

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

INSTITUTO DE QUÍMICA - CAMPUS DE ARARAQUARA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**ESTUDO DA LIXIVIAÇÃO BACTERIANA DE METAIS
PRESENTES EM LODO DE ESGOTO SANITÁRIO**

Luciene Dias Villar

ARARAQUARA - SP

2003

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

INSTITUTO DE QUÍMICA - CAMPUS DE ARARAQUARA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**ESTUDO DA LIXIVIAÇÃO BACTERIANA DE METAIS
PRESENTES EM LODO DE ESGOTO SANITÁRIO**

Luciene Dias Villar

**Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Biotecnologia como
requisito parcial à obtenção do título
de DOUTOR EM BIOTECNOLOGIA.**

Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Garcia Jr.

Agência Financiadora: FAPESP

ARARAQUARA – SP

2003

Membros da Comissão Examinadora da Tese de Doutorado de

LUCIENE DIAS VILLAR

Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Instituto de Química da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” em 3 de julho de 2.003.

Prof. Dr. Oswaldo Garcia Júnior

UNESP – Instituto de Química – Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química
(Orientador)

Prof^a. Dr^a. Íria Fernandes Vendrame

Instituto Tecnológico de Aeronáutica – Departamento de Infra-Estrutura Aeronáutica

Prof. Dr. João Sérgio Cordeiro

Universidade Federal de São Carlos – Departamento de Engenharia Civil

Prof^a. Dr^a. Rosana Filomena Vazoller

Universidade de São Paulo – Instituto de Ciências Biomédicas – Departamento de
Microbiologia

Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Gonsales da Costa Araújo

UNESP – Instituto de Química – Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química

DADOS CURRICULARES

LUCIENE DIAS VILLAR

Dados Pessoais

Nascimento: 28 de junho de 1.969

Nacionalidade: brasileira

Naturalidade: Santo Anastácio-SP

Estado Civil: casada

Filiação: Ailton Villar Tamos e Aparecida Dias Villar

Profissão: Servidor público federal – carreira C&T

Documento de Identidade: R.G. 17.943.163

Cadastro de Pessoa Física: 121.532.489/95

Endereço Profissional: Divisão de Química – Instituto de Aeronáutica e Espaço – Centro Técnico Aeroespacial - Pça. Mal. Eduardo Gomes, 50 – São José dos Campos – SP

Formação Acadêmica

Curso de Engenharia Química, concluído em 5 de fevereiro de 1.992 pela Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.

Mestre em Tecnologias Limpas, concluído em 9 de dezembro de 1.998 pela University of Newcastle upon Tyne (Inglaterra), reconhecido pela Universidade de São Paulo como Mestre em Engenharia Química (Área de Concentração: Engenharia Química) em 4 de novembro de 1.999.

Doutor em Biotecnologia pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (Área de Concentração: Biotecnologia), concluído em 3 de julho de 2003, pelo Instituto de Química da UNESP-Araraquara.

Trabalhos Publicados

VILLAR, L. D.; GARCIA JÚNIOR, O. Assessment of sewage sludge quality for agricultural application after metal bioleaching. **Environmental Technology**, 2003.
(no prelo)

VILLAR, L. D.; GARCIA JÚNIOR, O. Solubilization profiles of metal ions from bioleaching of sewage sludge as a function of pH. **Biotechnology Letters**, v. 24, n. 8, p. 611-614, 2002.

VILLAR, L. D.; GARCIA JÚNIOR, O. Effects of solids concentration on bioleaching of metals from biosolids by indigenous sulphur-oxidizing bacteria. In: INTERNATIONAL BIOHYDROMETALLURGY SYMPOSIUM, 15, 2003, Atenas.
(trabalho aceito)

VILLAR, L. D.; GARCIA JÚNIOR, O. Lixiviação bacteriana de metais presentes em lodo de esgoto sanitário para aproveitamento de seu potencial agrícola. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 22, 2003, Joinville. (trabalho aceito)

VILLAR, L. D.; GARCIA JÚNIOR, O. Avaliação da concentração e da especiação de metais presentes em lodo de esgoto anaeróbio. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE BIODISSÓLIDOS, 2003, São Paulo. **Anais ...** Rio de Janeiro: ABES, 2003.

VILLAR, L. D.; GARCIA JÚNIOR, O. Influência de parâmetros de processo na lixiviação bacteriana de metais presentes em lodo de esgoto sanitário. In: I FÓRUM DAS UNIVERSIDADES PÚBLICAS PAULISTAS EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM RESÍDUOS, 2003, São Pedro. **Anais ...** Ribeirão Preto: ICTR/NISAM, 2003.

VILLAR, L. D.; GARCIA JÚNIOR, O. Caracterização do resíduo gerado no tratamento de águas residuárias domésticas quanto à presença de metais: estudo de caso. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E DE PÓS-GRADUAÇÃO DO ITA, 8, 2002, São José dos Campos. **Anais ...** São José dos Campos: ITA, 2002. p. 379-384.

VILLAR, L. D.; SANTOS, A dos; ROCHA, J. C.; GARCIA JÚNIOR, O. Effects of temperature on bioleaching of metals from anaerobic sewage sludge by acidophilic sulphur-oxidizing bacteria. In: INTERNATIONAL BIOHYDROMETALLURGY SYMPOSIUM, 14, 2001, Ouro Preto. CIMINELLI, V. S. T.; GARCIA JÚNIOR, O. (Eds.). **Biohydrometallurgy: Fundamentals, Technology and Sustainable Development.** Amsterdam: Elsevier Science, 2001. v. 11B, p. 21-30.

VILLAR, L. D.; GARCIA JÚNIOR, O. Biolixiviação de metais em lodo de esgoto municipal utilizando bactérias acidofílicas do gênero *Thiobacillus*. In: WORKSHOP DE BIODEGRADAÇÃO, 2, 2001, Campinas. MELO, I. S. et al. (Eds.). **Biodegradação.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. p. 383-386.

VILLAR, L. D.; BARREIRA, R. P. R.; GARCIA JÚNIOR, O. Effects of initial pH on metal bioleaching from sewage sludge by sulphur-oxidizing bacteria. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 21, 2001, Fóz do Iguaçu. **Resumos ...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2001. p. 312.

BARREIRA, R. P. R.; VILLAR, L. D.; GARCIA JÚNIOR, O. Isolamento e purificação de *Thiobacillus thiooxidans* a partir de lodo de esgoto municipal. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 13, 2001, Bauru. **Resumos ...** UNESP, 2001. p. 105.

