Atividade das Enzimas | 34 |
| 4.1.1 | Atividade da Protease (Savinase 16L – Novozyme) | 34 |
| 4.1.2 | Atividade da celulase (Celluclast 1.5L – Novozyme) | 34 |
| 4.1.3 | Atividade da lipase (Lipolase 100L – Novozyme)..... | 34 |

| | | |
|---------|--|----|
| 4.1.4 | Verificação da atividade das enzimas em função do tempo..... | 35 |
| 4.1 | Tratamento Enzimático do Lodo Primário | 36 |
| 4.2.1 | Lodo Primário sem ajuste de pH com uma única adição de enzima | 36 |
| 4.2.2 | Tratamento Lodo Primário com e sem ajuste de pH com reposição da atividade enzimática | 38 |
| 4.3 | Tratamento Lodo Secundário | 39 |
| 4.3.1 | Lodo Secundário sem ajuste de pH com uma única adição de enzima..... | 39 |
| 4.3.2 | Lodo Secundário com ajuste de pH com uma única adição de enzima | 40 |
| 4.4 | Caracterização Química do Lodo | 42 |
| 4.4.1 | Determinação de Carbono Orgânico Total (COT) | 42 |
| 4.4.1.1 | Determinação de carbono orgânico total em material solubilizado | 42 |
| 4.4.1.2 | Determinação de carbono orgânico total em material sólido | 42 |
| 4.4.2 | Caracterização Química do Lodo Primário | 43 |
| 4.4.3 | Caracterização Química do Lodo Secundário | 46 |
| 4.5 | Resultado da Caracterização Biológica do Lodo | 49 |
| 4.6 | Resultado do Ensaio de toxicidade com o micro crustáceo <i>Artemia salina</i> | 49 |
| 4.7 | Resultado da Aplicação controlado de Lodo no cultivo de Alface | 49 |
| 4.7.1 | Resultado da Aplicação de Lodo Primário no cultivo de Alface | 49 |
| 4.7.1.1 | Comparação do Número de Folhas Lodo Primário..... | 56 |
| 4.7.1.2 | Comparação da Matéria Fresca Lodo Primário..... | 58 |
| 4.7.1.3 | Comparação da Matéria Seca Lodo Primário..... | 60 |
| 4.7.2 | Resultado da Aplicação controlado de Lodo Secundário no cultivo da Alface | 62 |
| 4.7.2.1 | Comparação do Número de Folhas Lodo Secundário..... | 67 |

| | |
|---|----|
| 4.7.2.2 Comparação da Matéria Fresca Lodo Secundário..... | 69 |
| 4.7.2.3 Comparação da Matéria Seca Lodo Secundário..... | 71 |
| 4.8 Toxicidade..... | 73 |
| 5 CONCLUSÃO..... | 74 |
| REFERÊNCIAS..... | 75 |
| APÊNDICES..... | 82 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 Contextualização do Problema

O setor de saneamento vem enfrentando grandes dificuldades no gerenciamento de resíduos gerados nos tratamento de esgoto, visando atender as necessidades da sociedade pela preservação ambiental. Estes processos são complexos e de custo elevado e geralmente extrapolam os limites das estações de tratamento de água (ETA) e as estações de tratamento de efluentes (ETE). A comunidade científica dentro desta temática tem concentrado pesquisas em encontrar alternativas de tratamento e valorização de resíduos. Embora de composição bastante variável, apresentam em sua composição elementos de grande valor, entre eles, elementos essenciais para o desenvolvimento de plantas e matéria orgânica, fundamental para sustentabilidade de solos, entre outros. Embora sua composição apresente elementos de grande valor, outros componentes nestes resíduos são perigosos e indesejáveis, como os metais pesados, os poluentes orgânicos e os patógenos, dificultando sua utilização e disposição final (ANDREOLI, 2006).

O sistema de lodos ativados é amplamente utilizado, em nível mundial, para o tratamento de despejos domésticos e industriais, em situações em que é necessária a elevada qualidade do efluente e reduzidos requisitos de área (VON SPERLING, 1997). Consiste num processo de bio-oxidação bastante econômico e efetivo, sendo sua principal desvantagem a produção excessiva de lodo (THOMSON e col. 2001).

Atualmente o tratamento que é dado ao lodo excedente geralmente é composto por adensamento (redução de volume); estabilização (redução de sólidos voláteis); condicionamento (preparação para a desidratação); desidratação (redução de volume) e disposição final (destinação dos subprodutos finais) (VON SPERLING, 1997).

Várias dificuldades são encontradas ao longo deste processo, como por exemplo, a pouca eficiência na retirada de água do lodo (aproximadamente 30 %), fator decisivo para a redução do volume de lodo, além de adequada disposição final. Diversos estudos têm sido realizados para desenvolverem-se alternativas para a disposição do lodo, no entanto, se concentram em sua maioria, nos de origem

sanitária, não sendo estendidos aos de origem industrial, já que a problemática é bastante diferente.

Diversos processos têm sido desenvolvidos com o intuito de reduzir o volume de lodo gerado, que vão desde a introdução de modificações no sistema convencional (MAJONE *e col.*, 1999) até o desenvolvimento de métodos alternativos como o chamado “Low Sludge Production-LSP” proposto por Stuart *e col.*, (2001), que utiliza processos combinados que resultem num efeito sinérgico.

Recentemente foi desenvolvido um processo chamado BIOSEP® que é uma tecnologia para tratamento de rejeitos aquosos municipais e industriais, que visa a redução de produção de lodos além dos custos globais do processo (TAZI-PAIN *e col.*, 2002). É possível ainda melhorar a qualidade do lodo durante a sua produção, de forma que o lodo gerado apresente um volume reduzido em função da redução da matéria orgânica seca, DQO, etc.

Liu e Tay (2001) têm avaliado as estratégias e a viabilidade de aplicação de novos processos na tentativa de minimizar o excesso de lodo produzido, uma vez que este constitui um problema bastante grave e abrangente. Estratégias desenvolvidas para minimizar o excesso de lodo produzido utilizaram modificações no processo de lodo ativado tais como: oxi-clarificação-anaeróbica, oxigênio dissolvido, refrear processo de lodo ativado, processo combinado ozônio lodo ativado, controle para tempo de retenção de lodo e biodegradação de lodo em reator de membrana - auxiliar, podendo reduzir por 20% a 100% do excesso de lodo produzido. A aplicação do sistema convencional seguido por um digestor utilizando microrganismos termofílicos aeróbios (HASEGAWA *e col.* 1999; SAKAI *e col.* 2000; HASEGAWA, 2001) também é capaz de reduzir consideravelmente o volume de lodo produzido, além de o custo ser aproximadamente 40 a 50 % inferior em relação ao sistema convencional. No entanto, todos estes processos apresentam tecnologia sofisticada e custos elevados, inclusive o processo desenvolvido por Hasegawa (2001), cuja redução de custos por ele sugerida consiste ainda num ponto em discussão.

1.2 Eliminação de água presente no lodo (dewatering)

A metodologia aplicada para eliminação da água presente no lodo deve ser simples e de custo reduzido. Dentre as diversas metodologias existentes para o tratamento do lodo produzido, o processo de eliminação de água (dewatering) é bastante complicado e de baixo rendimento (KENNY e *col.* 1997; LEE e WANG, 2000; GRIFFITH e RAYMOND, 2002). Segundo Richter (2001) a fração de água no lodo pode ser classificada em três categorias: (a) água livre, que não está intimamente ligada aos sólidos do lodo; (b) água capilar e da camada aderida por forças de superfície; (c) água de ligação química e/ou hidratação.

A desidratação de lodo tem sido dificultada, devido a sua alta compressibilidade, sua afinidade e capacidade de retenção de água, estas propriedades são atribuídas a presença de superfícies carregadas, devido a natureza biológica e a presença de substâncias poliméricas extra-celulares fracamente carregadas. Um aumento controlado do tamanho da força iônica, produzido pela adição de NaCl, pode na filtração e centrifugação, neutralizar a relação do efeito da carga, produzindo um aumento no volume do sólido final sobre a pressão constante da filtração ou centrifugação. (CURVERS, 2009).

A eliminação da água consiste na extração dos polímeros extracelulares (que representam 46 a 52 % dos sólidos suspensos voláteis - SSV), compostos húmicos (18-23 % do SSV) e carboidratos (17 % de SSV) por meio de resinas de troca catiônica (FROLUND e *col.* 1996). A extração de polímeros extracelulares pode ser feita por ultrassom ou por uma combinação de ultrassom com resinas catiônicas esta técnica revelou a predominante presença de proteínas na composição química dos polímeros extracelulares e tornou claro seu papel na estrutura do floco do lodo. Proteínas são mais facilmente extraídas do que açúcares quando combinada com ultrassom.

Certamente proteínas são mais envolvidas do que açúcares na ligação eletrostática com cátions polivalentes. Ligações eletrostáticas são fundamentais para a distribuição uniforme do floco e fechamento combinado com ligações hidrofóbicas. Próximo de 25% aminoácidos dos polímeros extracelulares são negativamente carregados e 24% exibem propriedades hidrofóbicas (DIGNAC e *col.* 1998). Lennart e *col.* (1981) descreveram um processo para remoção de metais pesados e eliminação da água do lodo por enzimas hidrolíticas, sendo o lodo resultante deste

tratamento apto a ser utilizado como fertilizante. Tratamentos com enzimas e quelantes para eliminação de metais pesados foi descrito no trabalho de Landendorf (1987).¹

Novak (2003) verificou em estudos da destruição do floco do lodo e a alteração das propriedades de condicionamento e desidratação em lodo que quando sofre digestão aeróbica e anaeróbica, ocorre que sob ambas as condições aeróbica e anaeróbica houve liberação de biopolímeros em solução, sendo anaeróbica muito maior, na ordem de 4 a 5 vezes mais proteínas liberadas em solução. Pouca diferença foi vista nas propriedades de desidratação em ambos os processos. A liberação de polissacarídeos degradados diminuiu atividade das enzimas para quase zero em digestor aeróbico.

1.5 Tratamento Enzimático de Lodo

Estudos realizados por Jungschaft e *col.* (1988) usando uma mistura enzimática com alto teor de carbohidrolases, glicoproteinases e/ou lipases, especialmente amilases, celulasas e ou proteases elevou os valores de Tempo de Sucção Capilar (TSC)¹ de 15 para 44 % com a utilização conjunta de um floculante. Hakulinen (1988) relatou o uso de celulase, lisozima (enzima bacteriana) ou muramidase para eliminação de água em lodos. A celulase foi usada juntamente com a penicilina e os resultados obtidos não foram satisfatórios, enquanto que a lisozima foi capaz de alterar a matriz dos flocos resultando num aumento na velocidade de eliminação da água.

Thomas e *col.* (1993) usaram um produto enzimático contendo carbohidralase, lipase e proteinase com o objetivo de melhorar o processo de eliminação de água do lodo doméstico e aperfeiçoar processo de retirada de água por prensagem de forma a obter uma redução real do volume. Assim, um aumento no teor de sólidos secos num lodo cuja eliminação de água é da ordem de 23 a 27 % implica numa redução de 15 % do volume do lodo. A adição da enzima faz com que haja uma quebra da ligação entre a molécula de água e as macromoléculas que constituem o lodo. A aplicação do produto enzimático em concentrações de 2,5 a

¹ Tempo de Sucção Capilar (TSC) – Estima quantidade de água eliminada no processo enzimático.

5,0 mg L⁻¹ resultou numa considerável eficiência no processo de eliminação de água. Entretanto, um aumento da dose levou à formação de mais grupos hidrofílicos capazes de afetar negativamente o processo de eliminação da água. Ibuki (2000) tratou lodos orgânicos provenientes de efluentes industriais e esgoto doméstico com diferentes doses de enzimas produzidas por *Pseudomonas* sob pressão e temperatura controlada durante intervalos de tempo que variaram entre 10 e 200 h com o objetivo de promover a decomposição dos compostos orgânicos. A seguir tratou-se com um determinado polímero coagulante e posteriormente a água foi eliminada por centrifugação ou filtração sob pressão. O método prevê a contaminação secundária² e é capaz de reduzir a umidade das tortas de lodo.

Wickham (1996) propôs um tratamento contínuo para reduzir o volume de água do lodo, (A) misturando-se enzimas (amilases, lipase, protease e celulase), bactérias como *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescence* e uma fonte de nutrientes cuja demanda química de oxigênio (DQO) era de aproximadamente 10000 mg/kg,; (B) adicionou-se à água o produto obtido em (A) formando uma mistura ativa; a seguir (C) adicionou-se a mistura ativa a uma porção do lodo (aquoso) promovendo sua aclimação e finalmente (D) adicionou-se o lodo aclimatado ao tanque de tratamento, no qual permaneceu durante 2 dias obtendo-se uma efetiva redução de seu volume.

Recentemente tem sido discutido o processo de tratamento preliminar de lodos utilizando-se enzimas que poderiam aumentar a eficiência de estabilização e /ou eliminação de água além da redução de patógenos (LEE e MULLER, 2001). Bactérias como *Cellulomonas sp* têm a habilidade de produzir enzimas, como a hidroxilase, que são efetivas na decomposição e na prevenção da produção excessiva de lodos (HATANAKA, 1996).

Outros estudos têm sido feitos utilizando-se enzimas juntamente com bactérias. Ohsumi (2001) utilizou celulase na presença de *Trichoderma viride* e observou a redução do consumo de energia além de prevenir a contaminação secundária. Este processo foi realizado numa temperatura de 60-70 °C, por 3 h (para decompor os componentes da membrana celular) e posteriormente foi colocado em fornos de alta temperatura para obtenção de um lodo moldado.

² Contaminação Secundária – O solubilizado obtido do processo de desidratação de lodo, traz em sua composição materiais indesejáveis, matéria orgânica da decomposição por enzimas e metais pesados.

Estudos de estabilização do lodo ativado por meio de circulação de oxigênio em diferentes zonas além da utilização de enzimas catalíticas e quelantes (para promover a estimulação metabólica dos microrganismos) tem sido realizados. A principal vantagem deste método é a estimulação do metabolismo dos microrganismos, sendo que os rendimentos obtidos foram reduções de DQO em 40 e 50 %, matéria seca em 30 e 35 % e matéria orgânica seca em 40 a 45 %. Além disso, a quebra do material orgânico é intensificada e a remoção da água do lodo estabilizado é facilitada, sendo que a filtração é melhorada em até 100 % e se um floculante também for usado a quantidade de água pode ser reduzida em até 50 % (FRIEDRICH *et al.*, 1992).

Segundo Parmar (2001), o efeito de enzimas microbianas em reduzir IDL utilizando uma mistura de enzimas, como celulase industrial protease e lipase são contínuas em crescentes concentrações de enzimas. O efeito das combinações de duas enzimas protease e celulase foi melhor do que as enzimas aplicadas individualmente. Entre as enzimas individuais a protease produziu maior decantabilidade do lodo, que foi associado como a redução de volume e/ou eliminação de água. O ajuste de pH do lodo enzimaticamente tratado da escala alcalina (pH 10-12) melhoraram a decantabilidade do lodo em até 80% de redução de volume e 40% de redução de sólidos do lodo em pH 2-4.

A estabilização de sistemas de lodo ativado tem-se mostrado eficiente devido à ação de enzimas hidrolíticas. Enzimas comerciais β – glucosidases, celulases e proteases sob baixas condições de sulfatos reduzido, em bioreator metanogênico e sulfitogênico, atuam eficientemente no aumento da razão hidrolítica da matriz, no aumento da razão da quebra do floco e a redução do floco em média de 40 μ m para 23 μ m (WATSON, 2004).

Aumentar a hidrólise de polímeros orgânicos em meio sulfitogênico mostrou-se fundamental para a degradação e solubilização das partículas de matéria orgânica. Dentro da enzimologia é mostrado que processos com atividade da lipase associada com partículas de lodo biológico em pH e temperatura ótimo, ocorreu um aumento da atividade da enzima, associada aos cátions naturais do lodo. Verificou-se extensa estabilidade para lipase em bioreator metanogênico. Embora o sulfato apareça como interferente, suas espécies reduzidas aumentam a atividade da enzima por estarem envolvidas diretamente no rompimento do floco do lodo pela neutralização ácida dos componentes de superfície. (WHITELEY, 2002).

Sulfito é chave para o aumento da atividade das enzimas e é proposto que este único fator contribua para a aceleração da razão e solubilização do lodo. A presença da atividade da β -glucosidase e protease residem dentro do floco do lodo, cuja composição, em sua maior parte, de substâncias poliméricas extracelular como polissacarídeos e proteínas. (WATSON, 2004)

Segundo Wawrzynczyk et al (2008) a obstrução estérico de volume é responsável pela diminuição da solubilidade enzimática no lodo e íons metálicos polivalentes estão diretamente envolvidos na adsorção da enzima por sólidos. O tratamento enzimático de lodo com pré-tratamento com seqüestradores de cátions, como o ácido cítrico, aumenta por volta de 40% à solubilidade do lodo. A hidrólise enzimática é melhorada 85%, empregando reduzidas doses de enzima e a adsorção é significativamente diminuída.

Cadoret (2002) investigou a extensão da difusão de compostos de alto peso molecular através da matriz do exopolímero de lodo ativado agregado a sua redução através de enzimas extracelulares como proteases, α -amilase e α -glucosidase, associada à extração de substâncias poliméricas extracelulares a partir do floco, surpreendentemente, quando flocos de lodo ativado foram dispersos pelo uso combinado de ultrassom e resina de troca catiônica a razão da proteína não fez a hidrólise aumentar enquanto que a razão de polissacarídeos aumentou a hidrólise cerca de cinco vezes mais.

1.6 Aplicação e disposição adequada do Lodo

Aplicação no solo é o destino mais comum de bio sólidos no USA. Quando tratados apropriadamente (de acordo com as regulamentações estaduais e federais) e apresentam-se dentro dos padrões estabelecidos, os bio sólidos são considerados livres de risco para o meio ambiente e saúde pública. Aplicação de bio sólidos na produção de vegetais como um aditivo (corretor) orgânico ao solo pode aumentar o crescimento de plantas e produzir rendimentos de cultivo com menos nutrientes inorgânicos que os programas padrões de fertilizantes sintéticos comerciais.

A utilização do lodo de esgoto em solos agrícolas vem sendo pesquisada desde 1925, nos Estados Unidos, Holanda, Reino Unido e Dinamarca. No Brasil, recentes trabalhos desenvolvidos pelo Programa de Saneamento Básico do Estado

do Paraná confirmam que a reciclagem agrícola do lodo é uma técnica alternativa para a disposição desse resíduo (ROCHA, 1998).

A utilização do lodo doméstico como fertilizante tem sido amplamente estudada no Brasil pela Embrapa Meio Ambiente (EMBRAPA, 2002a), entretanto, o uso agrícola deve ser restringido àqueles que apresentam características adequadas (EMBRAPA, 2002b). Desta forma deve-se averiguar os potenciais riscos à saúde humana, através da avaliação toxicológica, tomando-se como base as Doses de Referência (RfD), aplicada a poluentes patogênicos e o Fator de Carcinogênese (CF) para poluentes carcinogênicos (UNICAMP, 2002). Alfalfa (*Medicago sativa* L.) foi inoculada com *Sinorhizobium meliloti* e cultivada num solo selecionado. Estudou-se o efeito da aplicação de diferentes concentrações de lodo sendo que os resultados obtidos foram similares aos da aplicação da levedura manitol (YMB) (BEM-REBAH e col., 2002a).

Estudos realizados com uma combinação de lodo proveniente de efluentes e resíduos de podas de árvores urbanas foram utilizados para melhorar as condições de solo degradado restaurado por árvores e arbustos. A liberação de nitrogênio no solo foi aumentada com esta combinação. Cerca de 187 kg N/ha de lodo e 200 m³/ha de resíduos de madeira produziram em um ano a redução a 50% de mineralização do nitrogênio (COGLIASTRO, 2001).

A fração da mineralização de N é utilizada nos cálculos das taxas agronômicas de aplicação de lodos de esgotos em solos agrícolas, considera-se a quantidade de N orgânico que é transformada em formas inorgânicas disponíveis às plantas (BOEIRA, 2004). O mesmo resultado foi atingido em 2 anos com aplicação de 125 kg N/ha de lodo. Portanto a diferença de nitrogênio do solo e o processo de degradação orgânica induziram ao melhoramento pelo tratamento resultaram em um aumento da sustentabilidade de espécies de árvores plantadas, embora foi verificada a presença indesejável de metais no solo, particularmente Fe, Cd, Pb, (COGLIASTRO, 2001).

Lopes e col., 2005 avaliou a produção de alface (*Lactuca sativa* L.) em solo tratado com diferentes doses de lodo de esgoto como fonte de matéria orgânica. O experimento foi conduzido em solo sem adubação como controle e solo + lodo de esgoto com doses crescentes. Verificou-se um aumento da matéria fresca das folhas, aumento da matéria seca da parte aérea, diminuição do número de folhas em função de doses crescentes de lodo em relação ao controle. Análises de regressão

indicaram a possibilidade da utilização de doses maiores de lodo, uma vez que doses menores de matéria orgânica fornecem menos nitrogênio que pode estar associado ao menor peso da planta inteira, menor número de folhas e também a diminuição da matéria seca. Os teores de metais pesados encontrados na análise foliar estavam abaixo dos limites inferiores para uso agrícola sendo então o lodo de esgoto, dentro das condições deste experimento, utilizável como fertilizante agrícola para o cultivo da alface.

A dinâmica da mineralização de materiais orgânicos adicionados ao solo é importante fator para prever os efeitos das possíveis perdas de N para o ambiente. Este fator foi determinado com doses crescentes de lodo de esgoto aplicadas ao solo, as parcelas de lodo foram calculadas para fornecer a cultura a quantidade recomendada de fertilizante nitrogenado. Os resultados demonstraram que não foi conclusiva a determinação da taxa de mineralização e a imobilização do N devido a fatores climáticos. Deve-se considerar que as quantidades de N exigidas pelas culturas e fornecidas pelos fertilizantes são aplicadas em períodos de maior demanda da cultura o que não se observa quando se utiliza lodo de esgoto e por isso poderá ocorrer grandes perdas de N para o ambiente através de processos de desnitrificação e lixiviação do nitrato, com conseqüências danosas para o ambiente (VIEIRA e CARDOSO, 2003).

Pouco se têm estudado quanto a aplicação de lodos provenientes de tratamentos indústrias em solo, seja em culturas agrícolas ou florestais. Alguns estudos de aplicabilidade do lodo proveniente da indústria papeleira como fertilizante já foram realizados. O pré-tratamento do lodo com NaOH aumenta o acúmulo de bactérias e conseqüentemente o efeito sobre o crescimento de rhizobia é positivo (BEM-REBAH e *col.*, 2002b).

Entretanto observou-se que a aplicação no solo de lodo desta origem aumentou o valor médio de matéria orgânica presente e de fósforo. Observou-se um efeito retardatório no processo de germinação de milho quando a semeadura foi realizada, imediatamente após a aplicação de lodo no solo, entretanto este efeito foi eliminado quando a semeadura foi realizada após 21 dias de aplicação do lodo (O'BRIEN e *col.*, 2002).



Figura 1: Lodo de Esgoto na Agricultura – Fonte VIEIRA (2004)

1.5 Testes de ecotoxicidade para biossólidos

Os maiores obstáculos de aceitação pública para a aplicação de biossólidos no solo estão relacionados com a possível contaminação da água, os riscos de doenças humanas e odor. Além disso, metais pesados é um fator de predisposição de percepção pública.

Para se ter segurança do uso do biossólido para a produção de vegetais a razão agronômica (requerimento de nutrientes para o crescimento de cultivos vegetais) deve ser calculada antes da aplicação para um cultivo específico (OZORES-HAMPTON e PEACH, 2002).

Devido às colocações anteriores o interesse por efeitos ecológicos de biossólidos tem crescido recentemente. Entretanto, não há métodos estabelecidos para testar a toxicidade destes compostos. Apesar disto, os requerimentos internacionais e nacionais definem que tais compostos não devem conter nenhuma substância ambientalmente perigosa e ainda atender aos requisitos necessários para o tipo de cultura a qual o lodo será adicionado. Os métodos que são utilizados

são aqueles que utilizam micróbios, enzimas, fauna do solo e plantas (KAPANE e ITAVAARA, 2001).

O lodo de esgoto, quando aplicado ao solo pode causar alterações na estrutura e no funcionamento do agroecossistema, sendo a comunidade microbiana, um dos componentes mais sensíveis, podendo ser utilizada como um indicador da qualidade do solo, tanto para estimular, como para inibir, devido a presença de metais pesados e outros poluentes, a atividade microbiana. Bettiol e Fernandes, 2004, avaliaram a atividade microbiana na comunidade de *Bacillus*, de *Pseudomonas* fluorescentes e de fungos em solo incorporado com lodo e com plantio de milho. Embora tenha havido um aumento das comunidades de *Bacillus* de *Pseudomonas* fluorescentes, não eram significativos, ocorrendo um aumento significativamente diferente apenas para as comunidades de fungos. Estes resultados não permitem a conclusão sobre alterações nas diversidades de microorganismos, indicando apenas uma adaptação às alterações causadas pelo lodo de esgoto.

Rantala e col. (1999) determinou o potencial tóxico dos compostos de lodo e dos rejeitos da indústria de polpa e papel usando uma bateria de testes previamente ao uso agrícola do material. O crescimento de plantas e testes de germinação são as técnicas mais comuns para se determinar a maturidade do composto e sua toxicidade, sendo uma das plantas mais utilizadas neste teste o pinho branco (MAYNARD, 1998).

2. OBJETIVOS

2.1 Gerais

O principal objetivo deste trabalho foi estudar os fatores envolvidos no acondicionamento do lodo proveniente do tratamento de efluentes Kraft E₁, para uso de crescimento da alface (Alface mantega-*Lactuca sativa*) substituindo parcial ou totalmente os nutrientes normalmente utilizados em seu cultivo. O processo de eliminação de água do lodo (desidratação) também foi estudado.

2.2 Específicos

Os objetivos específicos foram:

Eliminação de água do lodo proveniente da indústria papeleira, pela utilização das enzimas, celulasas, proteases e lípases.

Caracterização química e biológica do lodo.

Determinação da toxicidade do lodo.

Aplicação do lodo (eliminada água por tratamento com enzimas) controlado no cultivo de alface (Alface mantega-*Lactuca sativa*), como por exemplo: montar um piloto para o cultivo de alface, para verificar o desenvolvimento do mesmo. Lembrando que a utilização da alface se deve somente para estudos acadêmicos, sendo inviável o plantio para consumo, devido a possíveis elementos contaminantes que a alface pode absorver.

3. MÉTODO

3.1 Medidas de Atividade das Enzimas Industriais Utilizadas nesta Pesquisa.

3.1.1 Determinação da atividade de Protease

A atividade de protease foi determinada segundo DOSORETZ *et al* (1990). O método baseia-se na reação da azocaseína com as proteases liberando o complexo azo.

A solução estoque de azocaseína foi obtida através de dissolução de 250 mg de azocaseína em 5 mL de bicarbonato de sódio 1% a 60°C. O pH foi ajustado para 8,3 e a solução foi diluída a 10 mL com água destilada.

Em um tubo de ensaio foram colocados 1 mL de solução de azocaseína e 1 mL da solução contendo o extrato enzimático de protease savinase 16 L (Novozyme) em diferentes concentrações. A mistura foi incubada a 38°C durante 30 minutos e a reação foi interrompida pela adição de 1,8 mL de ácido tricloroacético 5%. A solução obtida foi centrifugada a 7000 rpm durante 8 minutos e filtrada. Misturou-se 1 mL desta solução com 1 mL de hidróxido de sódio 0,5 N e a absorbância foi lida a 440 nm.

Uma unidade de enzima foi definida como a quantidade desta que catalisa a quebra do complexo azo causando mudança de 0,001/min na absorbância da solução.

3.1.2 Determinação da atividade de Celulase

A atividade é determinada incubando-se tiras de papel de filtro Watman nº 1 (50 mg) com 1mL de extrato enzimático Celluclast 1.5 L (Novozyme) e 1 mL de tampão citrato de sódio 50 mM, pH 4,8 a 50°C por 60 minutos. (Mandels et al. 1976). A quantidade de açúcares redutores é determinada pelo método de DNS.

O reagente de DNS é preparado com 10,6 g de 3,5-dinitrosalicílico, 19,8 g de hidróxido de sódio, 30,6 g de tartarato de sódio e potássio, 7,5 mL de fenol, 8,3 g bissulfito em um litro de água até dissolução, completando o volume a 1,4 L.

Para a determinação de açúcares redutores é adicionado a 3 mL do reagente ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), 1,5 mL da amostra acima preparada com papel Watman nº 1. A mistura é incubada num banho térmico a 100°C por 5 minutos. Resfriou-se a amostra até atingir a temperatura ambiente e a absorbância a 550 nm foi comparada com uma curva padrão de glicose.

A curva padrão é feita a partir de glicose (1 a 5 mM). Definiu-se como uma unidade de atividade enzimática a quantidade de enzima capaz de catalisar a liberação de 1µmol de glicose por minuto a 50°C.

3.1.3 Determinação da atividade de Lipase método titulométrico

Usando óleo de oliva purificada como substrato e um titulador para titular os ácidos graxos liberados. A emulsão foi preparada com 3% de goma arábica e 3% de óleo de oliva, agitada no vortex a 150 rpm por 15 minutos. 25 mL do substrato serão incubados com 5mL do extrato enzimático Lipolase 100 L bruto, a 37°C com agitação. Os ácidos graxos livres liberados pela hidrólise enzimática serão titulados com NaOH 25 mM (STUER e JAEGER.1986). Uma unidade de atividade foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1µmol de ácido graxo livre titulavel/min, nas condições padrões (37°C, pH 8,0).

3.1.4 Verificação da atividade das enzimas em função do tempo

Ensaio enzimáticos nas mesmas condições de aplicação no lodo foram utilizados para, verificar as atividades das enzimas em função do tempo. Nos intervalos de 6 h foram determinadas a atividades das enzimas por método espectrofotométrico e método titulométrico . As enzimas 500 µL foram adicionadas, idêntico as concentrações a serem utilizadas no tratamento do lodo primário e secundário e verificada sua estabilidade a temperatura ótima utilizada para cada enzima deste experimento. Alíquotas de 1000 µL foram extraídas do Erlenmeyer e analisada sua atividade, celulase segundo Mandels et al. (1976), protease segundo

Dosoretz *et al* (1990) e lípase segundo Stuer e Jarger (1986) como descrito anteriormente.

3.2 Tratamento com enzimas de Lodo Primário

3.2.1 Lodo Primário sem ajuste de pH com uma única adição de enzima

Proveniente do processo de tratamento primário (material sedimentável no esgoto bruto) das Estações de Tratamento de Efluentes (ETE) é obtido por sedimentação ou flotação, com 3% a 7% de sólidos e contendo 60% a 80% de matéria orgânica.

Para o tratamento enzimático do lodo primário foram utilizadas amostras de 10 g do produto. As amostras misturadas à água destilada completando o volume a 50 mL, foram colocadas em Erlenmeyer de 100 mL. Após a adição de 500µL (2750 unidades de atividade enzimática) em volume de enzima industrial (Novozyme). Os frascos incubados em um “shaker” giratório (200 rpm), sem ajuste de pH a 40°C e 96 horas segundo Parmar *et al.* (2001). Outras concentrações em volume de enzimas também foram testadas.

Nos intervalos de 24 h de cada experimento foi determinada a redução de volume do lodo tratado com enzimas. A redução do volume foi determinada colocando 50 mL de amostra de lodo tratado em uma proveta de 50 mL durante 2 h. O volume de sólidos estabelecidos foi gravado e apresentaram-se como milímetros de sólidos estabelecidos por amostra total de 50 mL.

3.2.2 Lodo primário com e sem ajuste de pH e com reposição de enzima.

A celulase Celluclast 1.5 L (Novozyme) em concentrações crescentes de atividade enzimática, 250 µL, 500 µL, 750 µL e 1000 µL em volume de enzima, com pH 4,8 e temperatura de 50°C foi incubada com lodo primário em período de 24 h com reposição da atividade enzimática em 12 h. Sem ajuste de pH e em temperatura de 50°C também foi realizado ensaio com reposição da atividade enzimática em 12 h. Após a incubação de celulase Celluclast 1.5 L (Novozyme) pelo período de 24 h, foi adicionado a pH 8,0 protease Savinase 16 L (Novozyme) e

lipase Lipolase 100 L (Novozyme) com temperatura de 40°C no lodo primário. Ambos os experimentos realizados em duplicata sendo verificado também a influência do sistema aberto e fechado.

O sistema aberto versus fechado foi utilizado para ver o efeito da formação de gases (fechado) e o sistema sem gases sobre a efetividade do processo de redução de volume do lodo na presença das enzimas.

3.3 Lodo Secundário

O lodo secundário é proveniente do incremento da atividade microbiana aeróbica e anaeróbica nas ETEs, de forma a converter os sólidos dissolvidos em sólidos suspensos (biomassa microbiana) e reduzir o conteúdo da matéria orgânica por respiração. Posteriormente, a biomassa microbiana é precipitada junto com outras partículas, contendo 0,5% a 2% de sólidos e 50% a 60% de matéria orgânica.

Lodo secundário foi submetido ao tratamento enzimático sob as mesmas condições como descrito nos itens 2.2.1 – 2.2.3 repetindo os mesmos ensaios aplicados ao lodo primário.

3.5 Caracterização Química do Lodo

3.5.1 Determinação de Carbono Orgânico Total (COT)

As medidas da concentração de carbono orgânico total foram realizadas seguindo-se a metodologia padrão (APHA 5310, 1995), que se baseia na oxidação da matéria orgânica catalisada a alta temperatura, empregando-se um analisador de carbono total, modelo TOC 5000A (Shimadzu). Neste método, uma pequena amostra homogeneizada é injetada em uma câmara de reação aquecida, contendo platina adsorvida sobre óxido de alumínio. A água é vaporizada e o carbono orgânico é oxidado a CO₂, sendo quantificado por meio de um analisador de infravermelho não dispersivo. O carbono inorgânico é medido pela passagem da amostra em uma câmara de reação que contém ácido fosfórico, na qual é convertido a CO₂ e quantificado de maneira semelhante à descrita anteriormente. O carbono orgânico total é então obtido pela diferença entre o carbono total e o carbono

inorgânico. Foram submetidas para análises amostras de lodo primário antes e após tratamento com enzimas, assim como, material solubilizado. Mesmo procedimento foi utilizado para o lodo secundário.

3.5.2 Determinação da Taxa (%) de Umidade de Lodo

Sólidos Totais são obtidos através da evaporação de uma amostra homogênea em cápsula de porcelana previamente tarada, secagem da amostra em estufa a 105 +/- 5 °C e pesagem. A quantidade de solvente evaporada da amostra durante o processo de secagem é a umidade contida na amostra. Levada a cápsula devidamente pesada com a amostra à estufa à 105 °C +/- 5 °C por no mínimo 12 horas, após esfriada foi pesada a cápsula em balança analítica e calculada a % de umidade. Este procedimento foi realizado para amostra de Lodo primário e lodo secundário antes e após tratamento com enzimas, utilizando os melhores resultados na decantabilidade e /ou redução de volume.

3.5.3 Determinação de metais por Absorção Atômica

3.5.3.1 Método de digestão para amostras de lodo

Consiste na completa dissolução da amostra sólida ou sua completa solubilização e tem por finalidade reduzir a interferência da matéria orgânica e quebrar as ligações estáveis. A digestão é realizada em duas etapas: na primeira o ácido nítrico concentrado é adicionado para oxidar a matéria orgânica e para solubilizar a amostra. Na segunda etapa é utilizada uma mistura de ácido nítrico e ácido clorídrico 1:1 e peróxido de sódio tornando o meio mais energético sob aquecimento para facilitar a abertura da amostra e sua completa solubilização.

Foram transferidos cerca de 10,00 g de lodo ativado sólido (lodo primário e lodo secundário) seco para cápsula de porcelana, deixado na estufa a 105 °C +/- 5 °C por no mínimo de 24 horas. As amostras foram pulverizadas em almofariz e passada em peneira com malha de nylon de 20 mesh e posteriormente de 80 mesh. As amostras foram colocadas em estufa por no mínimo 30 minutos e colocadas em

dessecador até esfriarem. Pesados 0,2500 g de lodo pulverizado foram calcinados a 550 °C por uma hora.

A amostra foi transferida para um béquer e diluída com água desmineralizada. Foi adicionado 10 mL de ácido nítrico concentrado e deixado a digerir em chapa térmica. Foi adicionado à amostra 10 mL de ácido clorídrico e deixado a solubilizar até o aparecimento de vapores. A amostra foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e completado o volume com água desmineralizada. Amostras de lodo primário e lodo secundário solubilizado antes e após tratamento enzimático contendo 100 mL de amostra também foram previamente digeridas com 10 mL de ácido nítrico concentrado.

3.4.3.2 Determinação da concentração de metais por absorção atômica

Para determinação das concentrações de metais por absorção atômica, as amostras solubilizadas são aspiradas e transformadas em gotículas que são decompostas na chama de ar-acetileno e/ou óxido nitroso-acetileno, em condições específicas. A quantidade de energia radiante absorvida em comprimento de onda específico pelo elemento na chama é proporcional a concentração do elemento na amostra. Todas as amostras foram submetidas as determinações de metais totais conforme condições descritas.

3.5.4 Determinação de Fenóis Totais

A quantidade de fenóis totais foi determinada espectrofotometricamente pelo 4-aminoantipirina conforme método padrão (APHA, 1998). Amostras de lodo foram centrifugadas a 14000g a 4°C por 15 minutos e 5 mL do sobrenadante foram retirados. Uma alíquota de 125 µL de Hidróxido de Amônio (NH₄OH) a 0,5 Molar de concentração foi adicionado ao sobrenadante e o pH ajustado para 8,0 com fosfato tampão antes da adição de 50 µL de 4-aminoantipirina a 2% e 50 µL de ferrocianeto de potássio K₃Fe(CN)₆. Os conteúdos são bem misturados e deixados por 15 minutos antes da determinação da absorbância a 506 nm. A concentração de fenol foi determinada com referência a curva padrão na faixa de 1-5 mgN/L.

3.5.5 Determinação de Nitrogênio em Lodo

O Nitrogênio encontra-se presente em lodos de esgoto em parte nas formas orgânicas, o que é potencialmente favorável para a melhoria da qualidade do solo. Essas espécies serão mineralizadas tornando o nitrogênio disponível às plantas. Assim para aproveitar o lodo de esgoto para uso agrícola deve-se considerar a quantidade de Nitrogênio. A taxa de mineralização é utilizada nos cálculos agrônômicos para aplicação de lodo de esgoto em solo agrícola. O nitrogênio agrega valor ao lodo de esgoto por ser um nutriente essencial as plantas, mas suas dosagens são restritas a aplicação em solos agrícolas devido ao possível risco de contaminação de águas subsuperficiais por lixiviação de nitrato. Por isso a aplicação é limitada pela quantidade de nitrogênio potencialmente disponível no material o que deve se igualar à recomendação de adubação nitrogenada da espécie cultivada (BOEIRA, 2004).

Para análise de nitrogênio Kjeldahl, todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico e água deionizada. As amostras de 1,000 g de lodo com alto teor de umidade foram previamente digeridos com a adição de ácido sulfúrico, sulfato de potássio e sulfato de cobre como catalisador, para transformar o nitrogênio orgânico em amoniacal. Após a adição da base, a amônia destilada em meio alcalino e absorvida em meio ao ácido bórico é determinada por titulação com ácido sulfúrico 0,01 mol/L. Após a digestão, a destilação e a titulação, medem-se o nitrogênio orgânico mais o amoniacal, que é chamado de nitrogênio Kjeldahl total (NKT) (BREMNER & MULVANEY, 1982). Todos os dados obtidos foram corrigidos quanto à umidade, e os teores de N foram expressos em base seca.

3.6 Caracterização Biológica do Lodo

3.6.1 Análise de Coliformes

A presença de Coliforme foi determinada utilizando-se o método de membrana filtrante para determinação de coliformes totais e de *Escherichia coli* (CETESB – NT L5.214)

Um sistema de filtração devidamente estéril foi utilizado e foi filtrado 100 mL de amostra em membrana de nitrato de celulose de 47 mm de diâmetro e

porosidade de 0,45 μm . Após a filtração transferiu-se a membrana contendo o material filtrado para um meio de cultura do kit NKS 14053-47-N da Sartorius, o qual foi previamente hidratado com água deionizada estéril.

Após a transferência a amostra da amostra para o meio de cultura foi incubada em estufa à temperatura de 37 °C por 24 horas. Após incubação foi realizada a contagem das colônias tendo como critério, que coloração vermelhas são devidas as coliformes totais e colônias verde metálica referem-se a *Escherichia coli*.

3.7 Ensaio de toxicidade com o micro-crustáceo *Artemia salina*

A toxicidade frente ao microcrustáceo *Artêmia salina* foi determinada apenas pela porcentagem de morte dos organismos em relação ao seu número total de 10 larvas, na presença de diferentes concentrações de lodo solubilizado antes e após tratamento enzimático, ensaios foram realizados para lodo primário e para lodo secundário pH ajustado para 7,0, por um período de 24 h (MCLAUGHLIN e col., 1995). O método consistiu em avaliar a morte das larvas de *Artêmia salina*, cultivando-os em frascos de 5 mL contendo diferentes quantidades do lodo solubilizado e solução salina a 38 gL^{-1} de sal marinho. Após 24 horas, foi feita a contagem dos organismos sobreviventes, determinando-se a dose de poluentes.

3.8 Aplicação de Lodo controlado no cultivo de alface

3.8.1 Parâmetros de cultivo

Plantio de sementes de alface (*Alface - Sativa L.*): Fornecedor Agristar do Brasil Ltda. Características do tipo de alface: Planta volumosa com excelente uniformidade e padrão comercial. Apresenta de 30 a 35 folhas, com tamanho de 36 x 20 cm e peso médio de 400g e ciclo de 55 a 60 dias .

3.7.2 Metodologia para o plantio das sementes de Alface

O plantio foi determinado em solo virgem sem adubação em solo com adubação segundo Campos (2005). Para o meio, foi feita a seguinte segregação: Os tratamentos consistiram de parcelas sem aplicação de fertilizantes ou lodo, parcelas com aplicação de N mineral, parcelas com doses de lodo calculado para fornecer a cultura o mesmo teor de nitrogênio mineral (1N) e parcelas com duas doses (2N), três (3N), e quatro vezes (4N) a dose de lodo do tratamento 1N. Para o cultivo no solo virgem, caracterizados pela baixa concentração de metais e baixo teor de nutrientes, justificando dessa forma o emprego de lodo na expectativa de auxiliar essa carência de nutrientes e matéria orgânica em solo virgem (CAMPOS, 2005)

Para o plantio em solo adubado, solo com fertilizante e solo + lodo em doses crescentes (1N, 2N, 3N e 4N), as sementes de alface foram cultivadas em sementeiras de plástico com aproximadamente 4 cm de altura e 6 cm de diâmetro. As sementes foram cultivadas da seguinte maneira: adicionou-se as sementes em pequena quantidade aleatória, com uma profundidade de $\pm 0,5$ cm em todas as segregações, logo após o período de sete dias da adição do fertilizante comercial e do lodo, regando as sementes com água potável.

Para a quantidade de lodo e de fertilizante comercial que foi adicionado ao plantio foi utilizado um dos critérios da Norma da CETESB-Norma P 4.230 ago/99. Onde se recomenda uma taxa de mineralização do nitrogênio de aproximadamente 30% para cultura de hortaliças. A quantidade de Nitrogênio recomendado para cultura de hortaliças foi consultada no Boletim Técnico nº 100 do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), sendo 60 kg/ha.