Ao Nicélio,
Aos meus pais, Ailton e Cida,
Às minhas irmãs, Leila e Lidi.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **Oswaldo Garcia Jr.**, pela orientação, incentivo e confiança constantes;

À **FAPESP**, pela bolsa concedida e pelo suporte financeiro fornecido ao projeto;

À **SABESP-Franca**, nominalmente ao gerente **Rui César R. Bueno**, pelo fornecimento de amostras e de informações necessárias ao desenvolvimento do projeto;

Ao **Centro Técnico Aeroespacial (IAE - Divisão de Química)**, nominalmente ao Eng. **Sabóia**, chefe da Divisão de Química, e ao Dr. **Luis Cláudio Rezende**, por viabilizar a finalização deste trabalho após meu ingresso nessa Instituição;

À Prof.^a Dr.^a **Ana Teresa Lombardi**, pelo apoio na elaboração da proposta inicial do projeto de doutorado;

Ao Prof. Dr. **João Sérgio Cordeiro** (UFSCar) e Prof. Dr. **Jonas Contiero** (UNESP-Rio Claro) pelas sugestões por ocasião do Exame de Qualificação;

Ao Prof. Dr. **Júlio César Rocha** e ao técnico **Ademir dos Santos**, pelo suporte na preparação de amostras e nas determinações analíticas;

Ao técnico **Waldenir A. N. Menezes** pelo suporte necessário à realização dos experimentos;

Às funcionárias da Secretaria de Pós-Graduação, **Izolina, Sandra e Vilma**, pelo suporte administrativo;

Às funcionárias da biblioteca, **Christiane, Giovana, Kátia e Valéria**, pelos serviços prestados relativos à recuperação e empréstimo de material bibliográfico;

À aluna de Iniciação Científica, **Renata P. R. Barreira**, pelo trabalho desenvolvido e sua contribuição neste projeto;

Aos colegas, **Estela, Ana Paula, Tereza, Maurício, Denise e André**, pelas experiências compartilhadas.

A **Sandra Mello, Lara Steil, Euclides Castorino e Christian**, pelo companheirismo.

RESUMO

A geração de lodo como resultado do tratamento do esgoto sanitário, embora possa ser minimizada, é inevitável, qualquer que seja o sistema empregado nas estações de tratamento. Sua disposição final tem sido motivo de diversos estudos, os quais apontam, como alternativa mais favorável, sua utilização em áreas agrícolas ou de produção florestal. A presença de metais no lodo, entretanto, pode inviabilizar seu uso como fertilizante ou como condicionador de solos dado ao risco de contaminação ambiental e de acumulação na cadeia trófica. A solubilização de metais presentes no lodo por meio do processo de lixiviação bacteriana tem mostrado resultados promissores, encorajando seu desenvolvimento. A lixiviação bacteriana de metais pode ocorrer diretamente, pela oxidação de sulfetos metálicos ou, indiretamente, pela oxidação de compostos reduzidos de enxofre a sulfato, com a conseqüente solubilização ácida dos metais. As principais bactérias envolvidas nesse processo pertencem ao gênero *Thiobacillus*, recentemente reclassificado. Neste trabalho, utilizou-se lodo de esgoto, gerado pela Estação de Tratamento de Esgoto de Franca-SP (ETE-Franca), que opera um sistema de lodos ativados convencional, com tratamento dos lodos primário e secundário por digestão anaeróbia. Amostras de lodo foram caracterizadas quanto à presença dos metais cromo, cobre, chumbo, níquel e zinco. Em um ensaio preliminar, utilizando a linhagem *Acidithiobacillus thiooxidans* FG01, foi verificado que a utilização de lodo digerido ou lodo não-digerido proporcionou eficiências de solubilização similares para os metais investigados. Desta forma, amostras de lodo digerido anaeróbio foram utilizadas para estudo do efeito dos parâmetros temperatura, pH inicial e concentração de sólidos totais sobre a eficiência e a cinética da lixiviação bacteriana. Nesses ensaios, utilizou-se um inóculo contendo thiobacilli endógenos, com suplementação de enxofre elementar (S^0). Os perfis de solubilização obtidos, em função do tempo, foram de curvas sigmoidais crescentes, indicando uma relação direta entre o crescimento bacteriano, e o conseqüente abaixamento do pH, com a solubilização dos metais. Solubilizações máximas estatisticamente idênticas foram obtidas para as condições de temperatura de 20, 30 e 40°C a pH inicial 7,0 ou 4,0, com a exceção do binômio pH inicial 7,0 e temperatura de 40°C, para o qual se obteve valores sensivelmente mais baixos de solubilização máxima. A cinética de solubilização foi mais favorecida à temperatura de 30°C, independente do pH inicial. Para os valores de concentração de sólidos totais estudados (10; 25; 32,5 e 40 g·L⁻¹), não houve diferença significativa na eficiência do processo, embora a solubilização tenha ocorrido mais rapidamente para as concentrações de sólidos mais baixas. As eficiências de solubilização obtidas para os metais estudados, nos ensaios realizados, resultaram próximas a: 100 % para zinco e níquel, 80 % para cobre e 50 % para cromo e chumbo. A enumeração de thiobacilli endógenos durante ensaio de lixiviação confirmou o desenvolvimento de dois grupos de thiobacilli, neutrofilicos e acidofílicos, para a condição de pH inicial 7,0. O estudo da distribuição das espécies metálicas presentes no lodo, antes e após a lixiviação, permitiu verificar que a eficiência da solubilização dos metais foi controlada pela estabilidade dos compostos organo-metálicos e pelo produto de solubilidade dos carbonatos desses metais. Alterações na distribuição das frações de nitrogênio mineral e fósforo solúvel, devidas à acidificação do lodo, foram pouco significativas, embora o abaixamento do pH do lodo até valores próximos a 2,0 tenha contribuído para a melhoria da qualidade sanitária do lodo, pelo decaimento do número de bactérias indicadoras de contaminação fecal.