Para a quantidade de Lodo primário e ou lodo secundário adicionado ao plantio utilizou-se de um dos critérios da Norma da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB) – Norma P 4230 ago/99 (CETESB, 1999), ou seja, a Taxa de aplicação de lodo é em função do nitrogênio disponível, proveniente da quantidade de nitrogênio total presente na amostra em questão (Lodo primário e Lodo secundário), portanto utilizou-se do seguinte procedimento:

$$\text{Taxa de Aplicação (t/há)} = \frac{\text{Nitrogênio Recomendado (Kg/ha)}}{\text{Nitrogênio Disponível (kg/t)}}$$

Para determinar o nitrogênio disponível no lodo utilizou-se o seguinte procedimento:

$$\text{Nitrogênio disponível} = \text{Taxa de Mineralização} \times \text{Teor de Nitrogênio Total}$$

A taxa de mineralização do nitrogênio esta na Norma da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB) – norma P4230 (CETESB, 1999), que recomenda uma porcentagem de 30% para cultura de hortaliças.

O teor de nitrogênio total foi obtido a partir das análises das amostras em lodo primário e lodo secundário.

3.7.2.3 Cálculos – Quantidade de Lodo Primário para plantio de sementes

Quantidade de Nitrogênio recomendado = 60,0 kg/ha.

Taxa de mineralização do nitrogênio = 30 %

Lado do vaso de plástico = 6,0 cm

Área do vaso de plástico = $r^2 = 6^2 = 36,00 \text{ cm}^2$

Análise das Amostras de Nitrogênio total do Lodo primário em mg/kg:

Amostra 1 = 6.300,0

Amostra 2 = 6.100,0

Média = 6.200,0 mg/kg ou 6,2 g/kg

Nitrogênio Disponível Lodo Primário:

Nitrogênio Disponível = Taxa de mineralização x Teor de Nitrogênio total

Nitrogênio Disponível = 0,30 x 6,2 g/kg

Nitrogênio Disponível = 1,806 g/kg ou 1,806 kg/t

Dose de Lodo Primário por hectare (ha):

Taxa de aplicação (t/ha) = $\frac{\text{Nitrogênio Recomendado (kg/ha)}}{\text{Nitrogênio Disponível (kg/t)}}$

Taxa de aplicação (t/ha) = $\frac{60 \text{ kg/ha}}{1,806 \text{ kg/t}} = 33,22 \text{ t/ha}$ ou 33.220 kg/ha ou 33.220.000 g/ha

Dose de Lodo Primário por espaço na sementeira

$$33.220.000,0 \text{ g/ha} \frac{\quad}{\quad} 100.000.000 \text{ cm}^2$$

$$x \frac{\quad}{\quad} 36 \text{ cm}^2$$

$$x = 1,20 \text{ g}$$

Umidade

$$0,3181 \text{ (teor de sólidos)} \frac{\quad}{\quad} 1,20 \text{ g (dose de lodo primário)}$$

$$1 \text{ (base seca)} \frac{\quad}{\quad} x \quad x = 3,80\text{g}$$

3.7.2.4 Cálculos – Quantidade de Lodo Secundário para plantio de sementes

Quantidade de Nitrogênio recomendado = 60,0 kg/ha.

Taxa de mineralização do nitrogênio = 30 %

Lado do vaso de plástico = 6,0 cm

Área do vaso de plástico = $r^2 = 6^2 = 36,00 \text{ cm}^2$

Análise das Amostras de Nitrogênio total do Lodo Secundário em mg/kg:

Amostra 1 = 4.400,0

Amostra 2 = 4.300,0

Média = 4.350,0 mg/kg

Nitrogênio Disponível Lodo Secundário:

Nitrogênio Disponível = Taxa de mineralização x Teor de Nitrogênio total

Nitrogênio Disponível = 0,30 x 4,35 g/kg

Nitrogênio Disponível = 1,31 g/kg ou 1,31 kg/t

Dose de Lodo Secundário por hectare (ha):

Taxa de aplicação (t/ha) = $\frac{\text{Nitrogênio Recomendado (kg/ha)}}{\text{Nitrogênio Disponível (kg/t)}}$

Taxa de aplicação (t/ha) = $\frac{60 \text{ kg/ha}}{1,31 \text{ kg/t}} = 45,80 \text{ t/ha}$ ou 45.800 kg/ha ou 45.800.000 g/ha

Dose de Lodo Secundário por espaço na sementeira

$$45.800.000,0 \text{ g/ha} \frac{\quad}{\quad} 100.000.000 \text{ cm}^2$$

$$x \frac{\quad}{\quad} 36 \text{ cm}^2 \quad x = 1,64 \text{ g}$$

Umidade

$$0,3740 \text{ (teor de sólidos)} \frac{\quad}{\quad} 1,64 \text{ g (dose de lodo primário)}$$

$$1 \text{ (base seca)} \frac{\quad}{\quad} x \quad x = 4,38$$

3.7.3 Metodologia para o plantio de mudas de Alface

As sementes da alface foram plantadas em sementeiras (bandeja de isopor) e transplantadas após período 25 dias para vasos de plástico cujas dimensões são de 12 cm de altura e 13,5 cm de diâmetro, onde cada vaso recebeu apenas uma muda de alface. Para o plantio em solo adubado, solo com fertilizante e solo + lodo foi utilizado uma profundidade de acordo com a raiz das próprias mudas de alface. Seguido usou-se o mesmo procedimento anterior para as sementes. Todos os ensaios acima citados foram realizados em duplicata uma vez que este estudo analisou dois tipos de lodo: lodo primário e lodo secundário.

Portanto foi realizado o plantio das mudas, adicionado as devidas quantidades de lodo primário e ou secundário e regado com água potável.

3.7.3.1 Cálculos – Quantidade de Lodo Primário para plantio de mudas de Alface

Quantidade de Nitrogênio recomendado = 60,0 kg/ha.

Taxa de mineralização do nitrogênio = 30 %

Diâmetro do vaso de plástico = 13,5 cm

Área do vaso de plástico = $\pi \cdot r^2 = 3,1416 \cdot (6,75)^2 = 143,14 \text{ cm}^2$

As plantas foram colhidas aos 42 dias após o transplante, cortadas rentes a superfície dos substratos e determinada a massa seca da parte aérea e o número médio de folha por planta. A matéria seca foi obtida por em estufa à temperatura de 60 °C, durante 72 h até atingir peso constante (LOPES e *col.* 2005).

Todos os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão utilizando o software *Bioestat 5.0*.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Atividade das Enzimas

4.1.1 Atividade da Protease (Savinase 16L – Novozyme)

O monitoramento da atividade da enzima protease SAVINASE 16L Novozyme foi determinado. Todos os aspectos de suas absorvâncias e a representação gráfica da atividade desta enzima foi apresentado no APÊNDICE A.

A unidade da atividade da enzima protease savinase 16 L(Novozyme) foi determinada e calculada, sendo 76 U/ μ L/min de enzima.

4.1.2 Atividade da celulase (Celluclast 1.5L – Novozyme)

O monitoramento da atividade da enzima celulase Celluclast 1.5L Novozyme foi determinado. Todos os aspectos de suas absorvâncias e a representação gráfica da atividade desta enzima foi apresentado no APÊNDICE B.

A unidade da atividade da enzima Celluclast 1.5 L (Novozyme) foi determinada e calculada, sendo 5,5 μ mol/ μ L/min de enzima.

4.1.3 Atividade da lipase (Lipolase 100L – Novozyme)

O monitoramento da atividade da enzima lípase – lipolase 100L Novozyme foi determinado. Todos os aspectos das concentrações de ácidos graxos e a representação gráfica da atividade desta enzima foi apresentado no APÊNDICE C.

A unidade da atividade da enzima lípase Lipolase 100L (novozyme) foi determinada e calculada, sendo 6,1 U/ μ L/min de enzima.

4.1.4 Verificação da atividade das enzimas em função do tempo

Ao longo do processo de tratamento com enzima do lodo primário observou-se queda da atividade enzimática, como pode ser visto na Figura 2.

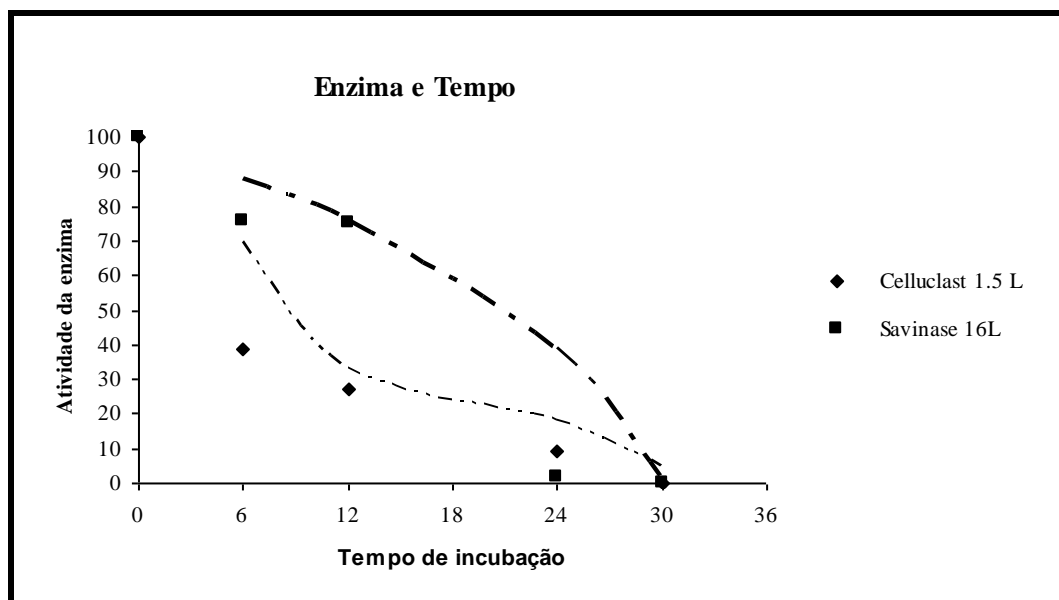


Figura 2: Atividade enzimática em função do tempo das enzimas (♦) celulase, (■) protease

Celulase indicou perda substancial de 60% da atividade enzimática em 6 h, 70% em 12 h e 93% em 24 h de incubação. Protease indicou 20% de perda da atividade em 6 h, mantendo em 12 h e 99% em 24 h de incubação. Estes resultados indicam que tratamento enzimático do lodo ativado deve ser realizado no máximo em 24 h de incubação com reposição da atividade enzimática em 12 h.

A atividade enzimática depende de características do meio, notadamente do pH e da temperatura. A maioria das enzimas apresenta um valor de pH para o qual sua atividade é ótima.

Obedecendo a característica de cada enzima foram realizados ensaios para tratamento enzimático do lodo primário, com ajuste de pH, temperatura controlada e reposição de enzima para que a atividade enzimática máxima fosse mantida.

4.2 Tratamento Enzimático do Lodo Primário

4.4.1 Lodo Primário sem ajuste de pH com uma única adição de enzima

Os resultados do tratamento enzimático do lodo primário sem ajuste de pH e com uma única adição de enzima foram apresentados na forma da decantabilidade do lodo primário apresentado sob a forma de redução de volume conforme Tabela 1 e sob a porcentagem de redução de volume conforme Figura 3.

Tabela 1: Efeito da enzima na redução de volume e decantabilidade de lodo primário.

| Enzimas | Decantabilidade (mL) | | |
|------------------------------|----------------------|----|----|
| | 24 | 48 | 96 |
| Tempo (h) | | | |
| Controle | 43 | 43 | 43 |
| Protease | 43 | 42 | 42 |
| Lípase | 43 | 43 | 43 |
| Celulase | 39 | 20 | 15 |
| Celulase + Lípase | 20 | 17 | 16 |
| Celulase + Protease | 34 | 27 | 25 |
| Lípase + Protease | 43 | 43 | 43 |
| Lípase + Protease + Celulase | 27 | 25 | 25 |

Unidades de atividade de enzima, aqui representada como volume de enzima, foram testadas e observou-se uma maior redução de volume com 500 μL (2750 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}/\text{min}$) de enzimas. Celulase apresentou significativa resposta ao tratamento, reduzindo 65% do volume a 96 h (Fig. 3), certamente associado a degradação de material lignocelulósico. Enzimas combinadas como celulase/lípase apresentaram 63% de redução após 96 h. Comparando celulase e celulase + lípase a 24 h observa-se 10% e 53% de redução do volume; indicando que a lípase de alguma maneira protege a celulase por apresentar junto com íons metálicos maiores adsorção por sólidos (WAWRZYNCZYK, 2008) e um aumento da atividade enzimática (WHITELEY, 2002). Celulase + protease e a combinação celulase + protease + lipase apresentaram redução de 42% no volume do lodo tratado em 96 h. Protease e lípase aplicadas individualmente e a combinação lípase + protease não apresentaram resposta ao tratamento para lodo primário (não mostrado).

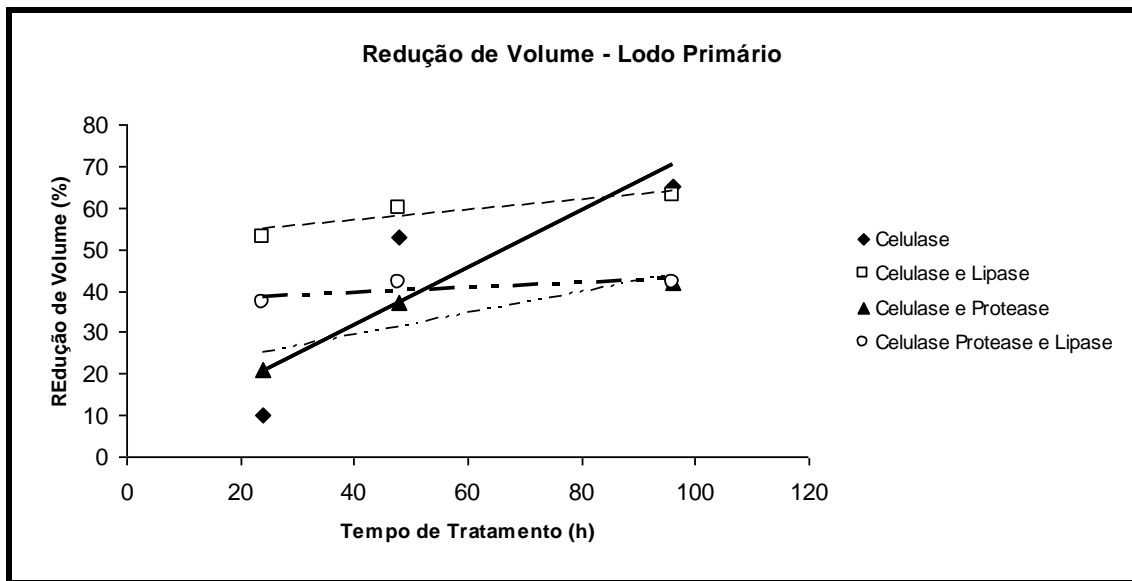


Figura 3: Redução do lodo primário em função do tempo

É consistente com a observação que a celulase é mais eficaz em reduzir volume de lodo primário. Baseado em tratamento com enzimas conclui-se que o lodo primário possui composição lignocelulósica principal componente da membrana celular dos vegetais. Após 24 h de incubação observa-se também que há uma diminuição da redução de volume indicando perda da atividade enzimática.

4.4.2 Tratamento Lodo Primário com e sem ajuste de pH com reposição da atividade enzimática

Uma melhora na redução de volume foi observada com 250 μL (1375 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}/\text{min}$) e 500 μL (2750 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}/\text{min}$) de enzimas e 24 h de incubação com reposição da atividade enzimática após 12 h. Ao comparar celulase (2750 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}/\text{min}$) a 40°C versus 50°C com reposição da enzima, um aumento significativo foi observado de 10% (Tabela 1) a 32% (Figura 4). Celulase sem ajuste de pH a 50°C e posteriormente tratado com uma combinação de protease/lípase a pH 8,0 a 40°C após tratamento com celulase apresentaram significativa resposta ao tratamento, reduzindo 60% do volume do lodo em 24 h de incubação. A celulase individualmente a pH 4,8 e temperatura de 50°C submetida para tratamento do lodo primário, com reposição da atividade enzimática em 12 h, não apresentou redução de volume. Em relação ao sistema aberto/fechado foram observados melhores resultados em sistema fechado (Fig. 4).

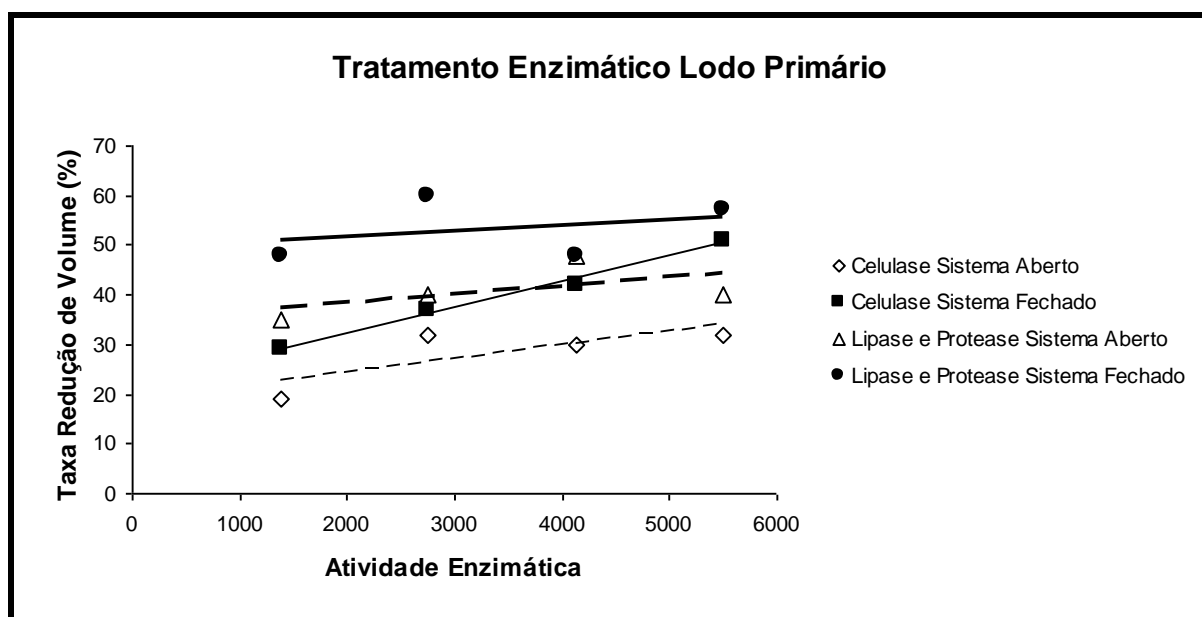


Figura 4: Tratamento Enzimático de Lodo Primário

4.5 Tratamento Lodo Secundário

4.5.1 Lodo Secundário sem ajuste de pH com uma única adição de enzima

O lodo secundário é proveniente do incremento da atividade microbiana aeróbica e anaeróbica nas ETEs, de forma a converter os sólidos dissolvidos em sólidos suspensos (biomassa microbiana) e reduzir o conteúdo da matéria orgânica por respiração. Posteriormente, a biomassa microbiana é precipitada junto com outras partículas, contendo 0,5% a 2% de sólidos e 50% a 60% de matéria orgânica.

O Lodo secundário foi submetido ao tratamento enzimático sob as mesmas condições como descrito nos itens 3.2.1 – 3.2.3 repetindo os mesmos ensaios aplicados ao lodo primário. (vide concentrações Tabela 1).

Tabela 2: Efeito da enzima na redução de volume e decantabilidade de lodo secundário.

| Enzimas | Decantabilidade (mL) | | |
|------------------------------|----------------------|----|----|
| | 24 | 48 | 96 |
| Tempo (h) | | | |
| Controle | 17 | 20 | 23 |
| Protease | 17 | 18 | 23 |
| Lípase | 15 | 17 | 23 |
| Celulase | 15 | 12 | 13 |
| Celulase + Lípase | 14 | 15 | 15 |
| Celulase + Protease | 15 | 13 | 14 |
| Lípase + Protease | 15 | 17 | 17 |
| Lípase + Protease + Celulase | 13 | 15 | 15 |

Celulase respondeu ao tratamento, com 44% de redução no volume de lodo secundário Tabela 2. Para as demais enzimas aplicadas individualmente ou em conjunto mostraram no máximo 25% de redução. Observa-se que há um aumento do volume após 48 h e 96 h do controle e de amostras tratadas com enzimas, supostamente devido a posterior hidratação do lodo e ao tipo de partículas formadas. No caso da celulase e celulase+lípase observa-se a mesma tendência observada e discutida no tratamento do lodo primário item 4.2.1, onde a lípase adicionada a celulase aumenta o efeito na redução de volume.

4.5.2 Lodo Secundário com ajuste de pH com uma única adição de enzima

No tratamento aplicado ao lodo secundário por enzimas, com ajuste de pH e temperatura, foi obtido resultado moderado sendo o uso de uma combinação de celulase + lípase + protease o melhor resultado obtido, com 27% de redução de volume, em 24 h de incubação Tabela 3.

Tabela 3: Efeito da enzima na redução de volume e decantabilidade de lodo secundário com ajuste de pH.

| Enzimas | Decantabilidade (mL) | | |
|------------------------------|----------------------|----|----|
| | Tempo (h) | | |
| | 24 | 48 | 96 |
| Controle | 15 | 15 | 15 |
| Protease | 14 | 19 | 15 |
| Lípase | 13 | 15 | 18 |
| Celulase | 13 | 17 | 16 |
| Celulase + Lípase | 14 | 16 | 16 |
| Celulase + Protease | 12 | 17 | 17 |
| Lípase + Protease | 12 | 15 | 15 |
| Lípase + Protease + Celulase | 11 | 12 | 13 |

Quando comparado o tratamento do lodo secundário por enzimas (Figura 5), com ajuste e sem ajuste de pH, com reposição da atividade enzimática em 12h de incubação, em geral, não apresentaram resultados expressivos, exceto quando foi tratado sem ajuste de pH (Tabela 3) com celulase que atingiu valores de ao redor de 44% de redução de volume. Também foram realizados paralelamente ensaios com sistema aberto/fechado, com reposição de enzima e não se verificou resultado significativo na redução de volume.

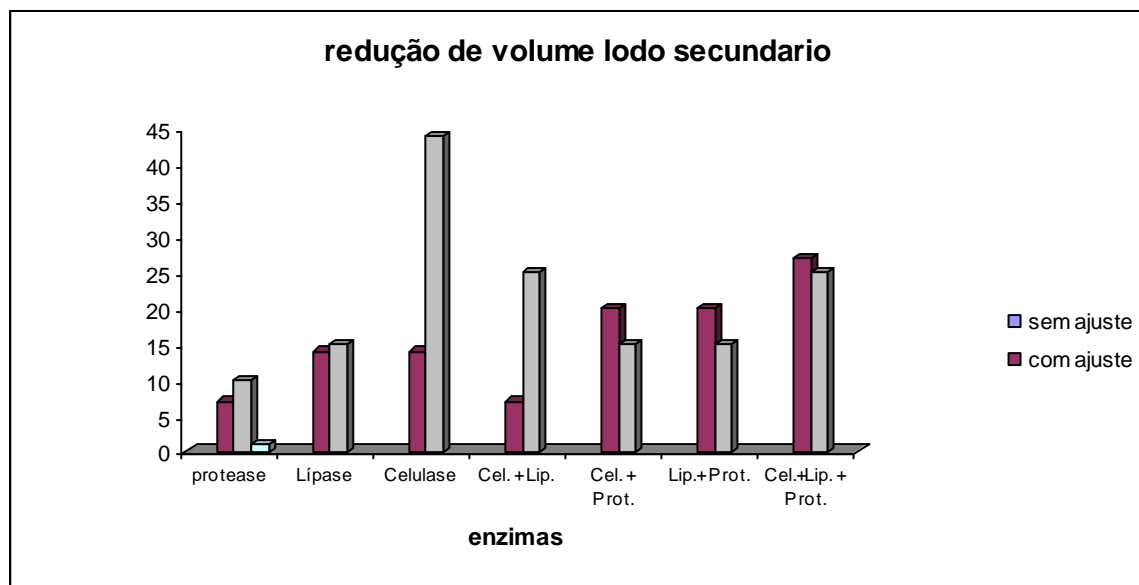


Figura 5: Redução de volume para lodo secundário, com ajuste e sem ajuste de pH

4.6 Caracterização Química do Lodo

4.4.1 Determinação de Carbono Orgânico Total (COT)

4.4.1.1 Determinação de carbono orgânico total em material solubilizado

Tabela 4: Determinação do Carbono Orgânico Total em amostras de material solubilizado.

| Amostras | Sem Tratamento mg/L | Com Tratamento mg/L | Aumento % |
|-----------------|------------------------|------------------------|--------------|
| Enzima/Controle | 1796 | -- | -- |
| Lodo Primário | 2817 | 4279 | 51,8 |
| Lodo Secundário | 2482 | 4308 | 73,5 |

Na determinação da carga orgânica total em material solubilizado observou-se significativo aumento da COT após tratamento enzimático (Tabela 4), para o lodo primário verificou-se um aumento de 50% em relação à COT inicial e para o lodo secundário verificou-se um aumento de aproximadamente 70% da COT, isto significa que as enzimas produziram a decomposição de componentes não solúveis, liberando-os em meio solúvel. O material solubilizado utilizado para esta análise refere-se ao tratamento mais eficiente obtido nos teste com enzima. Para esta análise utilizou-se lodo tratado com celulase.

4.4.1.3 Determinação de carbono orgânico total em material sólido

Quando comparado as determinações de carbono orgânico total em material solubilizado (Tabela 4) e os valores obtidos para carbono orgânico total em material sólido (Tabela 5) é consistente a eficiência da enzima celulase para o tratamento de lodo, observou-se uma redução de aproximadamente 50% da COT em material sólido para ambas amostras de lodo. Os valores obtidos em lodo sólido indicaram

também que o lodo proveniente da indústria papelreira tem baixos teores de COT, principalmente em lodo secundário, isto justifica o fato da enzima não ser tão eficiente na redução de volume (decantabilidade) para este tipo de lodo.

Tabela 5: Determinação do carbono orgânico total em amostras sólidas

| Amostras de Lodo | Sem tratamento % | Tratado % | Redução % |
|------------------|---------------------|--------------|--------------|
| Primário | 18,31 | 10,13 | 44,67 |
| Secundário | 12,56 | 6,50 | 48,25 |

4.4.4 Caracterização Química do Lodo Primário

Como já discutido anteriormente no item 4.2.3 o material obtido após tratamento enzimático tem suas características melhoradas quanto a sua decantabilidade e/ou redução de volume e uma redução do teor de sólidos de 23% como mostra Tabela 6.

Tabela 6: Caracterização do Lodo Primário antes e após tratamento enzimático

| Amostras | Umidade % | Teor Sólidos % | Fenóis mg.L ⁻¹ |
|-------------------|--------------|-------------------|------------------------------|
| Lodo Solub. Bruto | -- | -- | 0,96 |
| Lodo Solub. Trat. | -- | -- | 5,10 |
| Lodo Sol. Bruto | 58,8 | 41,1 | -- |
| Lodo Sol. Trat. | 68,2 | 31,8 | -- |

O Fenol é um agente químico desfavorável que está presente no lodo, segundo Paraíba e *col.* 2007 demonstram que frutos raízes e caules podem bioconcentrar este elemento restringindo o uso de lodo como fertilizante. No Brasil este agente químico é regulamentado pela norma P4230 (CETESB, 1999). A ação enzima combinada com a remoção de substâncias poliméricas permitiu a liberação

do Fenol para o material solubilizado aumentando sua concentração em 530% Tab. 11, indicando que o tratamento com enzimas pode remover este poluente do Lodo e gerar uma contaminação secundária no material em solução.

Tabela 7: Determinação de Metais do Lodo Primário material solubilizado antes e após tratamento enzimático.

| Metais | Amostras (mg/kg) | | Aumento % |
|----------|---------------------|-------------------|--------------|
| | Antes Tratamento | Depois Tratamento | |
| Manganês | 14,82 | 23,29 | 57,1 |
| Cádmio | <0,038 | <0,038 | 0 |
| Cobre | 0,19 | 0,81 | 326,3 |
| Níquel | 0,16 | 0,32 | 100 |
| Zinco | 2,33 | 7,45 | 219,7 |
| Magnésio | 177,4 | 156,1 | -- |
| Ferro | 180,5 | 658,1 | 264,6 |
| Cálcio | 887,1 | 324,9 | -- |
| Cromo | 1,04 | 1,04 | 0 |

Os resultados demonstram a potencialidade da ação enzimática de biodegradação de biomassa em lodo primário da indústria papelreira. A análise de metais sobre o solubilizado antes e após o tratamento enzimático reforça esta idéia, uma vez que, alguns metais aumentaram suas concentrações após ação enzimática. A concentração de Manganês aumentou de 57,1%, cobre aumentou de 326,3%, de níquel aumentou de 100%, de zinco aumentou de 219,7% e de ferro aumentou de 264,6% (Tabela 7) indicam a suscetibilidade do ataque da enzima ao material polimérico liberando metais, antes ligados a estas estruturas, ao solubilizado e gerando uma contaminação secundária.

Tabela 8: Determinação de Metais do Lodo Primário material sólido antes e após tratamento enzimático.

| Metais | Amostras (mg/kg) | | Redução % |
|----------|---------------------|-------------------|--------------|
| | Antes Tratamento | Depois Tratamento | |
| Manganês | 1,07 | 0,91 | 14,95 |
| Cádmio | <0,002 | <0,002 | 0 |
| Cobre | 0,070 | 0,034 | 51,42 |
| Níquel | 0,014 | 0,014 | 0 |
| Zinco | 0,35 | 0,35 | 0 |
| Magnésio | 5,45 | 2,80 | 48,62 |
| Ferro | 35,2 | 37,5 | -- |
| Cálcio | 43,8 | 33,5 | 23,51 |
| Cromo | 0,077 | 0,077 | 0 |

O mesmo resultado se observa na análise metais de material sólido do lodo primário antes e após tratamento enzimático. Diferentemente do material solubilizado os metais diminuíram suas concentrações, uma vez que, foram liberados ao solubilizado. Manganês diminuição de 14,95% cobre diminuição de 51,42%, magnésio diminuição de 48,62% e cálcio 23,51% (Tabela 8). Pode-se estimar que ações enzimáticas microbiana em solos suplementados com lodo, com tempo podem liberar metais ocasionando contaminação do solo por metais pesados.

4.4.5 Caracterização Química do Lodo Secundário

O mesmo efeito observado no experimento com lodo primário foi observado também no experimento com lodo secundário. O fenol foi liberado em 560% no solubilizado (Tabela 9) já discutido no item 4.4.2.

Tabela 9: Caracterização do Lodo Secundário antes e após tratamento enzimático

| Amostras | Umidade | Teor Sólidos | Fenóis |
|-------------------|---------|--------------|---------------------|
| | % | % | mg. L ⁻¹ |
| Lodo Solub. Bruto | -- | -- | 1,50 |
| Lodo Solub. Trat. | -- | -- | 8,44 |
| Lodo Sol. Bruto | 60,9 | 39,0 | -- |
| Lodo Sol. Trat. | 62,3 | 37,4 | -- |

Teor de sólidos apresentou uma pequena redução de 5%. Os metais aumentaram suas concentrações no solubilizado após o tratamento enzimático. Cádmio um aumento na concentração de 144,7% cobre aumento de 31,57% níquel aumento de 100% magnésio aumento de 63,1% e ferro aumento de 17% (Tabela 10). Indicando desobstrução dos metais das estruturas poliméricas presentes no lodo secundário liberando-os ao solubilizado.

Tabela 10: Determinação de Metais do Lodo Secundário material solubilizado antes e após tratamento enzimático.

| Metais | Amostras (mg/L) | | Aumento % |
|----------|--------------------|-------------------|--------------|
| | Antes Tratamento | Depois Tratamento | |
| Manganês | 14,44 | 14,44 | 0 |
| Cádmio | <0,038 | 0,093 | 144,7 |
| Cobre | 0,19 | 0,25 | 31,57 |
| Níquel | 0,08 | 0,16 | 100 |
| Zinco | <0,174 | <0,174 | 0 |
| Magnésio | 17,6 | 28,7 | 63,1 |
| Ferro | 225,2 | 263,3 | 17,0 |
| Cálcio | 920,3 | 458,9 | -- |
| Cromo | 1,16 | 1,52 | 31,0 |

Tabela 11: Determinação de Metais do Lodo Secundário material sólido antes e após tratamento enzimático.

| Metais | Amostras (mg/g) | | Redução % |
|----------|--------------------|-------------------|--------------|
| | Antes Tratamento | Depois Tratamento | |
| Manganês | 0,98 | 0,82 | 16,3 |
| Cádmio | <0,002 | <0,002 | 0 |
| Cobre | 0,11 | 0,10 | 9,1 |
| Níquel | 0,05 | 0,02 | 60 |
| Zinco | 1,42 | 0,65 | 54,2 |
| Magnésio | 2,83 | 1,54 | 45,6 |
| Ferro | 27,9 | 27,9 | 0 |
| Cálcio | 39,1 | 19,5 | 50,1 |
| Cromo | 0,11 | 0,11 | 0 |

Assim como ocorrido anteriormente com o lodo primário sólido, também os metais presentes no lodo secundário sólido após o tratamento com enzimas apresentaram redução nas concentrações de metais. Manganês redução de 16,3% da sua concentração cobre redução de 9,1% níquel redução de 60% zinco redução de 54% magnésio redução de 45,6% cálcio redução de 50,1% da sua concentração (Tabela 11).

Pode-se observar uma potencialidade para reduzir a concentração de metais pesados presentes em biossólidos, através de tratamento por enzimas, principalmente quando o destino final é a utilização na agricultura, uma vez que, os metais são uma das restrições a esta aplicação.

4.5 Resultado da Caracterização Biológica do Lodo

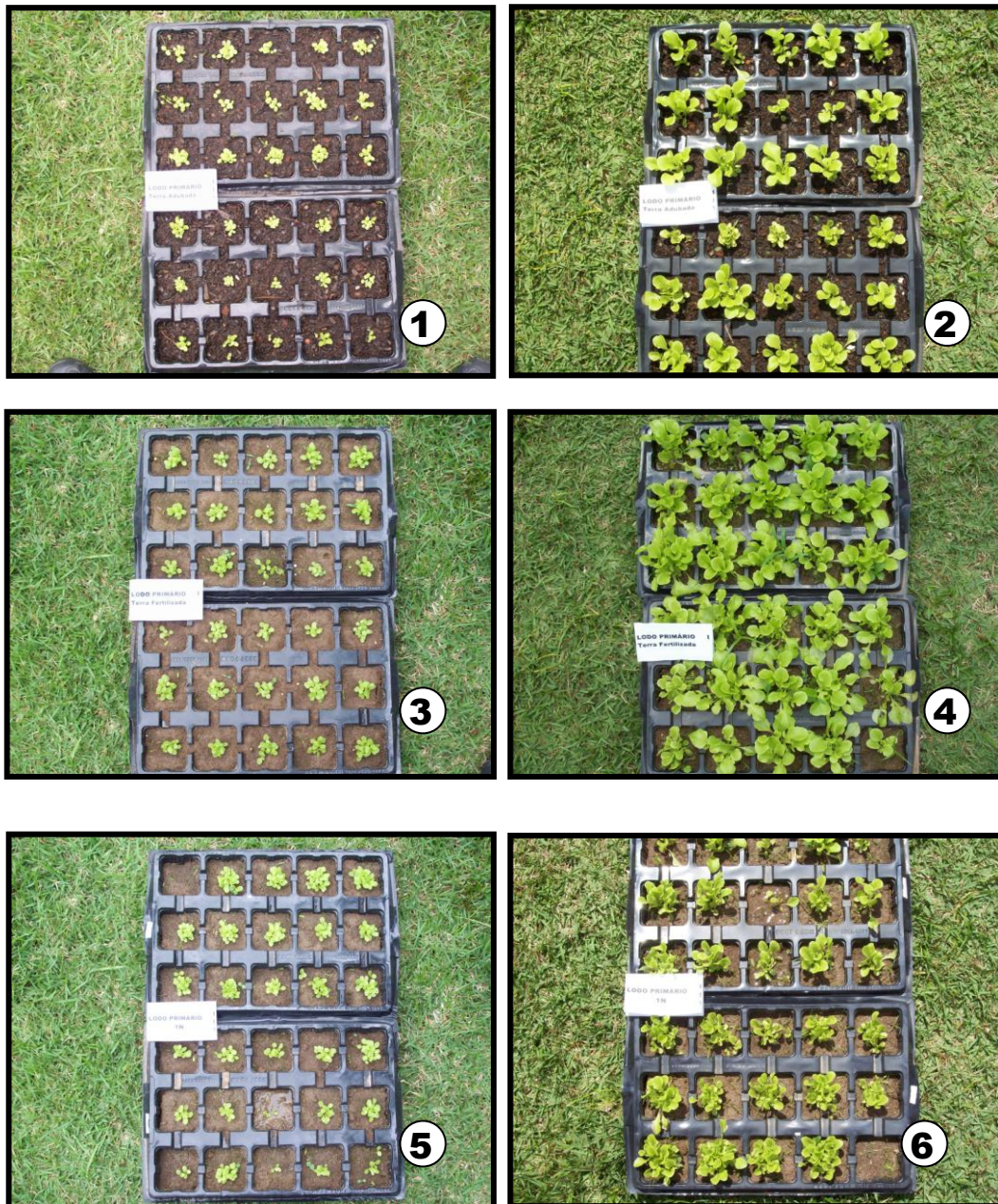
4.6 Resultado do Ensaio de toxicidade com o micro crustáceo *Artemia salina*

Será discutido no item 4.8.

4.8 Resultado da Aplicação controlado de Lodo no cultivo de Alface

4.8.1 Resultado da Aplicação de Lodo Primário no cultivo de Alface

Uma questão importante da adubação com lodo de esgoto como fertilizante é o modo como o resíduo é aplicado ao solo a as taxas de mineralização. Por exemplo, a forma de aplicação, incorporado ou em superfície, pode resultar em efeitos absolutamente diferentes quanto à disponibilidade de nitrogênio. As taxas de mineralização após a aplicação determinarão em que época e em que quantidade o nutriente estará disponível. A liberação do nutriente inicia-se no momento da aplicação e estende-se por meses, diferentemente dos fertilizantes minerais (BOEIRA, 2004). Com possibilidade de calibração de sistema para lodo de esgoto, pode-se estimar a fração da mineralização do nitrogênio durante sete dias da aplicação do lodo de esgoto em solo (BOEIRA & MAXIMILIANO, 2004). Este experimento foi realizado nestas condições, segundo O'BRIEN e col., (2002) a aplicação de lodo e a semeadura simultânea podem ocasionar problemas de germinação. Não observado neste estudo como mostrado na Figura 6 e Figura 7.



7 dias

14 dias

Figura 6: Germinação da alface (*Alface Mimosa Salad Bowl* - *sativa L.*) após 7 e 14 dias: 1 e 2 terra adubada; 3 e 4 terra fertilizada; 5 e 6 tratamento 1N(33,2 g/L). ³

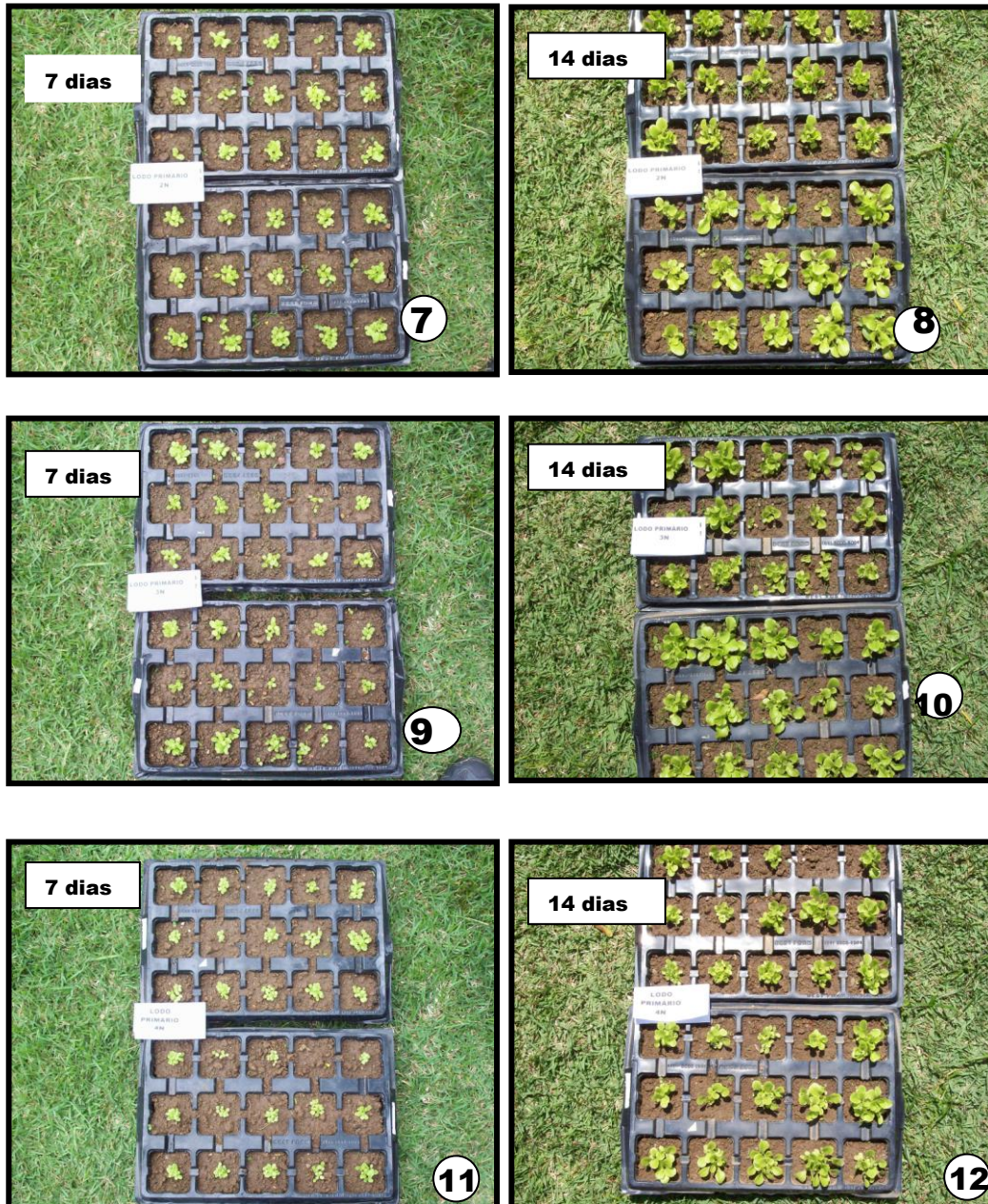


Figura 7: Germinação da alface (*Alface Mimosa Salad Bowl - sativa L.*) após 7 e 14 dias: 7 e 8 tratamento 2N (66,4 g/L); 9 e 10 tratamento 3N (99,6 g/L); 11 e 12 tratamento 4N (132,8 g/L).