ABSTRACT

Although sewage sludge generation from sanitary wastewater treatment can be minimized, its production cannot be avoided at any system employed in the wastewater treatment facilities. Sludge final disposal has motivated several research studies, which have pointed out as the most suitable alternative the application of sludge in agricultural and forestry production. However, the presence of metals in sewage sludge may jeopardize its application as fertilizer or soil amendment due to the risk of environmental contamination or accumulation through the trophic chain. Solubilization of metals from sewage sludge by bacterial leaching has showed promising results, encouraging its process development. Bacterial leaching of metals occurs directly by metal sulphide oxidation or, indirectly by oxidation of reduced sulphur compounds to sulphate, with the consequent sludge acidification and metal solubilization. Bacteria from *Thiobacillus* genus, recently reclassified, are the most important species involved in bacterial leaching. In this work, sludge samples were obtained at the municipal wastewater treatment facility in the city of Franca, state of São Paulo, Brazil, which operates a conventional activated sludge system with treatment of the primary and secondary sewage sludges by anaerobic digestion. Samples were characterized for concentration of the metals chromium, copper, lead, nickel, and zinc. A preliminary assay was conducted by using *Acidithiobacillus thiooxidans* FG01, which resulted in similar solubilization efficiencies for digested or not-digested sludges. Effects of temperature, initial pH and total solids concentration were investigated in leaching experiments using anaerobically digested sludge inoculated with indigenous thiobacilli, and supplemented with elemental sulphur (S^0). Solubilization profiles as a function of time resulted in sigmoidal curves, indicating a direct correlation between bacterial growth, and metal solubilization, through the resultant decrease in sludge pH. Maximum solubilization efficiencies obtained at 20, 30, and 40°C for initial pH values of 7.0 and 4.0 resulted statistically identical, with exception of the condition 40°C and initial pH 7.0, for which lower solubilization was attained. Solubilization kinetics was favoured at 30°C, despite of the initial pH. For the total solids concentrations investigated (10, 25, 32.5, and 40 g·L⁻¹) no significant difference was observed for the maximum solubilization obtained, although faster solubilization profiles were observed at lower solids concentration. Solubilization efficiencies obtained at those assays were near to: 100 % for zinc and nickel, 80 % for copper and 50 % for chromium and lead. Indigenous thiobacilli enumeration confirmed the presence of neutrophilic and acidophilic thiobacilli when leaching assays were conducted at initial pH of 7.0. The study of metal speciation distribution allowed to conclude that solubilization efficiency was controlled by the stability of organo-metallic compounds, as well as, by the solubility product of metal carbonates. Changes on the distribution of mineral nitrogen and soluble phosphorous fractions due to sludge acidification were not significant, although the acidification of sludge down to pH 2.0 contributed to the improvement of sludge sanitary quality by reducing the number of indicator bacteria.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xiv
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Lodo de Esgoto Sanitário: geração, tratamento e disposição final	3
2.1.1 Geração de Lodo nos Sistemas de Tratamento de Esgotos Sanitários	3
2.1.2 Processos para Tratamento do Lodo de Esgoto	6
2.1.3 Alternativas de Disposição Final do Lodo de Esgoto	7
2.2 Disposição do Lodo para Uso Agrícola	10
2.2.1 Benefícios associados à Disposição do Lodo para Uso Agrícola	10
2.2.2 Restrições associadas à Disposição do Lodo para Uso Agrícola	12
2.2.2.1 Presença de Organismos Patogênicos	12
2.2.2.2 Presença de Metais: fontes, distribuição das espécies metálicas e riscos associados	14
2.2.3 Normatização para Uso Agrícola do Lodo de Esgoto	20
2.3 Características Operacionais da Estação de Tratamento de Esgoto de Franca-SP (ETE-Franca)	25
2.4 Processos para Solubilização de Metais presentes em Lodo de Esgoto	27
2.4.1 Processos Químicos	27
2.4.2 Processo Biológico: lixiviação bacteriana	30
2.4.2.1 Origens e Aplicações	30
2.4.2.2 Bactérias envolvidas no Processo	31
2.4.2.3 Mecanismos da Lixiviação Bacteriana	32
2.4.2.4 Histórico do Desenvolvimento do Processo Biológico aplicado a Lodo de Esgoto	34
2.5 Aplicação da Lixiviação Bacteriana para Solubilização de Metais em Lodo de Esgoto	36
2.5.1 Fatores de Influência no Processo	37
2.5.2 Alterações ocorridas no Lodo de Esgoto decorrentes da Lixiviação Bacteriana	38
2.6 Considerações sobre a Problemática da Remoção de Metais presentes em Lodo de Esgoto Sanitário	39

	Pág.
3	MATERIAL E MÉTODOS 42
3.1	Lodo de Esgoto 42
3.2	Caracterização Físico-Química 42
3.2.1	Sólidos Totais 42
3.2.2	Metais 43
3.2.2.1	Metais Totais e Dissolvidos 43
3.2.2.2	Procedimentos Analíticos 44
3.3	Ensaio de Lixiviação Bacteriana 45
3.3.1	Obtenção e Manutenção de Inóculos 45
3.3.2	Condições Experimentais dos Ensaio de Lixiviação Bacteriana 46
3.3.2.1	Ensaio preliminar utilizando Lodo Digerido e Lodo não-Digerido 47
3.3.2.2	Efeito da Temperatura e do pH inicial 47
3.3.2.3	Efeito da Concentração de Sólidos Totais 48
3.3.3	Procedimentos Analíticos 48
3.3.4	Análise de Resultados 49
3.3.5	Ensaio Complementares 51
3.3.5.1	Curvas de Crescimento de Thiobacilli Endógenos 51
3.3.5.2	Distribuição das Espécies Metálicas 52
3.4	Alterações no Lodo de Esgoto decorrentes da Lixiviação Bacteriana 53
3.4.1	Distribuição das Frações de Nitrogênio e Fósforo 53
3.4.2	Variação do Número de Bactérias Indicadoras 54
4	RESULTADOS 56
4.1	Caracterização Físico-Química 56
4.1.1	Sólidos Totais 56
4.1.2	Metais 57
4.1.2.1	Metais Totais 57
4.1.2.2	Metais Dissolvidos 58
4.2	Ensaio de Lixiviação Bacteriana 58
4.2.1	Ensaio preliminar utilizando Lodo Digerido e Lodo não-Digerido 58
4.2.2	Obtenção de Inóculo contendo Thiobacilli Endógenos 63
4.2.3	Efeito da Temperatura e do pH inicial 64
4.2.4	Efeito da Concentração de Sólidos Totais 71
4.2.5	Curvas de Crescimento de Thiobacilli Endógenos 80
4.2.6	Distribuição das Espécies Metálicas 81
4.3	Alterações no Lodo de Esgoto decorrentes da Lixiviação Bacteriana 84
4.3.1	Distribuição das Frações de Nitrogênio e Fósforo 84
4.3.2	Variação do Número de Bactérias Indicadoras 85

	Pág.
5	DISCUSSÃO 88
6	CONCLUSÕES 103
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS 105
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS 106
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 107
	ANEXO A – Diagrama de formas químicas predominantes para os metais cromo, chumbo, níquel e zinco em função das condições de pH e de potencial de óxido-redução (E_h) 124
	ANEXO B – Composição do meio “9K” descrito por Silverman e Lundgren (1959), utilizado para manutenção da linhagem <i>A. thiooxidans</i> FG01 125
	ANEXO C – Composição do meio contendo tiosulfato de sódio descrito por Barton e Shively (1968), utilizado na preparação de meio sólido para enumeração de thiobacilli endógenos 126

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
2.1	Fluxograma de operação da Estação de Tratamento de Esgoto de Franca-SP (ETE-Franca)	26
2.2	Diagrama de formas químicas predominantes para o metal cobre em função das condições de pH e de potencial de óxido-redução (E_h) do meio	35
3.1	Pontos de coleta dos lodos digerido e não-digerido gerados pela ETE-Franca (SP)	42
4.1	Valores de pH durante ensaio de lixiviação utilizando <i>A. thiooxidans</i> FG01	59
4.2	Solubilização, expressa em porcentagem, obtida para os metais Cr, Cu e Pb durante ensaio de lixiviação utilizando <i>A. thiooxidans</i> FG01	61
4.3	Solubilização, expressa em porcentagem, obtida para os metais Ni e Zn durante ensaio de lixiviação utilizando <i>A. thiooxidans</i> FG01	62
4.4	Valores de pH durante sub-cultivos sucessivos para obtenção de inóculo contendo thiobacilli endógenos	63
4.5	Valores de pH e de E_h durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial	65
4.6	Solubilização, expressa em porcentagem, obtida para os metais Cr, Cu e Pb durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial	67
4.7	Solubilização, expressa em porcentagem, obtida para os metais Ni e Zn durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial	68
4.8	Solubilização calculada a partir dos modelos sigmoidal de Boltzmann e cinética de primeira ordem em função dos valores de solubilização experimentais obtidos para os metais Cr, Cu, Pb, Ni e Zn durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial	72
4.9	Solubilização em função do pH para os metais Cr, Cu, Pb, Ni e Zn durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial	73
4.10	Valores de pH e de E_h durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da concentração de sólidos totais	74
4.11	Solubilização, expressa em porcentagem, obtida para os metais Cr, Cu e Pb durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da concentração de sólidos totais	76