Todos os tratamentos germinaram entre 4 e 5 dias após o plantio. Após período de 14 dias, como forma de acompanhamento, foi notado que todas as mudas dos tratamentos apresentaram-se menos viçosas quando comparadas com o plantio de referência com terra fertilizada.

³ Parcelas com doses de lodo calculado para fornecer à cultura a quantidade de N recomendado.

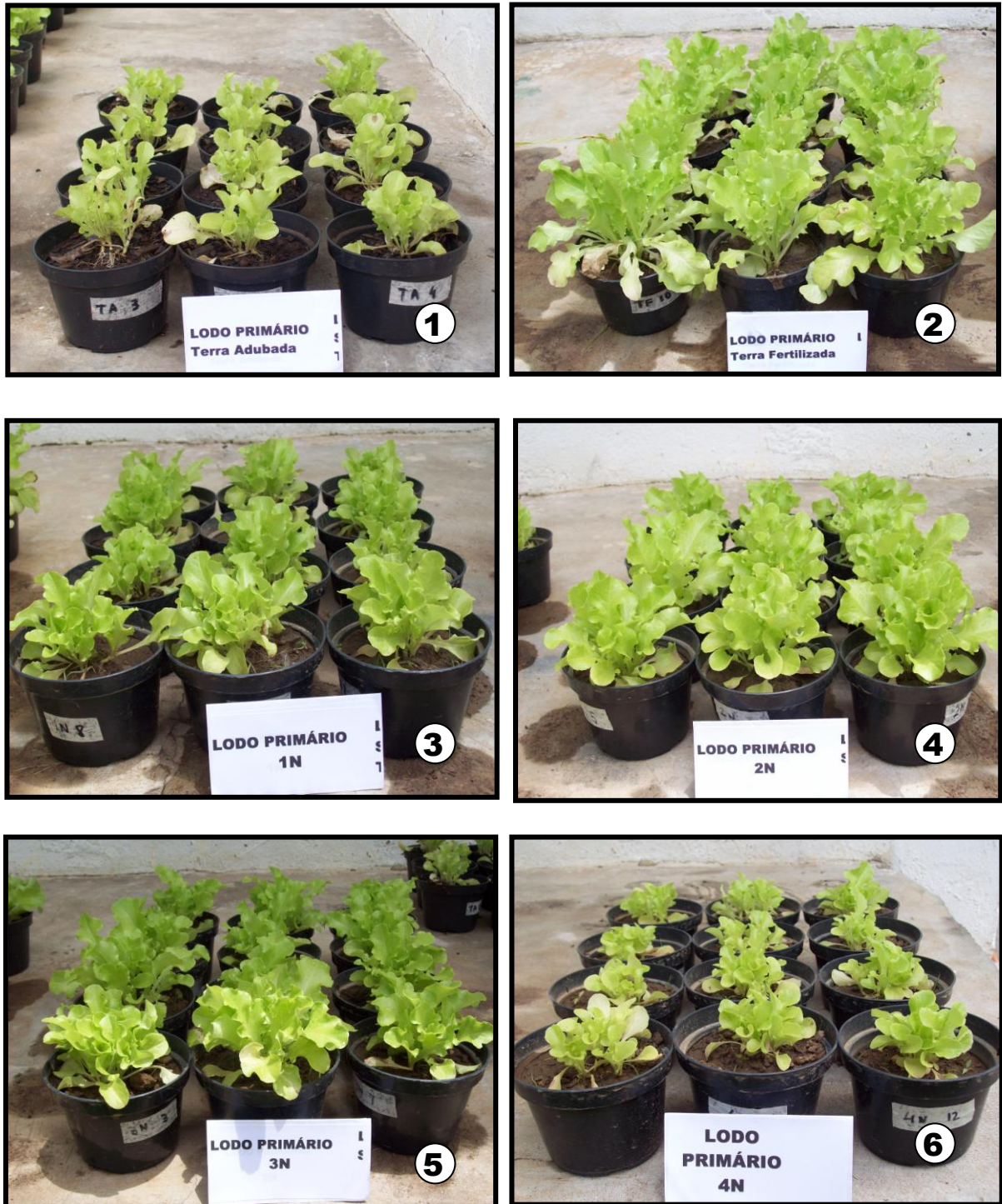


Figura 8: Plantio da alface (*Alface Mimosa Salad Bowl - sativa L.*) após 42 dias: 1 terra adubada; 2 terra fertilizada; 3 tratamento 1N(33,2 g/L); 4 tratamento 2N(66,4 g/L); 5 tratamento 3N(99,6 g/L); 6 tratamento 4N(132,8 g/L)..

Nas Figuras 8, figura 9, figura 10, figura 11 e 12, após um período de 42 dias do plantio são possíveis visualizar que todos os tratamentos e as referências apresentam aspecto viçoso, sendo os tratamentos 2N e 3N apresenta semelhante aspecto com a referência terra fertilizada e um aspecto superior quando comparado com a referência terra adubada.



Figura 9: Plantio da alface (*Alface Mimosa Salad Bowl - sativa L.*) após 42 dias: todos os tratamentos e referência; **A** vista lateral.



Figura 10: Plantio do alface (*Alface Mimosa Salad Bowl - sativa L.*) após 42 dias: todos tratamento e referência; **B** vista lateral.



Figura 11: Plantio da alface (*Alface Mimosa Salad Bowl - sativa L.*) após 42 dias: todos os tratamento e referência; **C** vista superior.

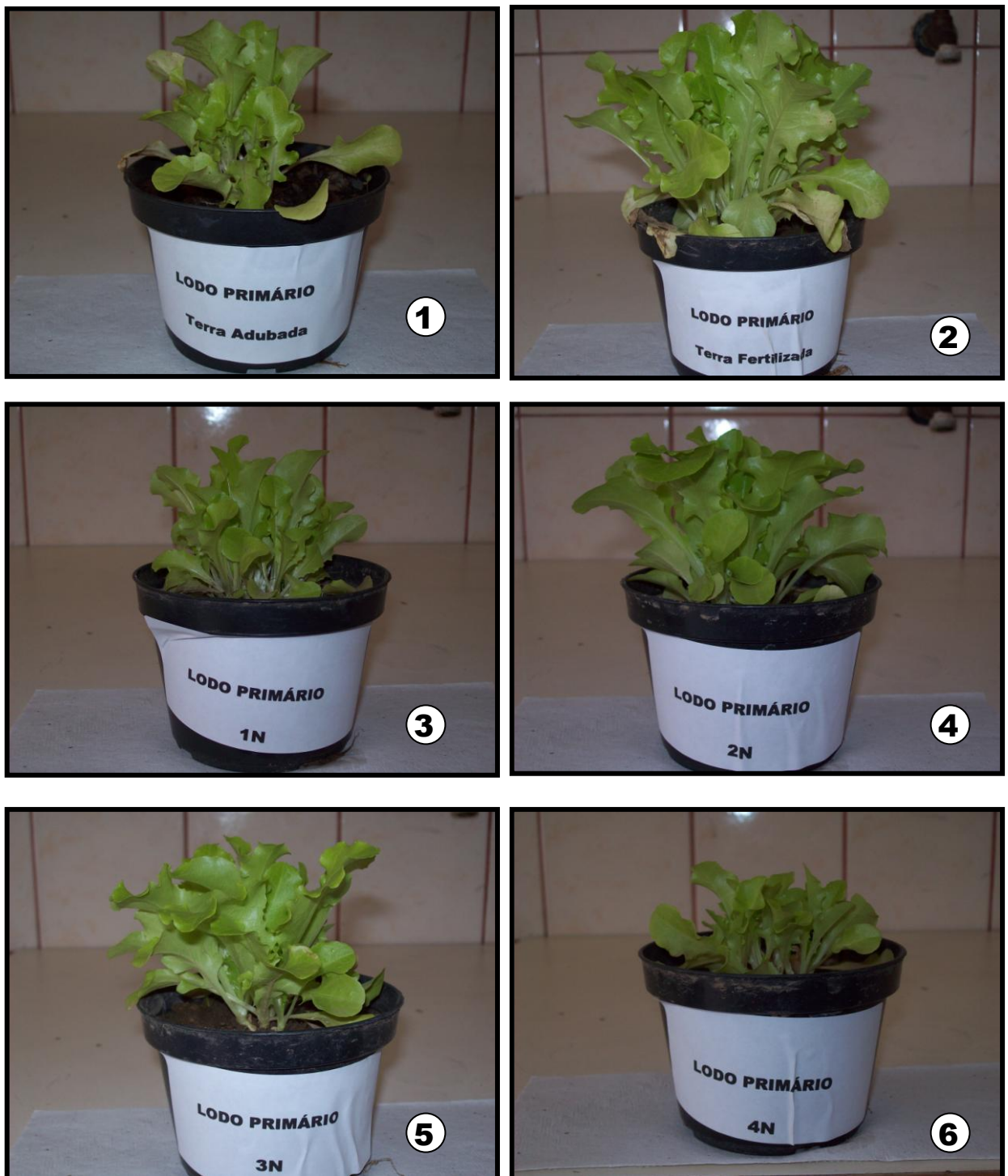


Figura 12: Plantio da alface (*Alface Mimosa Salad Bowl - sativa L.*) após 42 dias (comparação individual): 1 terra adubada; 2 terra fertilizada; 3 tratamento 1N; 4 tratamento 2N; 5 tratamento 3N; 6 tratamento 4N.

4.8.1.1 Comparação do Número de Folhas Lodo Primário

O número de folhas tende a diminuir com o aumento da concentração de lodo primário Tabela 12, apesar da correlação positiva ($R^2=0,9542$ e $p= 0,0232$) Fig. 13.

Tabela 12: Comparação do nº de folhas/vaso entre controle e tratamentos

| Amostras | Solo | | Solo + Lodo | | | |
|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Adubada | Fert. | 1N | 2N | 3N | 4N |
| 1 | 8 | 40 | 34 | 65 | 45 | 48 |
| 2 | 35 | 39 | 24 | 54 | 44 | 48 |
| 3 | 24 | 50 | 107 | 57 | 66 | 31 |
| 4 | 25 | 51 | 65 | 60 | 46 | 32 |
| 5 | 26 | 47 | 26 | 67 | 56 | 35 |
| 6 | 26 | 52 | 64 | 52 | 59 | 34 |
| 7 | 38 | 32 | 82 | 53 | 37 | 44 |
| 8 | 32 | 53 | 41 | 42 | 41 | 44 |
| 9 | 39 | 76 | 30 | 53 | 44 | 42 |
| 10 | 28 | 61 | 75 | 35 | 39 | 48 |
| 11 | 29 | 32 | 74 | 52 | 55 | 53 |
| 12 | 23 | 39 | 81 | 21 | 50 | 52 |
| Média | 27,7 | 47,8 | 58,6 | 50,9 | 48,5 | 42,6 |
| Desvio | 8,2 | 11,8 | 26,9 | 12,8 | 8,8 | 7,8 |

Embora não haja diferença significativa entre os tratamentos com diferentes doses de lodo primário e com o controle terra fertilizada. O número de folhas dos tratamentos são superiores apenas do controle terra adubada, exceto tratamento 4N (Teste de Fisher, $P < 0,01$) Figura 14.

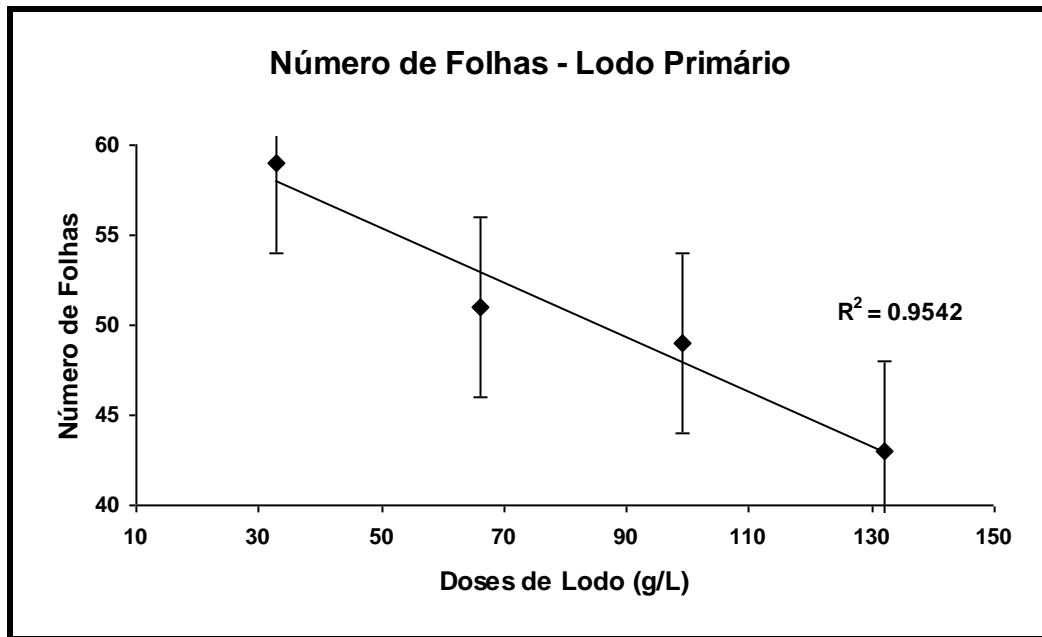


Figura 13: Gráfico – Número de folhas da alface suplementada com lodo primário

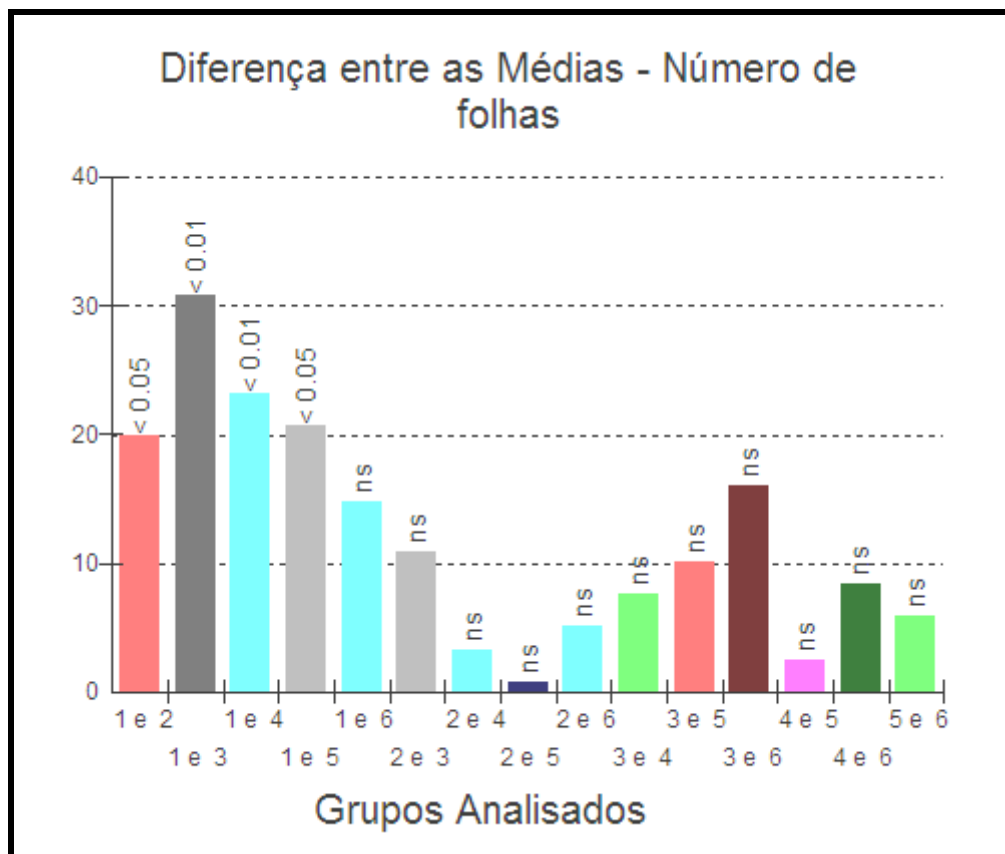


Figura 14 - Gráfico – Comparação entre Médias do Número de folhas

4.8.1.2 Comparação da Matéria Fresca Lodo Primário

Apesar da correlação positiva ($R^2 = 0,3571$, $p = 0,4023$) a matéria fresca diminui com o aumento das doses de lodo primário como mostram a Tabela 13 e Figura 15. Todos os tratamentos diferem significativamente do controle terra adubada exceto 4N. Todos os tratamentos têm média significativamente inferior ao controle terra fertilizada, sendo os tratamentos 2N e 3N que apresentam as maiores médias Figura 16 (teste F, $P < 0,01$).

Tabela 13: Comparação da matéria fresca parte aérea/vaso entre controle e tratamentos

| Amostras | Solo | | Solo + Lodo | | | |
|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Adub. | Fert. | 1N | 2N | 3N | 4N |
| 1 | 2,44 | 8,41 | 4,07 | 8,90 | 7,56 | 2,68 |
| 2 | 1,52 | 9,09 | 4,27 | 8,29 | 5,43 | 1,72 |
| 3 | 2,21 | 6,98 | 8,12 | 8,12 | 7,12 | 2,27 |
| 4 | 2,81 | 11,22 | 6,01 | 7,46 | 6,01 | 2,94 |
| 5 | 2,51 | 9,47 | 2,55 | 7,23 | 7,92 | 2,95 |
| 6 | 2,47 | 6,93 | 6,20 | 5,92 | 5,23 | 2,14 |
| 7 | 2,54 | 9,13 | 7,30 | 8,18 | 5,47 | 2,96 |
| 8 | 2,45 | 12,00 | 4,02 | 5,64 | 5,69 | 2,74 |
| 9 | 3,02 | 11,54 | 1,79 | 8,64 | 7,88 | 1,93 |
| 10 | 3,83 | 10,87 | 4,75 | 5,69 | 6,05 | 2,46 |
| 11 | 2,37 | 7,96 | 4,70 | 6,26 | 5,51 | 4,11 |
| 12 | 2,05 | 8,25 | 6,37 | 6,31 | 6,07 | 3,07 |
| Média | 2,52 | 9,32 | 5,01 | 7,22 | 6,32 | 2,66 |
| Desvio | 0,55 | 1,74 | 1,86 | 1,21 | 1,01 | 0,63 |

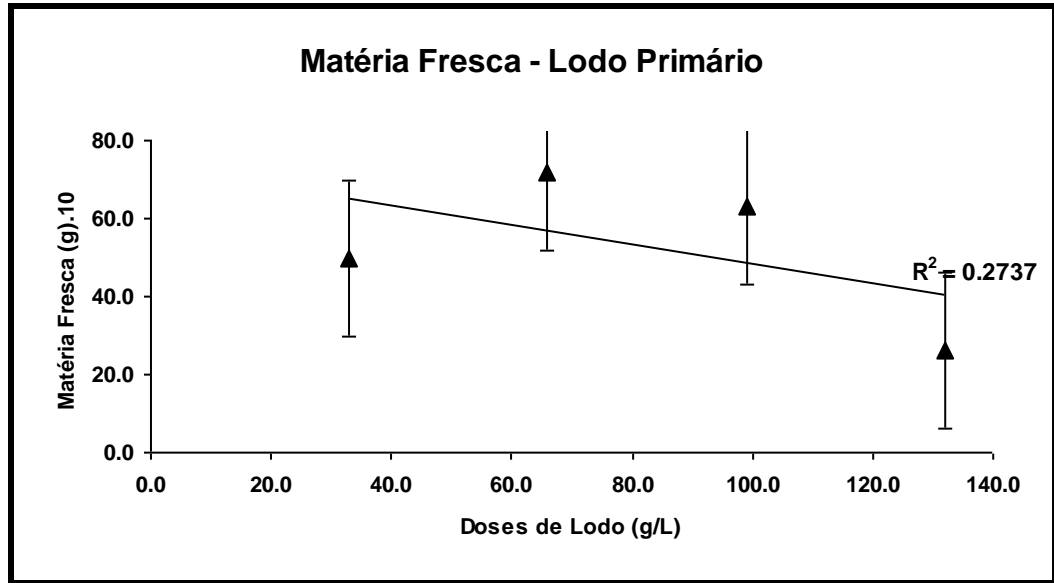


Figura 15: Matéria fresca da alface suplementada com lodo primário

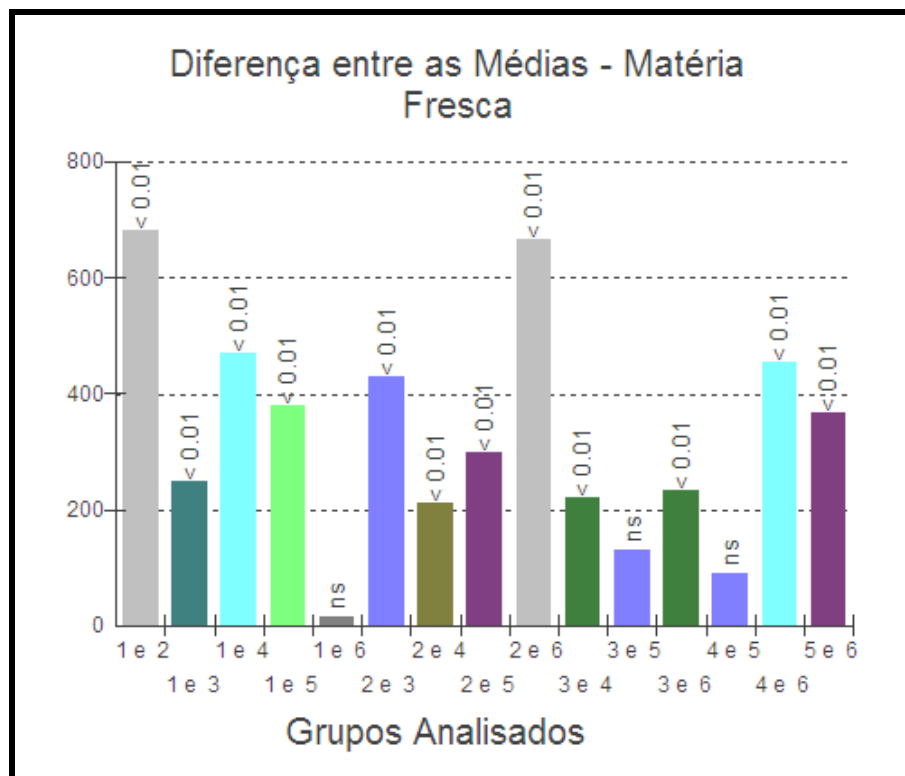


Figura 16: Gráfico – Diferença entre médias – Matéria Fresca

4.8.1.3 Comparação da Matéria Seca Lodo Primário

Com relação à matéria seca da parte aérea suplementada com lodo primário pode-se observar que há uma diminuição com o aumento das doses de lodo Tabela 14 e Figura 17. Todos os tratamentos têm médias significativamente inferiores ao controle terra fertilizada. Os tratamentos 2N e 3N têm médias superiores ao controle terra adubada. Não há diferença significativa entre tratamentos, exceto 4N, cuja média é inferior (teste F, $P < 0,01$) Fig. 18. O aumento da produção da matéria seca era esperado (NASCIMENTO e *col.* 2004), o que não ocorreu neste estudo, com correlação positiva ($R^2 = 0,3054$, $p = 0,4474$) verifica-se diminuição da matéria seca com doses crescentes de lodo primário Fig. 17. No entanto comparando a produção obtida com a fertilização mineral completa, respectivamente, com os tratamentos 2N e 3N, verifica-se que a produção de matéria seca pode ser aumentada pela suplementação com fertilizantes minerais (NASCIMENTO e *col.*, 2004).

Tabela 14: Comparação da matéria seca da parte aérea/vaso(g) entre controle e tratamentos

| Amostras | Solo | | Solo + Lodo | | | |
|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Adub. | Fert. | 1N | 2N | 3N | 4N |
| 1 | 0,24 | 0,65 | 0,26 | 0,50 | 0,53 | 0,22 |
| 2 | 0,18 | 0,74 | 0,32 | 0,50 | 0,35 | 0,18 |
| 3 | 0,21 | 0,55 | 0,56 | 0,56 | 0,48 | 0,17 |
| 4 | 0,30 | 0,81 | 0,43 | 0,53 | 0,41 | 0,27 |
| 5 | 0,26 | 0,70 | 0,18 | 0,44 | 0,52 | 0,23 |
| 6 | 0,26 | 0,48 | 0,50 | 0,36 | 0,34 | 0,21 |
| 7 | 0,20 | 0,68 | 0,45 | 0,55 | 0,35 | 0,29 |
| 8 | 0,25 | 0,91 | 0,31 | 0,35 | 0,38 | 0,21 |
| 9 | 0,37 | 0,93 | 0,15 | 0,53 | 0,58 | 0,15 |
| 10 | 0,40 | 0,78 | 0,36 | 0,36 | 0,40 | 0,28 |
| 11 | 0,27 | 0,69 | 0,38 | 0,43 | 0,36 | 0,37 |
| 12 | 0,21 | 0,66 | 0,48 | 0,42 | 0,37 | 0,20 |
| Média | 0,26 | 0,71 | 0,36 | 0,46 | 0,42 | 0,23 |
| Desvio | 0,07 | 0,13 | 0,13 | 0,08 | 0,08 | 0,06 |

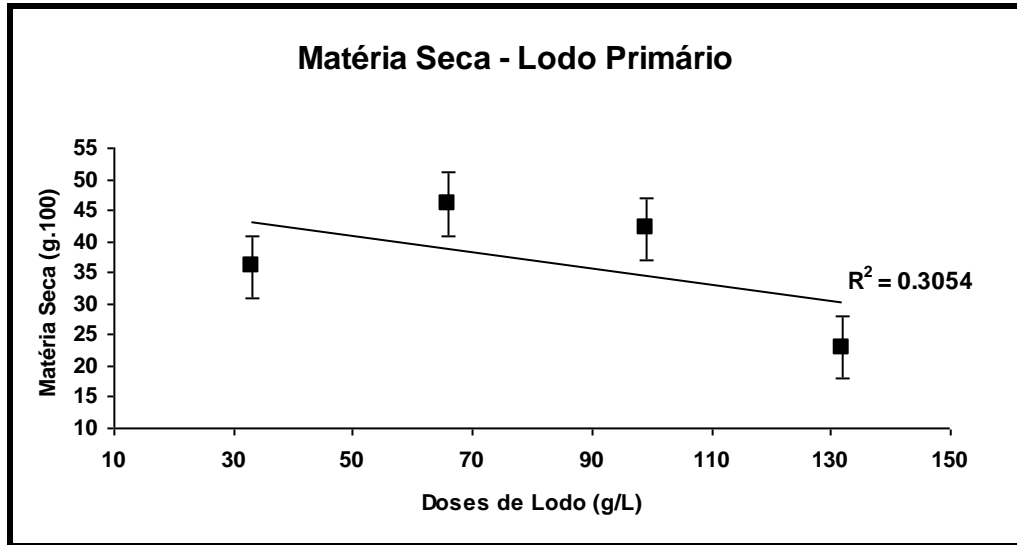


Figura 17: Matéria seca da alface suplementada com lodo primário

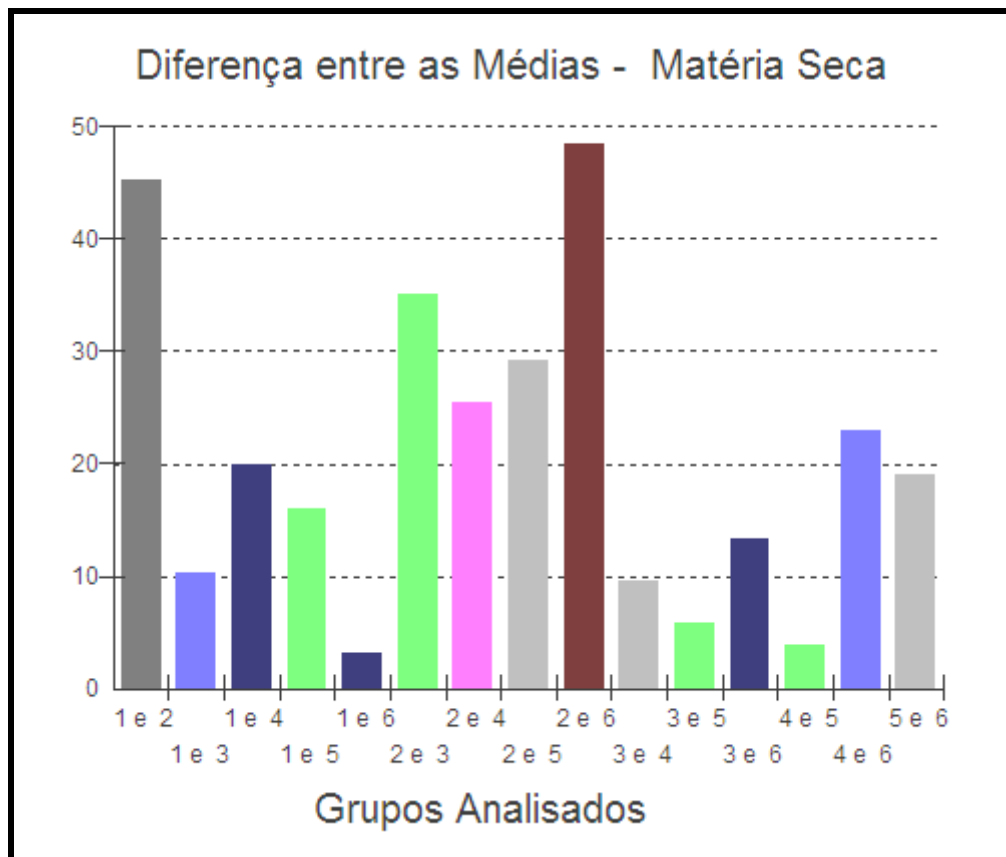


Figura 18: Comparação entre médias matéria seca lodo primário.

Apesar dos resultados do número de folhas, matéria fresca e matéria seca da alface suplementada com doses crescentes de lodo primário indicar uma correlação positiva diminuem com o aumento das doses (Fig. 19). Isto demonstra que a

aplicação de maiores quantidades de lodo primário não implica em proporcional aumento ou disponibilidade de nitrogênio para a cultura (VIEIRA, 2004), o que poderia causar uma diminuição na fotossíntese e menor crescimento (LOPES, 2005).

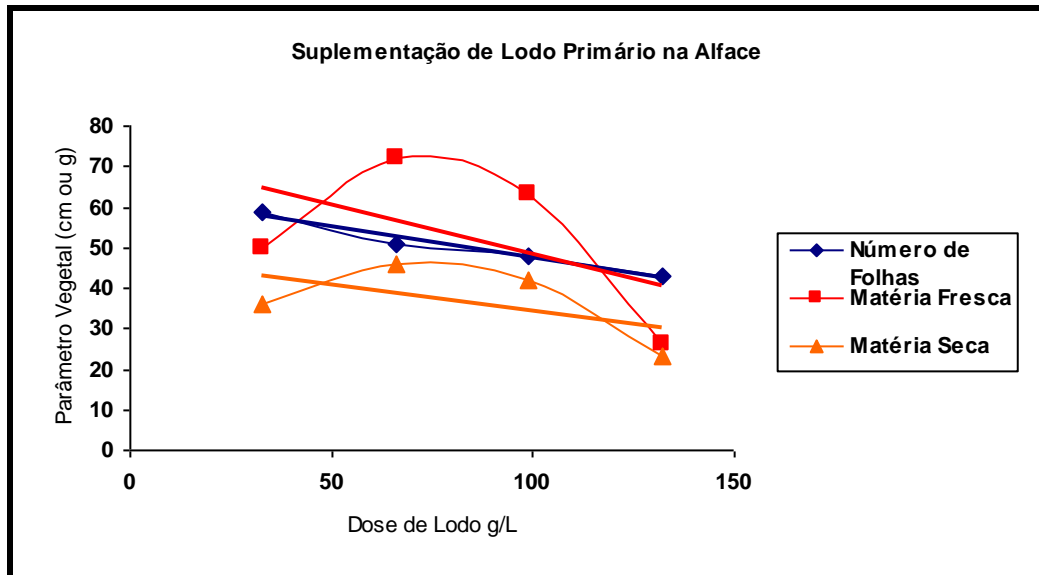


Figura 19: Valores de altura (cm) massa fresca e massa seca da parte área da alface.

4.7.2 Resultado da Aplicação de Lodo Secundário no cultivo de Alface

Todos os tratamentos germinaram entre 4 e 5 dias após o plantio Fig. 20. Após período de 14 dias, como forma de acompanhamento, foi notado que todas as mudas dos tratamentos apresentaram-se maiores e mais viçosas quando comparadas com o plantio de referência com terra fertilizada (não mostrado).

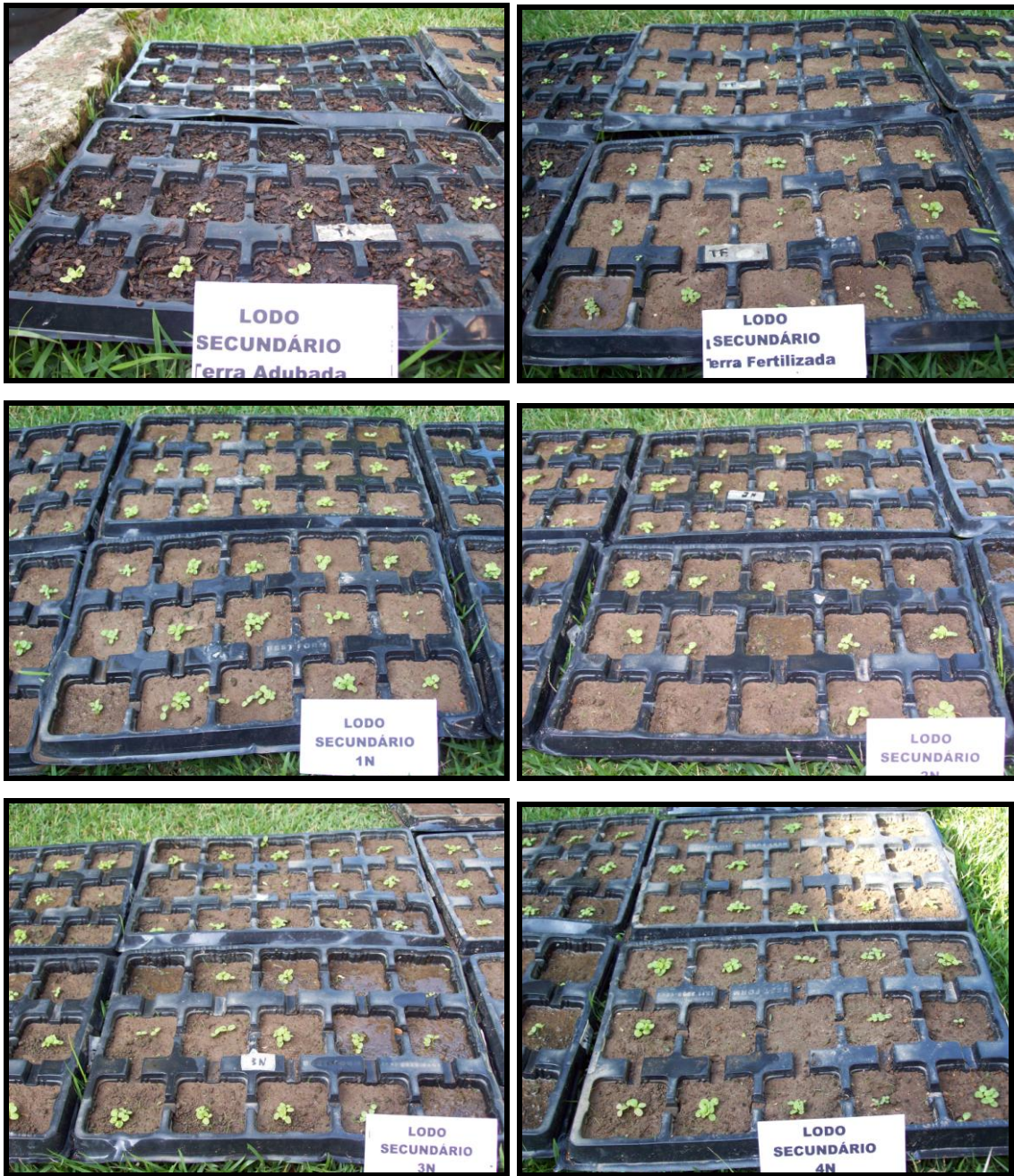


Figura 20: Germinação da alface (*Alface - sativa L.*) suplementada com doses crescentes de lodo secundário após 7 dias: 1 terra adubada; 2 terra fertilizada; 3 tratamento **1N** (45,8 g/L), 4 tratamento **2N** (91,6 g/L); 5 tratamento **3N** (137,4 g/L); 6 tratamento **4N**(183,2 g/L).



Figura 21: Plantio da alface (*Alface Mimosa Salad Bowl - sativa L.*) com doses crescentes de lodo secundário após 60 dias de cultivo: 1 terra fertilizada; 2 tratamento 1N; 3 tratamento 2N; 4 tratamento 3N; 5 tratamento 4N.



Figura 22: Plantio da alface (*Alface Mimosa Salad Bowl - sativa L.*) com doses crescentes de lodo secundário após 60 dias de cultivo: 1 terra fertilizada; 2 tratamento 1N; 3 tratamento 2N; 4 tratamento 3N; 5 tratamento 4N.



Figura 23: Plantio da alface (*Alface Mimosa Salad Bowl - sativa L.*) com doses crescentes de lodo secundário após 60 dias de cultivo: Comparação entre Tratamentos.

Como demonstrado na figura 21, figura 22 e figura 23, após um período de 60 dias do plantio com solo suplementado com doses crescentes de lodo secundário, são possíveis visualizar que todos os tratamentos e as referências apresentam um aspecto muito viçoso, sendo os tratamentos 1N e 2N apresenta semelhantes aspectos com a referência terra fertilizada e um aspecto inferior quando comparado com a 3N e 4N.

4.7.2.1 Comparação do Número de Folhas Lodo Secundário

O número de folhas tende a aumentar com o aumento da concentração de lodo secundário Tabela 15, com correlação positiva ($R^2=0,8429$ e $p= 0,0278$) Fig. 24. Não há diferença significativa entre as médias dos tratamentos com diferentes doses de lodo secundário e com o controle terra fertilizada Fig.25 (Teste de Fisher, $P< 0,01$).

Tabela 15: Comparação do nº de folhas entre controle e tratamentos

| Amostras | Solo | (Solo + Lodo) | | | | |
|---------------|-------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Fert | 0N | 1N | 2N | 3N | 4N |
| 1 | 33 | 24 | 22 | 42 | 27 | 41 |
| 2 | 29 | 37 | 33 | 37 | 37 | 40 |
| 3 | 30 | 29 | 34 | 39 | 32 | 40 |
| 4 | 37 | 20 | 37 | 28 | 37 | 25 |
| 5 | 46 | 27 | 27 | 45 | 43 | 45 |
| 6 | 22 | 20 | 49 | 19 | 38 | 38 |
| 7 | 37 | 21 | 38 | 40 | 29 | 27 |
| 8 | 46 | 26 | 35 | 42 | 36 | 38 |
| 9 | 36 | 20 | 31 | 31 | 50 | 60 |
| 10 | 31 | 23 | 36 | 36 | 43 | 50 |
| 11 | 49 | 39 | 36 | 51 | 43 | 36 |
| 12 | 48 | 24 | 40 | 24 | 37 | 41 |
| Média | 37,0 | 25,8 | 34,8 | 36,2 | 37,7 | 40,1 |
| Desvio | 8,62 | 6,39 | 6,67 | 9,17 | 6,50 | 9,26 |

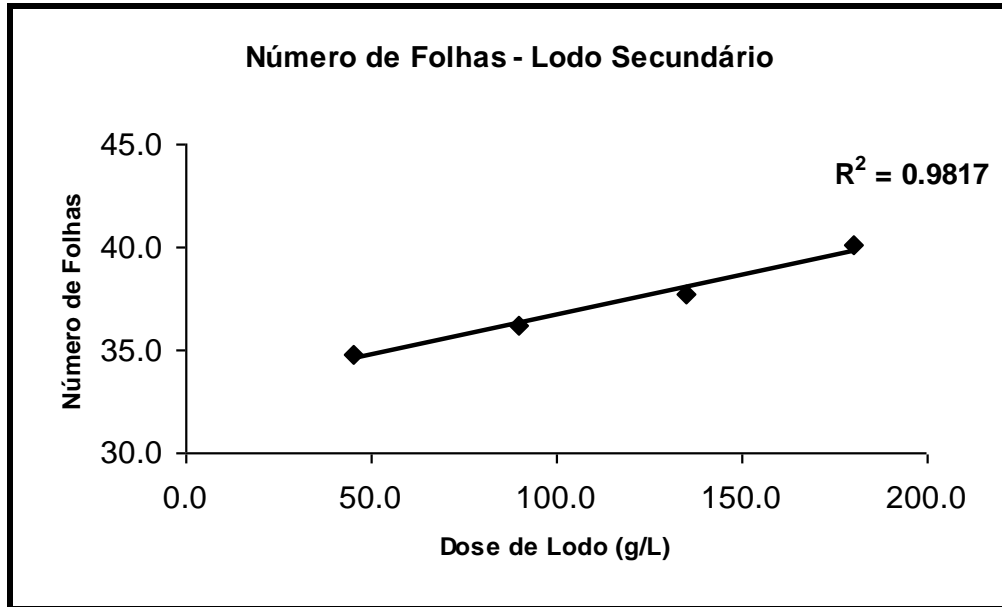


Figura 24: Número de folhas da alface suplementada com lodo 2º

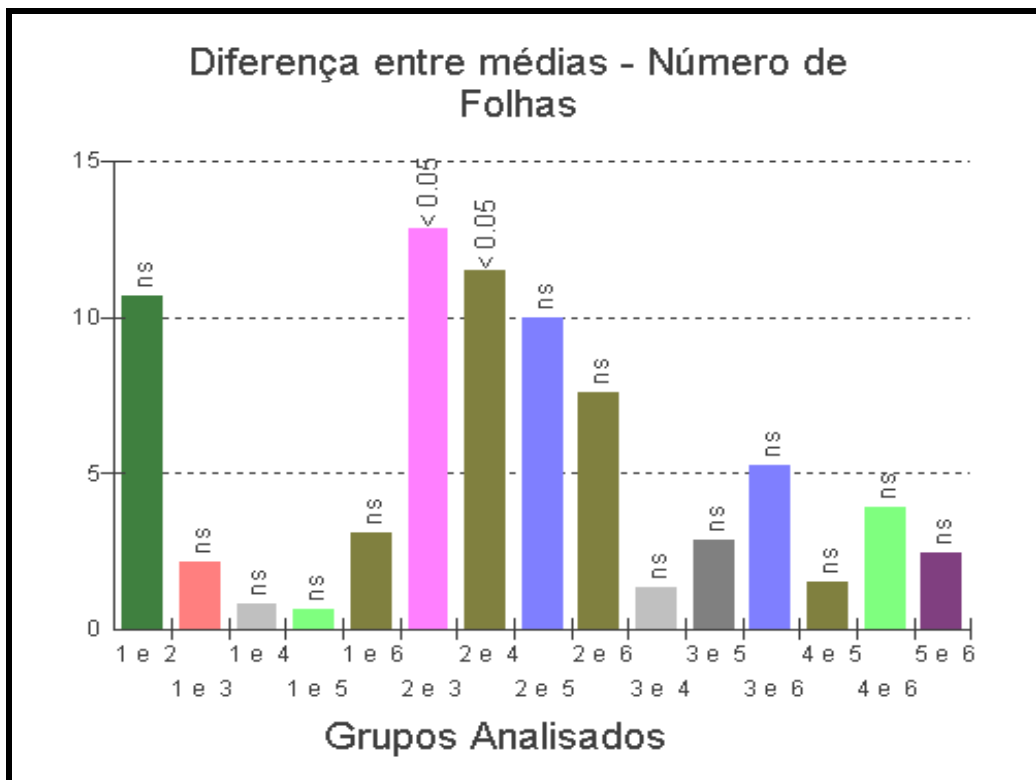


Figura 25 - Comparação entre Médias do Número de folhas – Lodo 2º

4.7.2.2 Comparação da Matéria Fresca Lodo Secundário

Com correlação positiva ($R^2 = 0,3034$, $p = 0,3359$) a matéria fresca diminui com o aumento das doses de lodo secundário Tabela 16 e Figura 26. Os tratamentos 1N, 2N e 3N não têm médias significativamente diferentes, ao controle terra fertilizada, sendo apenas o tratamento 4N que apresenta média inferior à referência terra fertilizada Figura 27 (teste F, $P < 0,01$).