	Pág.
4.12 Solubilização, expressa em porcentagem, obtida para os metais Ni e Zn durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da concentração de sólidos totais	77
4.13 Solubilização em função do pH para os metais Cr, Cu, Pb, Ni e Zn durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da concentração de sólidos totais	79
4.14 Valores de pH e de E_h durante ensaio de enumeração de thiobacilli endógenos	80
4.15 Curvas de crescimento para thiobacilli acidofílicos (A) e neutrofílicos (B) durante ensaios de lixiviação bacteriana iniciados a pH 7,0 e 4,0	81
4.16 Distribuição das espécies químicas para os metais Cr, Cu, Pb, Ni e Zn presentes no lodo <i>in natura</i> e no lodo acidificado, obtido após lixiviação bacteriana	83
4.17 Valores de pH em função do tempo para ensaio de lixiviação bacteriana para enumeração de organismos indicadores	85
4.18 Enumeração de bactérias indicadoras durante ensaio de lixiviação bacteriana	86

LISTA DE TABELAS

	Pág.
2.1	Principais metais presentes na composição de diversos produtos de uso doméstico ou comercial 15
2.2	Concentrações-limite para a presença de metais no lodo de esgoto, conforme estabelecido pelas normas norte-americana e européia 22
2.3	Valores estabelecidos pela norma norte-americana 40 CRF Part 503 para a concentração de metais no lodo e para a concentração de metais acumulada no solo 23
2.4	Concentrações-limite para acúmulo de metais no solo devido à aplicação de lodo, conforme normas norte-americana e européia 24
3.1	Condições experimentais dos ensaios de lixiviação bacteriana realizados 46
3.2	Procedimento de extração seqüencial utilizado para determinar a distribuição das espécies metálicas no lodo <i>in natura</i> e no lodo acidificado, obtido após lixiviação bacteriana 52
4.1	Concentração de sólidos totais para amostras de lodo digerido e lodo não-digerido coletadas na ETE-Franca (SP) 56
4.2	Concentração de metais totais para amostras de lodo digerido e lodo não-digerido coletadas na ETE-Franca (SP) 57
4.3	Concentração de metais dissolvidos para amostras de lodo digerido e lodo não-digerido coletadas na ETE-Franca (SP) 58
4.4	Parâmetros da equação sigmoidal de Boltzmann obtidos por ajuste das curvas de solubilização em função do tempo para os tratamentos inoculados, durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial 69
4.5	Constante da velocidade de solubilização (k) para a equação de cinética de primeira ordem, com os respectivos coeficientes de correlação linear (r^2), para os tratamentos inoculados, durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial 70
4.6	Parâmetros da equação sigmoidal de Boltzmann obtidos por ajuste das curvas de solubilização em função do tempo para os tratamentos inoculados, durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da concentração de sólidos totais 78
4.7	Distribuição das frações de nitrogênio e fósforo para lodo digerido, antes e após o ensaio de lixiviação bacteriana, e para o frasco-controle 84
B	Composição do meio “9K” descrito por Silverman e Lundgren (1959) 125
C	Composição do meio de cultura descrito por Barton e Shively (1968) 126

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
- ADP – adenosina di-fosfato
- AMP – adenosina mono-fosfato
- ATP – adenosina tri-fosfato
- CEE – Comunidade Econômica Européia
- CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
- DQO – demanda química de oxigênio
- EDTA – ácido etileno diaminotetraacético
- ESALQ – Escola Superior de Agronomia “Luiz de Queiroz”
- ETA – Estação de Tratamento de Água
- ETE – Estação de Tratamento de Esgoto
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- ICP-AES – espectrometria de emissão atômica em plasma indutivamente acoplado
- ICP-OES – espectrometria de emissão ótica em plasma indutivamente acoplado
- NMP – número mais provável
- PCBs – bifenilas policlorados
- RAFA – reator anaeróbico de fluxo ascendente
- RMSP – Região Metropolitana da cidade de São Paulo
- SABESP – Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo
- SS – sólidos sedimentáveis
- ST – sólidos totais
- UASB – ‘up-flow anaerobic sludge blanket reactor’
- UFC – unidade formadora de colônia
- UFP – unidade formadora de placa
- US EPA – Agência de Proteção Ambiental norte-americana
- UV-VIS – espectrofotometria de absorção na região do ultra-violeta visível
- WEF – Water Environment Federation

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, visando à despoluição dos rios de diversos municípios brasileiros, intensificaram-se a coleta e o tratamento dos esgotos sanitários, o que resultou no aumento da geração de lodo de esgoto. Esse resíduo, com elevada concentração de matéria orgânica e de nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo, deve ser disposto de modo adequado, de forma a não anular parcialmente os benefícios gerados pela coleta e tratamento do esgoto.

Ressalta-se que, segundo dados do IBGE para o ano de 2000, em apenas 14 % dos distritos brasileiros existe tratamento, em geral, parcial, do esgoto coletado, gerando, portanto, demanda por alguma forma de disposição final do lodo gerado. Essa situação, entretanto, tende a um agravamento quando, e se, forem instaladas novas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs), para benefício da qualidade dos recursos hídricos e da saúde pública em nosso País.

Nesse contexto, a destinação final do lodo de esgoto deve-se tornar uma preocupação crescente para os profissionais envolvidos na administração das ETEs, especialmente frente às Leis Federais 9.433/97 (Política Nacional de Recursos Hídricos) e, 9.605/98 (Crimes Ambientais). De modo ainda mais perturbador, propostas levantadas por grupos de pesquisadores na área de resíduos têm apontado para uma possível regulamentação da “responsabilidade ambiental”, a qual, entre outras medidas, regulamentaria o passivo ambiental de empresas públicas e privadas, dificultando a disposição clandestina de resíduos.

Diante desse cenário de pressões legais e ambientais, o aproveitamento do lodo de esgoto como condicionador de solos ou, como fertilizante, associado ou não a fertilizantes minerais, apresenta-se como uma das alternativas mais convenientes para sua disposição final. Entretanto, a presença de metais no lodo pode inviabilizar essa alternativa, uma vez que, sua disposição no solo pode ocasionar alterações nas propriedades físico-químicas e microbiológicas do solo, gerando problemas diversos, dos quais se destacam a baixa produtividade agrícola e, o acúmulo de metais nas culturas e no solo.

Em conseqüência dessa limitação, o desenvolvimento de processos para remoção de metais presentes no lodo tem sido incentivado desde meados da década de 70. Inicialmente, processos químicos utilizando ácidos inorgânicos, ou outros compostos, foram investigados. Entretanto, os custos envolvidos nesses processos, aliados às experiências bem sucedidas, em diversos países, inclusive no Brasil, de solubilização de metais contidos em minérios de baixo

teor por lixiviação bacteriana, levaram à proposição da aplicação desse processo biológico para solubilização de metais em lodo de esgoto.

Na lixiviação bacteriana, a solubilização de metais é promovida por meio da oxidação biológica de sulfetos metálicos a sulfatos ou, pela oxidação de compostos reduzidos de enxofre a sulfato, com a conseqüente acidificação do meio e solubilização ácida dos metais. As bactérias do gênero *Thiobacillus*, do qual algumas espécies foram recentemente reclassificadas, se constituem nos principais organismos envolvidos no processo de lixiviação bacteriana, sendo divididas em dois grupos principais, neutrofilicas e acidofílicas, de acordo com a faixa de pH ótimo para seu crescimento.

Neste contexto, o presente projeto procurou preencher algumas lacunas existentes quanto à utilização de thiobacilli endógenos e, quanto ao estudo de parâmetros de processo, uma vez que tais enfoques não foram ainda explorados na literatura nacional. Além disso, este trabalho propõe-se a discutir a lixiviação bacteriana aplicada a lodo de esgoto, à luz da especiação dos metais, o que não foi, até então, realizado pela literatura internacional. Adicionalmente, foram verificados os efeitos da lixiviação sobre a mineralização de nitrogênio, solubilização de fósforo e alteração do número de bactérias indicadoras, dado que a literatura internacional apresenta poucos resultados relacionados a esses aspectos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Lodo de Esgoto Sanitário: geração, tratamento e disposição final

A literatura nacional está provida de diversos textos sobre o tema geração, tratamento e disposição final de lodo de esgoto sanitário, devendo-se destacar as contribuições organizadas por Andreoli, 2001; Andreoli et al., 2001a; Tsutiya et al., 2001; Bettiol e Camargo, 2000. Diante da abrangência que esses textos revelam, uma apresentação do assunto servirá para introduzir esta revisão, cujo principal enfoque será a presença de metais no lodo de esgoto e os aspectos relativos à utilização da lixiviação bacteriana para remoção desses metais.

2.1.1 Geração de Lodo nos Sistemas de Tratamento de Esgotos Sanitários

O esgoto sanitário é formado pela reunião das águas residuárias geradas no ambiente doméstico, comercial e institucional, podendo ainda incluir as águas residuárias industriais, que tenham sido previamente tratadas, de forma a atender aos padrões de lançamento na rede coletora pública previstos na norma NBR 9800 (ABNT, 1987). As águas subterrâneas e aquelas provenientes de precipitações pluviométricas podem ainda adentrar no sistema de coleta de esgoto por meio de infiltrações ou de componentes da rede coletora, não totalmente estanques, tais como caixas de passagem e poços de inspeção.

No Brasil, o sistema de coleta de esgoto sanitário mais comumente empregado é do tipo separador absoluto (IBGE, 2002), no qual o esgoto sanitário e as águas pluviais são coletados em sistemas totalmente independentes. Entretanto, cidades com infra-estrutura sanitária mais antiga, como São Paulo, Rio de Janeiro e Belém apresentam sistemas únicos de coleta ainda em operação (CRESPO, 1997), em parte do seu sistema de coleta, causando problemas diversos relacionados à carga hidráulica instável, ao arraste de material particulado presente na atmosfera e ao aumento da diluição do esgoto sanitário.

Desde que não haja significativa contribuição de despejos de origem industrial, a composição média do esgoto sanitário em um sistema separador é razoavelmente constante, consistindo, essencialmente, de água em uma fração de 99,9 % (ALEM SOBRINHO, 2001; MELO e MARQUES, 2000; SPERLING, 1996a). A fração restante é composta por sólidos orgânicos e inorgânicos, que podem se encontrar suspensos ou dissolvidos na fase líquida do

esgoto. Essa elevada diluição da carga poluidora constitui-se em uma das principais dificuldades relacionadas ao tratamento do esgoto sanitário (ALEM SOBRINHO, 2001).

O transporte do esgoto sanitário ocorre por meio de um sistema de esgotamento, que, em 14 % dos distritos brasileiros (IBGE, 2002), conduz, pelo menos parte do esgoto¹, até uma Estação de Tratamento de Esgoto (ETE). Nas ETES, o esgoto é submetido a um conjunto de operações físico-químicas e de processos biológicos, resultando na geração de diversos resíduos sólidos, entre os quais se inclui o lodo de esgoto.

Dentre os resíduos sólidos gerados, os sólidos grosseiros e a areia são comuns à maioria dos sistemas de tratamento de esgoto sanitário, sendo seu destino final mais usual a disposição em aterros sanitários. A geração de espuma pode ocorrer em diversas etapas do tratamento, embora não sistematicamente e, os aterros sanitários são também sua disposição mais freqüente (MIKI et al., 2001).

Em grande parte das estações de tratamento, a remoção de sólidos sedimentáveis (SS) precede as etapas de tratamento biológico. Essa remoção ocorre em decantadores, sendo a operação denominada tratamento primário. Em decorrência dessa denominação, o lodo gerado nessa operação é designado lodo primário, e se constitui de sólidos sedimentáveis orgânicos e inorgânicos, cuja produção média varia entre 27 e 33 g SS·hab⁻¹·dia⁻¹ (base seca). Considerando que a concentração de sólidos totais (ST) do lodo primário esteja compreendida entre 10 e 40 g·L⁻¹, o volume de lodo produzido no tratamento primário situa-se entre 0,68 e 3,3 L·hab⁻¹·dia⁻¹ (ALEM SOBRINHO, 2001).

Na etapa biológica do tratamento é gerado o lodo secundário, também denominado lodo biológico. Esse lodo é composto, principalmente, pela própria biomassa dos reatores biológicos, desenvolvida a partir da matéria orgânica biodegradável presente no esgoto. Suas características serão função do tratamento biológico adotado pela estação.

Em geral, o lodo secundário apresenta concentração de sólidos totais inferior a do lodo primário, da ordem de 5 a 30 g·L⁻¹ (TCHOBANOGLIOUS e BURTON, 1991), e sua produção varia de acordo com a natureza do processo biológico utilizado. Processos aeróbios, como o de lodos ativados convencional, produzem de 28 a 32 g SS·hab⁻¹·dia⁻¹ (base seca) ou, de 3 a 10 L·hab⁻¹·dia⁻¹, enquanto processos anaeróbios, como o reator anaeróbio de fluxo ascendente (RAFA), conhecido também pela sigla em inglês UASB, geram de 7 a 15 g SS·hab⁻¹·dia⁻¹ (base seca) ou, de 0,18 a 1,0 L·hab⁻¹·dia⁻¹ (ALEM SOBRINHO, 2001). Valores médios de volume e massa de lodo gerado para diversos outros sistemas biológicos de tratamento de

¹ Dos 14,57 milhões de metros cúbicos de esgotos coletados diariamente no Brasil, 35 %, ou seja, 5,14 milhões de metros cúbicos são tratados (IBGE, 2002).

esgoto encontram-se disponíveis na literatura (ALEM SOBRINHO, 2001; SPERLING e GONÇALVES, 2001; TCHOBANOGLOUS e BURTON, 1991).