Tabela 16: Comparação da matéria fresca parte aérea/vaso (g) entre controle e tratamentos.

| Amostras | Solo | (Solo + Lodo) | | | | |
|---------------|-------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Fert | 0N | 1N | 2N | 3N | 4N |
| 1 | 18,0 | 6,5 | 12,1 | 26,4 | 17,1 | 19,7 |
| 2 | 12,0 | 4,2 | 19,3 | 25,9 | 15,9 | 23,5 |
| 3 | 23,9 | 4,7 | 15,0 | 25,9 | 19,2 | 14,9 |
| 4 | 20,6 | 3,2 | 16,0 | 16,8 | 21,1 | 15,5 |
| 5 | 34,1 | 3,4 | 22,4 | 19,9 | 20,5 | 17,7 |
| 6 | 11,7 | 3,3 | 22,1 | 19,8 | 22,8 | 18,2 |
| 7 | 30,3 | 1,9 | 29,8 | 25,0 | 21,4 | 16,0 |
| 8 | 47,2 | 2,6 | 19,2 | 18,3 | 19,4 | 12,0 |
| 9 | 11,0 | 2,5 | 19,5 | 21,0 | 16,2 | 17,3 |
| 10 | 19,4 | 2,5 | 18,8 | 26,4 | 19,3 | 16,5 |
| 11 | 29,8 | 2,4 | 14,3 | 26,4 | 22,4 | 16,4 |
| 12 | 48,2 | 4,2 | 22,0 | 16,9 | 19,7 | 16,0 |
| Média | 25,5 | 3,5 | 19,2 | 22,4 | 19,6 | 17,0 |
| Desvio | 12,8 | 1,3 | 4,7 | 4,0 | 2,3 | 2,8 |

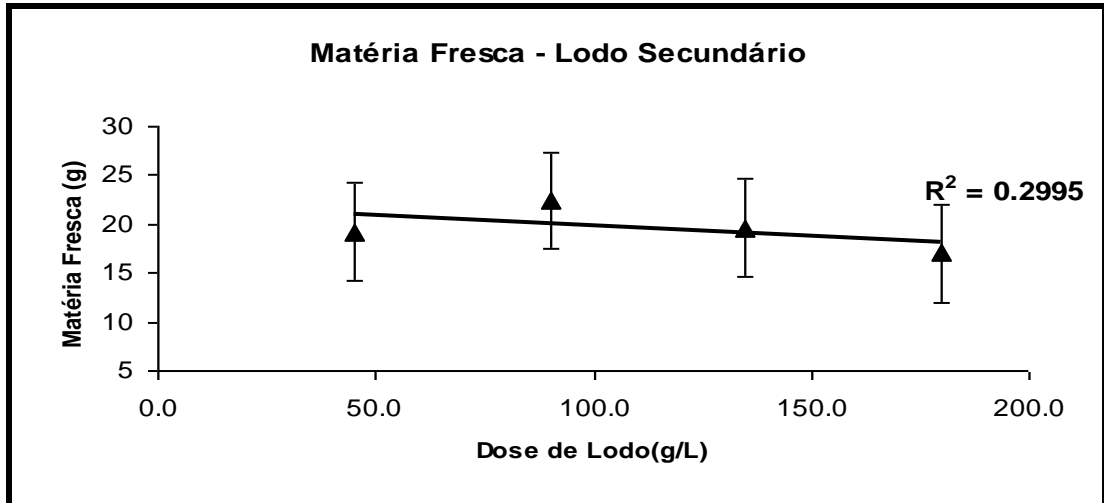


Figura 26: Matéria fresca da parte área da alface suplementada com lodo secundário.

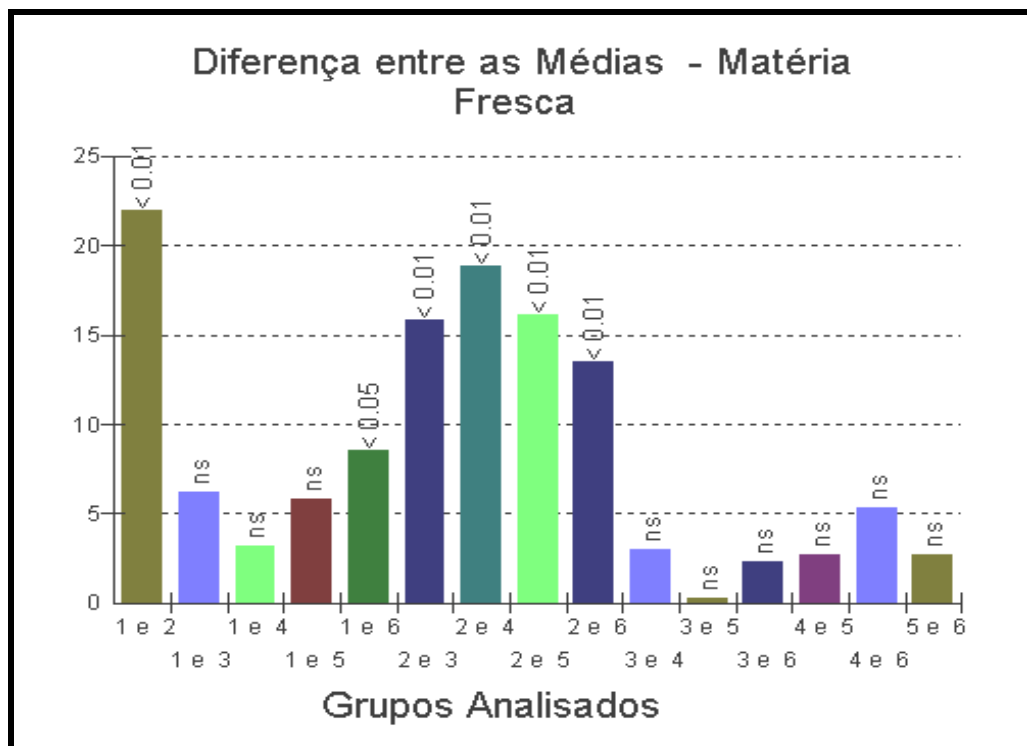


Figura 27: Gráfico – Diferença entre médias – Matéria Fresca/Lodo secundário

4.7.2.3 Comparação da Matéria Seca Lodo Secundário

Com correlação positiva ($R^2 = 0,3661$, $p = 0,2796$) a matéria seca diminui com o aumento das doses de lodo secundário Tabela 17 e Figura 28. Todos os tratamentos apresentam médias inferiores à referência terra fertilizada, estas não são significativas, exceto tratamento 4N que apresentou média significativamente inferior (teste F, $P < 0,05$) Fig. 29.

Tabela 17: Comparação da matéria seca parte aérea/vaso (g) entre controle e tratamentos

| Amostras | Solo | (Solo + Lodo) | | | | |
|---------------|-------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Fert | 0N | 1N | 2N | 3N | 4N |
| 1 | 1,32 | 0,70 | 1,18 | 1,96 | 1,45 | 1,60 |
| 2 | 1,23 | 0,55 | 1,41 | 2,08 | 1,25 | 2,19 |
| 3 | 2,23 | 0,55 | 1,39 | 2,14 | 1,90 | 1,31 |
| 4 | 1,62 | 0,40 | 1,19 | 1,64 | 1,93 | 1,31 |
| 5 | 2,88 | 0,37 | 1,77 | 1,85 | 1,84 | 1,34 |
| 6 | 0,98 | 0,35 | 1,62 | 1,52 | 1,94 | 1,46 |
| 7 | 1,96 | 0,25 | 2,31 | 2,17 | 1,80 | 1,27 |
| 8 | 3,94 | 0,26 | 1,49 | 1,62 | 1,79 | 1,19 |
| 9 | 0,95 | 0,26 | 1,50 | 1,78 | 1,65 | 1,27 |
| 10 | 1,19 | 0,34 | 1,32 | 1,88 | 1,59 | 1,27 |
| 11 | 2,27 | 0,26 | 1,17 | 2,45 | 1,92 | 1,43 |
| 12 | 3,28 | 0,42 | 1,85 | 1,56 | 1,75 | 1,34 |
| Média | 1,99 | 0,39 | 1,52 | 1,89 | 1,73 | 1,41 |
| Desvio | 0,97 | 0,14 | 0,33 | 0,28 | 0,21 | 0,27 |

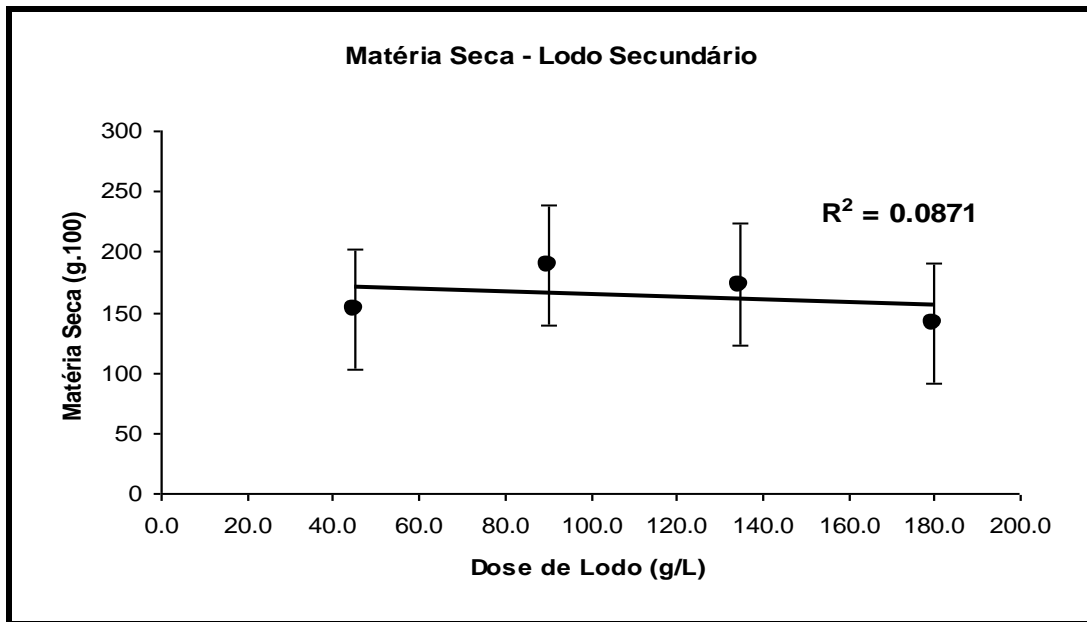


Figura 28: Matéria seca da parte aérea da alface suplementada com Lodo Secundário

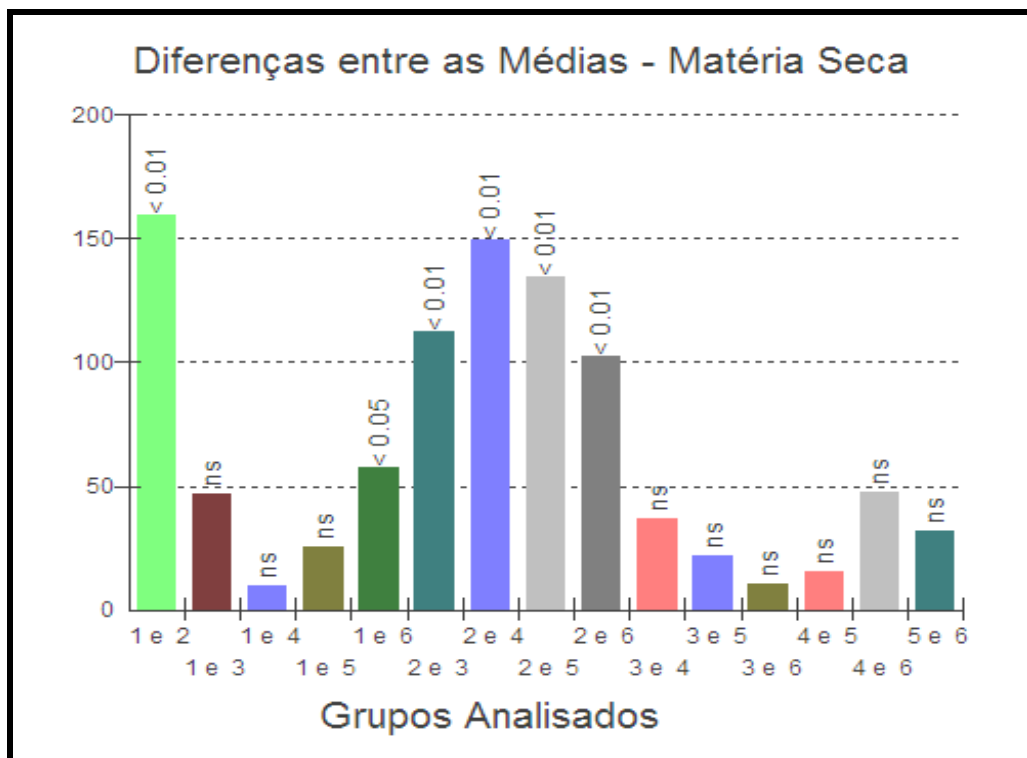


Figura 29: Gráfico - Comparação entre médias da matéria seca lodo secundário.

Observa-se no plantio da alface suplementada com doses crescentes de lodo secundário (Fig. 30) uma tendência semelhante aos resultados obtidos com o plantio da alface suplementada com lodo primário, já discutido no item 4.7.1.

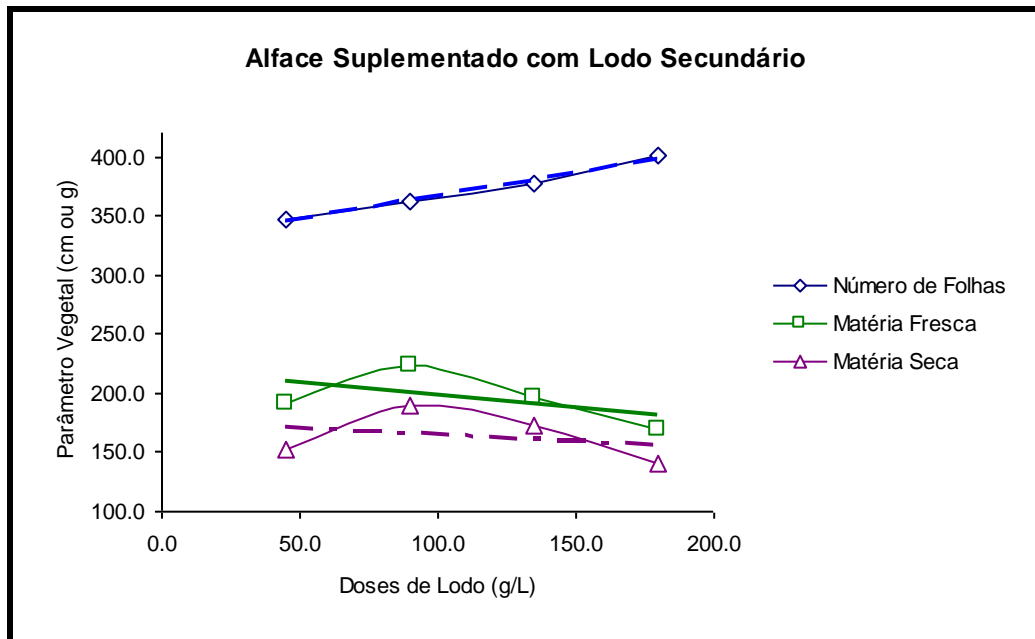


Figura 30: Alface suplementada com Lodo Secundário.

4.8 Toxicidade

A toxicidade dos lodos estudados pré-tratados com enzimas, se mostrou pouco tóxico, exceto as altas concentrações do lodo com respeito ao fertilizante. Como já visto na figura 19 e figura 30, a alface é um biomonitor de contaminação ambiental. A alta condutividade elétrica, o pH e as altas concentrações de metais presentes nas doses mais elevadas de lodo prejudicaram o desenvolvimento e causaram toxicidade às plantas (LOPES, 2004), logo, se fez desnecessário realizar experiências com *Artemia Salina* como disposto no projeto original.

5 CONCLUSÃO E SUGESTÕES

Os resultados obtidos confirmam a potencialidade de reduzir volume de lodo biológico, utilizando enzimas industriais. Principalmente para lodo primário utilizando celulase, os resultados mostram-se promissores na redução de volume de lodos e /ou eliminação de água devendo ser aplicado antes dos processos convencionais. Segundo Parmar et al (2001) o ajuste de pH melhora o processo de redução de volume em lodo biológico, mas esta variável precisa ser mais bem estudada, uma vez que o lodo utilizado tem origem na indústria papelreira. Quanto ao fato do sistema ser aberto versus fechado é conclusivo que o sistema fechado se mostrou mais eficiente.

A consistência dos resultados torna este trabalho bastante promissor, sendo necessário realizar ainda alguns testes com lodo e enzimas, variando o pH, tamponando o meio, alterando temperatura e concentrações de enzimas. Os outros parâmetros que foram estudados são os teores de metais, compostos orgânicos e quantidade de teor de água eliminada após tratamento enzimático. Uma redução substancial na concentração de metais e na concentração de fenol foi observada tornando o tratamento enzimático uma alternativa para estes fins, mas gerando uma contaminação secundária em material solubilizado, a baixa toxicidade também foi observada em lodo tratado.

A disposição final do lodo como suplemento agrícola também se mostrou muito promissor, podendo ser utilizado como fertilizante agrícola desde que se enquadre nas normas técnicas para aplicação em solo. Pode-se estimar que a ação enzimática da comunidade microbiana em solo suplementado com lodo pode com o tempo liberar metais pesados ligados as macromoléculas contaminando o solo.

REFERÊNCIAS

APHA, **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater** , N^o 5310 B 5-11, 18 ed. New York: American Public Health Association.(1992). (COT)

APHA, **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater** , N^o 5220 C, 5-12, 18 ed. New York: American Public Health Association. 1995.(DQO)

APHA, **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, N^o 5550 B 5-41, 19^a Ed. New York: American Public Health Association. 1995. (Fenóis)

ANJOS, A.R.M. and MATTIAZO, M.E. . Extratores para Cd, Cu, Cr, Mn, Pb e Zn em Latossolos tratados com bio sólido e cultivado com milho. **Scientia Agricola**, v. 58, p. 337-334. 2001.

BEN-REBAH, F., PREVOST, D. and TYAGI, R.D.. Growth of alfalfa in sludge-amended soils and inoculated with rhizobia produced in sludge. **J. Environ. Qual.**, v. 31, p. 1339-1348. 2002a.

BEN-REBAH, F., TYAGI, R.D., Prevost, D. and Surampalli, R.Y. Wastewater sludge as a new medium for rhizobial growth. **Wat. Qual. Res. J. Can.**, v. 37, p. 353-370. 2002b.

BETTIOL W. e FERNANDES S. A. P.. Efeito do Lodo de Esgoto na Comunidade Microbiana e Atributos Químicos do Solo. **EMBRAPA**, Comunicado Técnico n^o 24. 2004.

BISARIA, V.S. and GHOSE, T.K. Biodegradation of cellulosic materials: substrate, microorganisms, enzymes and products. **Enzyme Microb Technol, Surrey**, v.3, p. 90-104. 1990.

BOEIRA, R.C., MAXIMILIANO, V.C.B.. Determinação da fração de mineralização de nitrogênio de lodos de esgoto: Um método alternativo, **EMBRAPA**, Comunicado técnico n^o 13. 2004.

BOEIRA, R.C.. Uso de Lodo de Esgoto como Fertilizante Orgânico: Disponibilização de Nitrogênio em Solo Tropical. **EMBRAPA**, Comunicado técnico n^o 12. 2004.

CADORET, A., CONRAD, A., BLOCK, J.C.. Availability of low and high molecular weight substrates to extracellular enzymes in whole and dispersed activated sludges. **Enzyme and Microb. Technol.**, v. 31, p. 179-186. 2002

CAMPOS, Anderson Hida. **Secagem térmica de biossólidos (pellets) e suas aplicações**. 160f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade de Mogi das Cruzes, Mogi das Cruzes. 2005.

CETESB. MÉTEDO CETESB, **Método de membrana filtrante. NT L5.214.**

COGLIASTRO, A., DOMON, G., DAIGLE, S.. Effects of waterwater sludge and woodchip combinations on soil properties and growth of planted hardwood trees and willows on restored site, **Ecological Engineering**, v.16, p. 471-485. 2001.

CURVERS, D., USHER, S.P., KILEULLEN, A.R., SCALES, P.J., SAVEYN, I, MEEREN, P.V.. The influence of ionic strength and osmotic pressure on the dewatering behaviour of sewage sludge. *Chemical Eng. Science*. 2009. Disponível em: <http://www.elsevier.co./locate/ces/>. Acesso em: 18 março 2009.

DIGNAC, M.-F., URBAIN, V., RYBACKI, D., BRUCHET, A., SNIDARO, D. and SCRIBE, P.. Chemical description of extracellular polymers: Implication on activated sludge floc structure. **Wat. Sci. Technol.**, v. 38, p. 45-53. 1998.