Embora não seja uma prática comum no Brasil (SPERLING, 1996b), as estações podem dispor, ainda, de tratamento terciário, destinado ao polimento do efluente secundário, especialmente para remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) podendo, portanto, gerar lodo terciário, cujas características serão função do processo, biológico ou químico, empregado (TCHOBANOGLOUS e BURTON, 1991).

Seguindo uma tendência internacional, alguns autores nacionais (GONÇALVES e LUDUVICE, 2000; ANDRADE NETO e CAMPOS, 1999; SILVA, 1993 apud ALEM SOBRINHO, 2001) têm apontado para as vantagens da substituição do tratamento primário por reatores anaeróbios, principalmente o RAFA. Sob a ótica de geração de resíduos sólidos, a principal vantagem dessa substituição fundamenta-se na produção de um volume muito menor de lodo, embora outras vantagens relativas à simplicidade de operação e ao custo de instalação e operação possam ser mencionadas (ANDRADE NETO e CAMPOS, 1999).

Dentro dessa proposta, algumas estações decidiram pela utilização de reatores anaeróbios (RAFA) seguidos de sistemas aeróbios, podendo-se citar: ETE-Piracicamirim (Piracicaba-SP), que opera um sistema RAFA seguido de lagoas aeradas e lagoas de sedimentação (SEMAE, 2003); ETE-Vargem Limpa (Bauru-SP), cujo projeto de instalação prevê um sistema RAFA seguido de filtro aeróbio (DAE-BAURU, 2003); ETE-Atuba Sul (Curitiba-PR), cujo sistema promove o tratamento do esgoto por meio de 16 reatores anaeróbios com capacidade total de 32.000 m³ (SANEPAR, 2003) e; ETE-Taguatinga-Ceilândia no Distrito Federal, cujo projeto prevê a operação de um reator anaeróbio seguido de um sistema de lodos ativados (CAESB, 2003).

Apesar dessas iniciativas, a maioria das ETEs em funcionamento operam sistemas tradicionais, compostos por um decantador primário seguido por algum processo biológico aeróbio. Tsutiya (2001a) apresentou o sistema de operação utilizado por diversas estações no Estado de São Paulo. A maioria delas opera um sistema biológico de lodos ativados convencional: ETE-Barueri, ETE-ABC, ETE-Suzano e ETE-Franca. Algumas variações no sistema de lodos ativados são encontradas na ETE-Lavapés (São José dos Campos-SP), que opera com adição de oxigênio puro, e na ETE-Humaitá (São Vicente-SP), operando com aeração prolongada. Outras estações, ETE-Araraquara (SP) (DAAE, 2003) e ETE-Jundiá (SP) (DAE-JUNDIAÍ, 2003), operam um sistema de lagoas aeradas, seguidas de lagoas de sedimentação, sem tratamento primário. Nesse sistema, a geração de lodo é, em geral, descontínua, podendo apresentar longos períodos (2 a 4 anos) sem remoção do lodo

acumulado nas lagoas de sedimentação (CAMPOS, 1994). Ainda assim, a experiência nacional sobre a determinação da taxa de acúmulo, bem como sobre a remoção e destinação final de lodos gerados nesses sistemas encontra-se pouco desenvolvida (SPERLING, 1996c)

2.1.2 Processos para Tratamento do Lodo de Esgoto

Os lodos primário e secundário gerados durante o tratamento do esgoto são, em geral, homogêneos, em proporções variáveis, antes de serem submetidos a um ou mais processos de tratamento. Os principais processos utilizados incluem: adensamento, estabilização, condicionamento, desidratação e higienização (MIKI et al., 2001; SPERLING e GONÇALVES, 2001).

O adensamento, também denominado espessamento, permite a concentração de sólidos no lodo, visando a diminuição do volume de lodo a ser manipulado nas etapas subsequentes de tratamento, ou a ser transportado para seu destino final (SPERLING e GONÇALVES, 2001).

Na etapa de estabilização, o lodo é submetido a processos que promovem a degradação da matéria orgânica, de forma a diminuir a concentração de organismos patogênicos presentes no lodo, bem como de minimizar a ocorrência do processo de putrefação do lodo, responsável pela geração de odores ofensivos.

Os processos mais comumente utilizados para estabilização do lodo incluem (LUDUVICE, 2001): (a) a estabilização química, pela adição de oxidantes como óxido de cálcio (CaO) ou hidróxido de cálcio ($\text{CaO}\cdot x\text{H}_2\text{O}$), os quais promovem a estabilização mediante a oxidação química da matéria orgânica; (b) a estabilização biológica, que promove a degradação de compostos orgânicos pela ação de microrganismos, em ambientes aeróbios (digestão aeróbia) ou anaeróbios (digestão anaeróbia) e, finalmente, (c) a estabilização térmica, que promove a oxidação da fração volátil da matéria orgânica pela ação do calor, em sistemas hermeticamente fechados.

De todos esses sistemas, a digestão anaeróbia mesofílica, promovida entre 20 e 45°C, se constitui no principal processo utilizado no Brasil para estabilização de lodos gerados em ETEs (LUDUVICE, 2001). A digestão aeróbia, ainda pouco difundida no país, tem sido utilizada para estabilizar o excesso de lodos ativados oriundo de sistemas com remoção biológica de nutrientes, podendo-se citar, no Brasil, a operação de digestores aeróbios nas estações ETE-Norte e ETE-Sul de Brasília (DF) (LUDUVICE, 2001).

O condicionamento é um processo de preparação do lodo, após sua estabilização, por meio da adição de produtos químicos inorgânicos, como óxido ou hidróxido de cálcio, ou sais de ferro ou alumínio; ou de produtos orgânicos, representados por diversos tipos de polieletrólitos. A adição desses produtos tem como finalidade o aumento da retenção de sólidos durante a etapa subsequente de desidratação ou desaguamento do lodo, quando realizada por processos mecânicos (MIKI, 1998).

O desaguamento do lodo por processos mecânicos envolve operações de filtração ou centrifugação, conduzidas em diversos tipos de equipamento (filtro-prensa do tipo esteira, filtro-prensa de placas, centrífuga ou filtro a vácuo). A remoção de água do lodo pode ocorrer, ainda, por processos naturais, em leitos de secagem ou lagoas de lodo. O objetivo dessa fase é diminuir ainda mais o volume, produzindo lodos com comportamento reológico semelhante ao dos sólidos. A eficiência da desidratação do lodo tem impacto importante nos custos de transporte e nas alternativas de destinação final (SPERLING e GONÇALVES, 2001).