DOSORETZ, C.G. CHEN H-C and GRETHLEIN H. E.. Effect of environmental conditions on extra cellular protease activity in lignolytic cultures of *Phanerochaete Chrysosporium*. **Microbiology**, v. 56, p. 395 – 400. 1990.

EMBRAPA Meio Ambiente. Utilização agrícola de lodo de esgoto como fertilizante. 2002^a. Disponível em: <<http://www.unilivre.org.br/centro/experiencias/experienciasd/015.html>>. Acesso em: 9 setembro 2008.

EMBRAPA Meio Ambiente. Lodo de esgoto se transforma em excelente adubo na agricultura. 2002^b. Disponível em: http://www.tulha.com.br/meio_ambiente_ecologia/lodo_esgoto_de_esgoto.htm. Acesso em: 9 setembro 2008.

FRIEDRICH, I., MEUSEL, W. and WEISE, M.. Enzymatic aerobic stabilization of activated sludge, by circulating through zones with differing oxygen concentration using catalytic enzymes and chelating, for microorganism metabolic stimulation. German Patent. DD294236-A.1992. **Derwent Number. 1992-06529 [09]**.

FROLUND, B., PALNGREN, R., KEIDING, K. and NIELSEN, P.H.. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using cation exchange resin. **Wat. Res.**, v. 30, p. 1749-1758. 1996.

GRIFFITH, J.W. and Raymond, D.H.. The first commercial supercritical water oxidation sludge processing plant. **Waste Management**, v. 22, p. 453-459. 2002

HAKULINEN, R.. The use of enzymes for wastewater treatment in the pulp and paper industry: A new possibility. **Wat. Sci. Technol.**, v. 20, p. 251-262. 1988.

HASEGAWA, S., AKASHI, A., FUKUI, T., KATSURA, K. and MIURA, M.. Sludge reduction in aerobic wastewater treatment system. **Eur. Patent EP924168-A1**.1999. Derwent Number 1999-339903 [29].

HASEGAWA, S.. Decomposition of biological waste sludge by thermophilic bacteria: The S-TE process (solubilization by thermophilic enzymes). **Kami Pa Gikyoshi 55, 1129-1135**. Chem. Abstr. 135, 322277 .2001.

HATANAKA, K.. Slime hydrolase producing bacterium, useful in e.g. prevention of slime in industrial water waste treatment, prevention of sludge bulking bath tubs and preserving food. **Eur Patent WO9604370-A1**.1996. Derwent Number 1996-129387 [13].

IBUKI, M. . Organic sludge treatment. Jpn. **Kokkai Tokkyo Koho JP 2000167596 A2** Chem. Abstr. 133, 34076. 2000.

JUNGSCHAFT, G., REINER, R., SPROSSLER, B. and SCORDIALO, A.. Improving dewatering time of biological clarification sludge-by successive treatment with hydrolytic enzyme preparation and synthetic flocculating agent. **DE3713739-A**. 1988. Derwent Number: 1988-330763 [47].

KAPANEN, A. and ITAVAARA, M.. Ecotoxicity tests for compost applications. **Ecotoxicol. Environ. Safety**, v. 49, p. 1-16. 2001.

KENNY, R., ALMOST, S., COGHILL, R., EASTON, C. and OSTERBERG, E.. CPPA International review of pulp and paper activated sludge dewatering practices. **Pulp Paper Can.**, v. 98, p. 50-54. 1997.

LANDENDORF, W. and LADENDORF, W.F.. Removal of heavy metals from sludges-by treating with chelating agent, enzymes and hydraulic binder. **DE3545321-A** .1987. Derwent Number: 1987-178662 [26].

LEE, D.J. and MULLER, J.A.. Preliminary treatments (of sludge). Sludge into Biosolids, **Edited by Spinosa, L. and Vesilind, P.A. IWA Publ. London, UK.** 191-205. 2001.

LEE, D.J. and WANG, C.H.. Theories of cake filtration and consolidation and implications sludge dewatering. **Water Res.**, v. 34, p. 1-20. 2000.

LENNART, G. and WORNER, H.E.. Biological sludge-energy recycling method. **US Patent 4,267,049.** 1981.

LIU, Y. and TAY, J.-H.. Strategy for minimization of excess sludge production from the activated sludge process. **Biotechnol. Adan.**, v. 19, p. 97-107. 2001.

LOPES, L.F., COSTA, A. C. S., D'OLIVEIRA, P. S., GIL L. G.. Utilização agrícola de lodo industrial como fonte de zinco na cultura do crisântemo. **Hortic. Brás.**, v. 22, n. 3, p. 620 – 623. 2004.

LOPES, J.C., RIBEIRO, L.G., ARAÚJO, M.G., BERALDO, M.R.B.S.. Produção de alface com doses de lodo de esgoto. **Hortic. Bras.**, v 23, n. 1, p. 143-147. 2005.

MCLAUGHLIN J.L., COLMAN-SAIZARBITORIA, T. and ANDERSON, J.E.. Tres bioensayos simples para químicos de productos naturales. *Rev. Soc. Venezolana Quim.*, v. 18, p. 13-18. 1995.

MAJONE, M., DICKS, K. and BEUN, J.J.. Aerobic storage under dynamic conditions in activated sludge processes. The state of art. **Wat. Sci. Technol.**, v. 39, p. 61-73. 1999.

MANDELS, M., ANDREOTTI, R., and ROCHE, C.. Measurement of saccharifying cellulose. **Biotechnology. Bioeng.**, v. 6, p. 21-33. 1976.

MAYNARD, A.A.. Utilization of MSW compost in nursery stock production. **Compost Sci. Util.**, v. 6, p. 38-44. 1998.

NASCIMENTO, C.W.A., BARROS, D.A.S., MELO, E.E.C., OLIVEIRA, A.B.. Alterações Químicas em Solos e Crescimento de Milho e Feijoeiro após Aplicação de Lodo de esgoto. **Rev. Bras. Ci. Solo**, v. 28, p. 385-392.

NOVAK, J. T., SADLER, M.E., MURTHY S. N.. Mechanisms of floc destruction during anaerobic and aerobic digestion and the effect on conditioning and dewatering of biosolids. **Water Res.**, v. 37, p. 3136-3144.

O'BRIEN, T.A., HARBERT, S.J. and BARKER, A.V. . Growth of corn in varying mixtures of paper mill sludge and soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, v. 33, p. 635-646. 2002.

OHSUMI, S.. System and method for organic sludge treatment. Jpn. Kokkai Tokkyo Koho JP 20001025799 A2 .**Chem. Abstr.** 134, 120275. 2001.

OZORES-HAMPTON, M. and PEACH, D.R.A.. Biosolids in vegetable production systems. **Horttechnology**, v. 12, p. 336-340. 2002.

PARAIBA L.C., BOEIRA R.C., JONSSON C.M.. Fator de Bioconcentração de Poluentes de Lodo em Laranjeiras. **EMBRAPA**, Comunicado técnico nº 43. 2007.

PARMAR, N., SINGH, A. and WARD, O.P.. Enzyme treatment to reduce solids and improve settling of sewage sludge. **J. Ind. Microb. Biotechnology**, v.26, p.383-386. 2001.

RANTALA, P.R., VAAJASAARI, K., JUVONEN, R., SCHULTZ, E., JOUTTI, A. and MAKELA-KURTTO, R.. Composting of forest industry wastewater sludges for agricultural use. **In The 6th. IAWQ Symp. on Forest Ind. Wastewater, June. IAWQ Spec. Group Pulp Paper Ind. Wastewater Treatment and Environmental Effects; Finland, Tapere.** 1999.

RICHTER C.A.. **Tratamento de Lodos de Estações de Tratamento de Água.** São Paulo. Edgard Blucher, 2001. 8p.

ROCHA R.E.M., PIMENTEL M.S., ZAGO V.C.P., RUMJANEK N.G., DE-POLLI H.. Avaliação de biossólidos de águas servidas domiciliares como adubo em couve. **Pesq. Agrop. Bras.**, v. 38, n. 12, p. 1435 – 1441.

SAKAI, Y., AOYAGI, T., SHIOTA, N., AKASHI, A. and HASEGAWA, S.. Complete decomposition of biological waste sludge by thermophilic aerobic bacteria. **Wat. Sci. Technol.**, v. 42, p. 81-88. 2000.

STUART, P., KENNY, R. and SOINTIO, J.. A critical review of the low sludge production (LSP) process for the pulp and paper industry. **Pulp Paper Can.**, v. 102, p. 23-27. 2001.

STUER, W. and JAEGER, K. E.. Purification of extracellular lipase from *Pseudomonas aeruginosa*. **J. Bacteriol.**, v.168 (3), p. 1070- 1074. 1986.

TAZI-PAIN, A., SCHROTTER, J.C., BORN, G., PAYREAUDEAU, M. and BUISSON, H.. Recent improvement of the BIOSEP® process for industrial and municipal wastewater treatment. **Desalination**, v. 146, p. 439-433. 2002.

THOMPSON, G., SWAIN, J., KAY, M. and FORSTER, C.F.. The treatment of pulp and paper mill effluent: A review. **Bioresources Technol.**, v. 77, p. 275-286. 2001.

THOMAS, L., JUNGSCHAFFER, G. and SPROSSLER, B.. Improved sludge dewatering by enzymatic treatment. **Wat. Sci. Technol.**, v. 28, p. 189-192. 1993.

UNICAMP. (2002).Tratamentos de esgoto: O uso agrícola do lodo de esgoto. 2002. Disponível em: www.tratamentodeesgoto.hpg.ig.com.br/impactoambiental.html., acesso em: 9 setembro de 2008.

VIEIRA, R. F., CARDOSO, A.A.. Variações nos teores de nitrogênio mineral em solo suplementado com lodo de esgoto. **Pesq. Agropec. Brás.**, v. 38, n. 7, p. 867-874. 2003.

VIEIRA, R. F.. Lodo de esgoto na agricultura: estudo de caso. **EMBRAPA**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento nº 20. 2004.

VON SPERLING, M. ed. Von Sperling, M., Princípios do Tratamento Biológico de Água Residuárias - Lodos Ativados - Vol. 4.1997.

WAWRZYNCYK, J.; RECKTENWALD, M.; NORRLÖW, O. and DEY, E. S..The function of cation-binding agents in the enzymatic treatment of municipal sludge. **Water Research**, v. 42, p.1555-1562. 2008.

WATSON, S.D., AKHURST T., WHITELEY, C.G., ROSE P.D., Pletschke B.I..
Primary sludge floc degradation is accelerated under biosulphidogenic condition:
Enzymological aspects. **Enzyme Microb. Technol.** 34, 595-602. 2004.

WHITELEY, C.G., BURGESS, J.E., MELAMANE, X., PLETSCHKE, B., ROSE, P.D..
The enzymology of sludge solubilisation utilizing sulphate-reducing systems: the
properties of lipase, **Water Research**, v.37, p. 289-296. 2003.

WICKHAM, D.E.. Continuous biological treatment of sewage sludge and waste
water-by addition of an activated mixture of selected enzymes and bacteria species
bacillus subtilis and Pseudomonas fluorescences. 2006. **USPatent US5531898-A.**
Derwent Number 1996-321028 [32].

APÊNDICE A - Determinação da atividade da enzima Protease

Determinação da Atividade da enzima Protease – Savinase 16 L (Novozyme)

Tabela A: Dados da Absorbância em função do Volume de Enzima.

| Volume de Enzima μL | Absorbância 440 nm | | |
|------------------------|--------------------|-----------|-----------|
| | Leitura 1 | Leitura 2 | Leitura 3 |
| 10 | 0,018 | 0,018 | 0,017 |
| 20 | 0,034 | 0,039 | 0,037 |
| 40 | 0,092 | 0,093 | 0,093 |
| 80 | 0,186 | 0,184 | 0,185 |
| 100 | 0,208 | 0,205 | 0,198 |

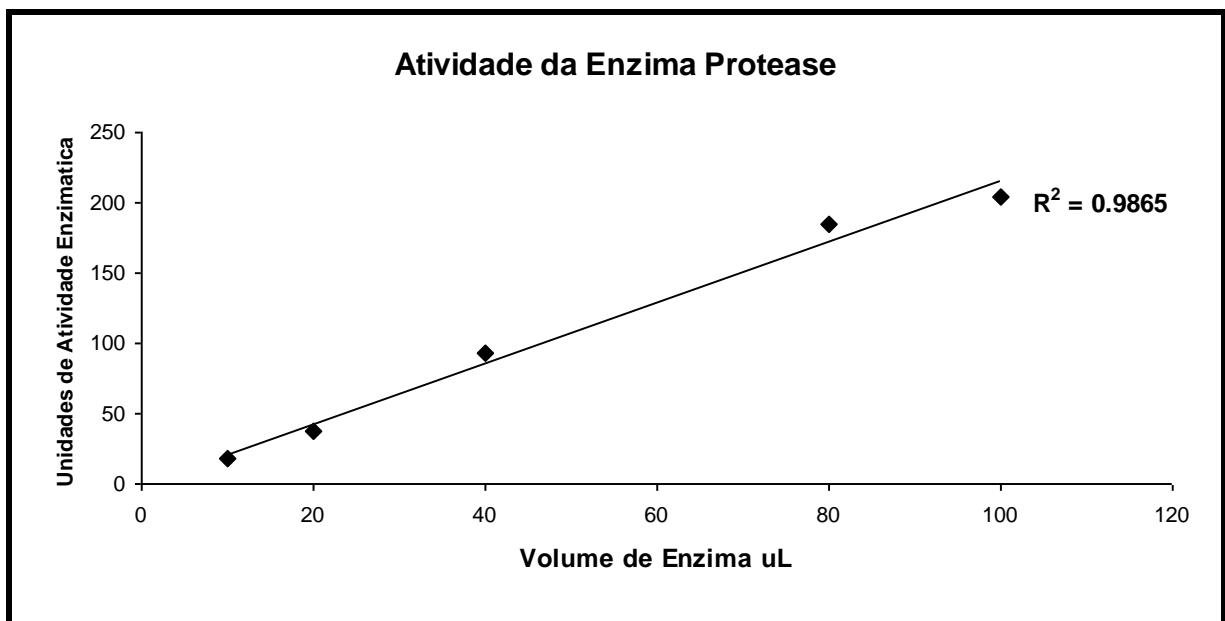


Figura A: Curva da Atividade da Enzima Protease Savinase 16L (Novozyme)

APÊNDICE B - Determinação da Atividade da enzima Celulase

Determinação da Atividade da enzima Celulase - Celluclast 1.5L (Novozyme)

Tabela B₁: Dados da Absorbância em função do Volume de Enzima.

| Volume de Enzima μL | Absorbância 550 nm | | |
|------------------------|--------------------|-----------|-----------|
| | Leitura 1 | Leitura 2 | Leitura 3 |
| 25 | 0,002 | 0,002 | 0,002 |
| 50 | 0,003 | 0,005 | 0,005 |
| 75 | 0,038 | 0,039 | 0,041 |
| 100 | 0,076 | 0,078 | 0,077 |
| 200 | 0,387 | 0,387 | 0,388 |
| 400 | 0,868 | 0,871 | 0,869 |
| 1000 | 2,078 | 2,082 | 2,076 |

Tabela B₂: Curva Padrão de Glicose

| Solução Glicose μL | Absorbância 550 nm |
|--------------------|--------------------|
| 10 | 0,021 |
| 20 | 0,038 |
| 30 | 0,061 |
| 40 | 0,082 |
| 50 | 0,099 |

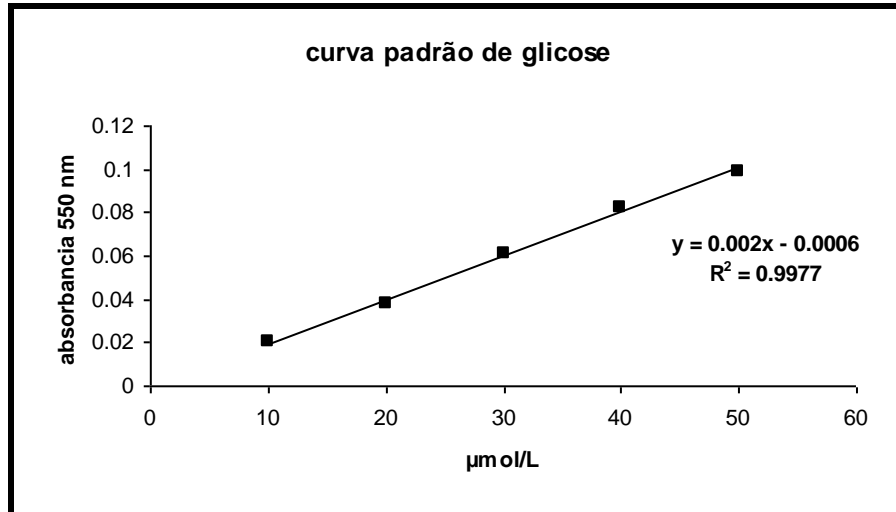


Figura B₁: Curva Padrão de Glicose

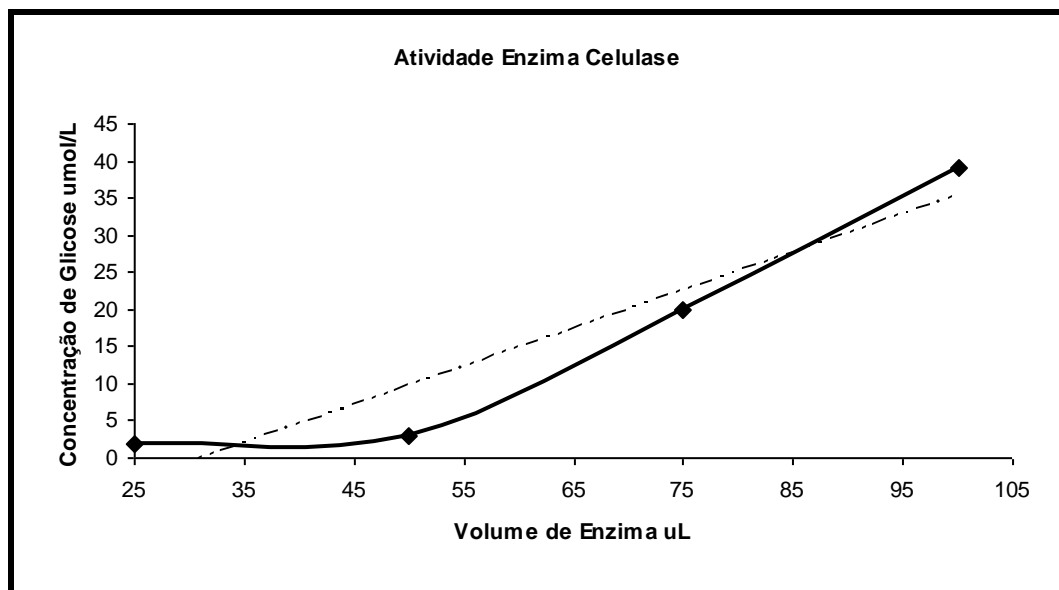


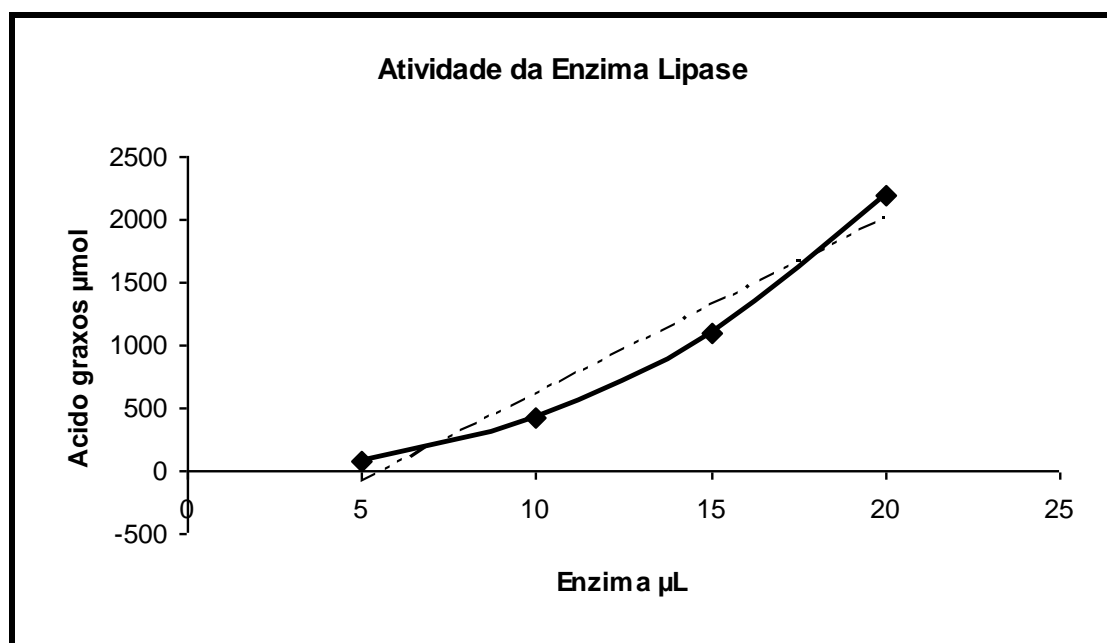
Figura B₂: Curva da Enzima Celulase Celluclast 1.5 L (Novozyme)

APÊNDICE C - Determinação da Atividade da enzima Lipase

Determinação da Atividade da enzima Lipase Lipolase 100L (Novozyme)

Tabela C: Dados da concentração de ácidos graxos em função do volume de enzima.

| Enzima (μL) | Ácidos Graxos ($\mu\text{mol/L}$) |
|--------------------------|-------------------------------------|
| 5 | 84 |
| 10 | 422 |
| 15 | 1097 |
| 20 | 2194 |

**Figura C:** Curva da enzima Lipase Lipolase 100L (Novozyme)

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)