Finalmente, a higienização pode se fazer necessária em lodos que serão dispostos em áreas agrícolas e, para os quais, os sistemas de estabilização utilizados não promoveram o decaimento dos organismos patogênicos requerido pelo órgão regulamentador responsável. Os processos mais comumente utilizados, principalmente pelo baixo custo são (ANDREOLI et al., 2001b): caleação, também conhecida por calagem, ou seja, adição de cal; compostagem e; tratamento térmico. A inativação dos organismos patogênicos ocorre pela elevação do pH e da temperatura, no processo de caleação; pela elevação da temperatura decorrente da degradação biológica da matéria orgânica, no processo de compostagem ou, pela elevação da temperatura e diminuição da umidade, no tratamento térmico.

O processo de compostagem, embora ainda pouco utilizado para tratamento de lodo gerado em ETEs (LUDUVICE, 2001), apresenta a característica de gerar um produto comercializável e que, geralmente, demanda ações inter-institucionais, uma vez que para compostagem do lodo são necessários resíduos estruturantes, que podem ser fornecidos pela administração municipal (tais como, resíduos de podas de árvores e de manutenção de jardins e praças), por cooperativas agrícolas ou por agroindústrias (PROSAB, 1999).

2.1.3 Alternativas de Disposição Final do Lodo de Esgoto

A alternativa para tratamento e disposição final do lodo deve estar prevista quando da elaboração do projeto da estação de tratamento, de forma a serem evitadas soluções emergenciais que muitas vezes comprometem os benefícios gerados pelo tratamento da fase

líquida dos esgotos (FERNANDES et al., 2001). Se esta razão não fosse suficiente, ter-se-ia ainda os elevados custos associados ao tratamento e disposição do lodo, que alguns autores estimam entre 20 e 60 % do custo total de operação de uma ETE (FERNANDES et al., 2001; VESILIND, 1974).

As diversas alternativas de disposição do lodo de esgoto incluem aquelas que permitem sua utilização de forma sustentável, em áreas agrícolas ou de manejo florestal, para aproveitamento de seu potencial fertilizante e condicionador de solos ou, ainda, em áreas degradadas, para recuperação de solos desgastados pela erosão ou por atividades intensivas de mineração (TSUTIYA, 2001b).

Outras formas de disposição incluem alternativas, ainda pouco utilizadas, que permitem a reciclagem do lodo em processos de fabricação de agregados leves, materiais cerâmicos estruturais e materiais pozolânicos de uso na construção civil.

Por fim, as alternativas que compreendem a disposição em aterros, o tratamento no solo e a incineração representam tão somente uma forma de disposição, sem aproveitamento ou reciclagem de seus componentes.

A disposição em aterros pode ocorrer de forma exclusiva ou em co-disposição com resíduos sólidos urbanos. Em aterros exclusivos, os lodos devem ser dispostos com concentração de sólidos totais elevada (acima de 40 %), devendo, ainda, serem misturados a outros materiais, tais como óxido de cálcio, de forma a apresentar resistência mecânica suficiente para submeter-se à compactação (TSUTIYA, 2001b).

A co-disposição de lodo com resíduos sólidos urbanos em aterros sanitários tende a aumentar a taxa de estabilização do resíduo sólido (BIDONE, 1998 apud TSUTIYA, 2001b; HAMZAWI et al., 1998; POGGIVARALDO e OLESZKIEWICZ, 1992), funcionando ainda como inóculo para o início da degradação dos resíduos urbanos (SPERANDIO et al., 2000). Críticas a essa alternativa, entretanto, apontam para a diminuição da vida útil do aterro sanitário (BARLAZ et al., 1990).

No sistema de tratamento no solo, mais conhecido pela designação em inglês “landfarming”, não existe o aproveitamento agrícola da matéria orgânica e dos nutrientes minerais presentes no lodo. Trata-se da degradação da matéria orgânica pela ação dos microrganismos presentes no solo e da retenção dos componentes inorgânicos, inclusive metais, na camada do solo conhecida como zona de tratamento, com profundidade de até 1,5 m. No Brasil, este sistema tem sido utilizado apenas para o tratamento de resíduos industriais (ANDREOLI et al., 2001c), não havendo sistemas em uso para tratamento de lodo de esgoto.

Embora a alternativa de incineração apresente uma tendência de crescimento em alguns países, especialmente no Japão, onde 75 % do lodo gerado é incinerado (ZHANG et al, 2001), esta alternativa não pode ser considerada, a rigor, como disposição final do lodo, uma vez que as cinzas geradas no processo necessitam, ainda, de uma disposição final, em geral, em aterros (LUDUVICE e FERNANDES, 2001).

Alguns trabalhos, entretanto, têm sido desenvolvidos utilizando as cinzas resultantes da incineração do lodo como cargas na produção de tijolos, concreto e cimento. Tay e Show (1997) revisaram os resultados obtidos por diversos autores quanto às propriedades mecânicas, principalmente quanto à resistência à compressão, de tijolos, cimentos e concretos produzidos com lodo incinerado. Esses autores verificaram que cargas de até 30 %, em massa, de lodo na forma de cinzas, não alteram significativamente as propriedades mecânicas desses produtos.

No Brasil, estudos sobre a produção de agregados leves utilizando lodo de esgoto sinterizado foram realizados no final da década de 70 e início da década de 80, em uma instalação industrial que processava $500 \text{ kg}\cdot\text{h}^{-1}$ de lodo, gerado na ETE-Vila Leopoldina (SP) (SANTOS, 1996 apud TSUTIYA, 2001b; BETTIOL et al., 1983). O agregado leve produzido nessa instalação apresentou propriedades equivalentes ao agregado leve obtido a partir de argila expandida (SANTOS, 1996 apud TSUTIYA, 2001b). Mais recentemente, Morales (1997) apresentou um estudo de caracterização de lodo calcinado, visando sua aplicação como agregado leve na indústria da construção civil. Os resultados obtidos demonstraram que a característica pozolânica do lodo calcinado favorece sua aplicação na indústria de cimento.

Embora existam ainda outras alternativas de disposição de lodo gerado em ETEs, algumas delas consideradas também como processos de tratamento, sua utilização encontra-se restrita a instalações isoladas. Tsutiya (2001b) apresentou as características básicas de operação de cada um dos seguintes processos: secagem térmica, conversão do lodo em óleo combustível, pirólise, oxidação úmida e liquefação do lodo.

Desses, o processo de conversão em óleo combustível a baixas temperaturas, entre 300 e 420°C, desenvolvido inicialmente por Bayer e Kutubuddin (1982 apud LUTZ et al., 2000), tem sido estudado também no Brasil (LUTZ et al., 2000), tendo-se obtido rendimentos, calculados em relação à massa de óleo gerado por tonelada de lodo seco convertido, de 11% para lodo digerido e de 31% para lodo secundário proveniente de sistema de lodos ativados.

Dentre as possibilidades de disposição final de lodo que foram apresentadas, as alternativas mais comumente utilizadas pela Comunidade Econômica Européia incluem (DAVIS e HALL, 1997): agricultura (37%), disposição em aterro (40%) e incineração (11%). Nos Estados Unidos, a distribuição ocorre de forma um pouco diferenciada (US EPA, 1999),

com 41% do total de lodo gerado sendo disposto no solo, 17% em aterros e 22% incinerado. A disposição no solo inclui não apenas o uso agrícola, mas também o uso em áreas florestais ou para recuperação de áreas degradadas.

Sendo largamente utilizada por diversas décadas, a disposição oceânica foi banida nos Estados Unidos a partir de dezembro de 1991 (HILL, R. T. et al., 1996), tendo sido proibida na Comunidade Econômica Européia alguns anos depois, em dezembro de 1998 (DAVIS e HALL, 1997).

Para o Brasil não existem dados sistematizados sobre a destinação final do lodo, cuja produção está estimada entre 150 e 220 mil toneladas de matéria seca por ano (ANDREOLI, 2001). Para a Região Metropolitana da cidade de São Paulo (RMSP), a destinação em aterros sanitários em co-disposição com resíduos sólidos urbanos se constitui na principal forma de destino do lodo gerado nas estações ABC, Parque Novo Mundo, São Miguel, Suzano e Barueri (SABESP, 2003). O Plano Diretor de Lodos elaborado pela Sabesp para o ano de 2015, recomendou que o lodo gerado na RMSP seja destinado a uso agrícola, aterro exclusivo ou incineração (TSUTIYA, 2001b). Algumas ocorrências de disposição em áreas agrícolas são registradas para os lodos gerados na ETE-Franca (SP) (SANTOS, 2001), nas ETEs existentes em Brasília (DF) (LUDUVICE, 2000) e na ETE-Belém (Curitiba-PR), que tem realizado experimentos em pequenas propriedades agrícolas (ANDREOLI e PEGORINI, 2000).

2.2 Disposição do Lodo para Uso Agrícola

Embora a literatura se concentre nos benefícios e restrições devidos à aplicação do lodo de esgoto para fins de uso agrícola, grande parte dos aspectos apresentados a seguir se aplicam também à disposição do lodo no solo para outras finalidades, como para produção florestal ou recuperação de áreas degradadas.

2.2.1 Benefícios associados à Disposição do Lodo para Uso Agrícola

Estudos relativos à disposição de lodo no solo para fins de aproveitamento agrícola foram intensificados a partir da década de 70, na medida em que as principais formas de disposição do lodo até então utilizadas, a saber, aterros e disposição oceânica estavam se tornando inviáveis, quer fosse economicamente, no caso de aterros, quer fosse por pressões ambientalistas, no caso da disposição oceânica (PAGE et al., 1987).

Um dos trabalhos publicados naquela época (WALKER, 1975) discutiu as possíveis técnicas de incorporação de lodo ao solo, destacando a aplicação direta e a compostagem. Em seqüência, estudos acerca do potencial fertilizante do lodo foram apresentados por Sabey et al. (1977) e Sommers (1977).

Por meio desses trabalhos e de diversos outros que se seguiram (SNYMAN et al., 1998; PEDREÑO et al., 1996; NOGUCHI e ITO, 1992; McLAUGHLIN e CHAMPION, 1987), verificou-se que os efeitos benéficos da aplicação de lodo em áreas agrícolas estavam relacionados a melhorias no condicionamento e na fertilidade dos solos. Esses efeitos foram discutidos por Korentajer (1991) em seu trabalho de revisão sobre os benefícios e potenciais riscos da aplicação agrícola do lodo de esgoto.

Estudos nacionais foram realizados também na década de 70 e início da década de 80 (BETTIOL et al., 1983; CARVALHO e BARRAL, 1981; SANTOS, 1979), entretanto, tais estudos não foram continuados nos anos seguintes. Apenas recentemente, projetos relacionados ao estudo dos efeitos benéficos da aplicação de lodo em solos agrícolas foram retomados (BETTIOL e CAMARGO, 2001, BERTON et al., 2000; MELO e MARQUES, 2000).

O efeito do lodo no condicionamento de solos está relacionado com o aumento da porosidade e diminuição da densidade do solo, aumentando, assim, a taxa de infiltração de água. Por outro lado, a presença de matéria orgânica no lodo, promove o aumento da capacidade de retenção de água, de forma a reduzir a ocorrência de erosões (MELO e MARQUES, 2000; KORENTAJER, 1991).

O potencial fertilizante do lodo é devido à presença dos macronutrientes nitrogênio, fósforo, enxofre, cálcio e magnésio e; dos micronutrientes cobre, ferro, manganês, zinco, molibdênio e boro (MELO e MARQUES, 2000), que podem ser utilizados em complementação à fertilização mineral ou como única fonte desses nutrientes (KORENTAJER, 1991). Devido à solubilidade do potássio na fase líquida do efluente tratado, as concentrações desse macronutriente são, em geral, abaixo de 0,1% (m/m), havendo a necessidade de suplementação de potássio em solos recebendo lodo de esgoto (BETTIOL e CAMARGO, 2001).

Embora o lodo de esgoto possa apresentar composições bastante variadas, sua composição em matéria orgânica é, em geral, estimada em 40 % (m/m), enquanto os nutrientes nitrogênio e fósforo são estimados em 4 % e 2 %, respectivamente (USDA, 1980 apud MELO e MARQUES, 2000).

Estudos nacionais sobre o fornecimento de nutrientes, pelo lodo de esgoto, para diversas culturas agrícolas têm sido publicados por diversos autores (COSTA et al., 2001;

MELO e MARQUES, 2000; SILVA et al., 2000; FAVARETTO et al., 1997; SILVA, 1995). Os efeitos nutricionais sobre o cultivo de *Eucalyptus grandis* em solos com aplicação de lodo gerado na RMSF têm sido estudados por uma parceria realizada entre o Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, a Sabesp e a Esalq. Os resultados preliminares obtidos foram reportados por Gonçalves et al. (2000) e Poggiani et al. (2000).

De modo geral, os estudos citados demonstram a viabilidade da utilização de lodo de esgoto como fertilizante orgânico, associado ou não a fertilizantes minerais, tanto para o cultivo florestal, quanto para culturas agrícolas diversas.

A aplicação de lodo de esgoto em áreas agrícolas pode apresentar ainda um efeito benéfico no controle de fitopatógenos veiculados pelo solo, conforme indica os resultados obtidos por Bettioli e Santos (2001). Aparentemente, esse controle está relacionado com o aumento da atividade microbiana do solo pela aplicação do lodo e com a própria microbiota contida na matéria orgânica do lodo, de forma a aumentar a competição antagônica entre os microrganismos fitopatogênicos e aqueles presentes no lodo.

2.2.2 Restrições associadas à Disposição do Lodo para Uso Agrícola

A disposição de lodo em áreas agrícolas ou de produção florestal, apesar de promover diversas melhorias na qualidade do solo, apresenta restrições de uso, relacionadas, principalmente, à presença de metais e de organismos patogênicos, que podem contaminar os produtos cultivados, os trabalhadores que tenham entrado em contato com o lodo, ou ainda, embora mais dificilmente, as águas superficiais e subterrâneas que possam receber estes contaminantes pela ação de águas pluviais (KORENTAJER, 1991).

Embora as principais restrições à aplicação de lodo em solos agrícolas estejam relacionadas à presença de organismos patogênicos e metais, uma variedade de compostos orgânicos de difícil degradação, tais como, hidrocarbonetos clorados, pesticidas, bifenilas policlorados (PCBs), dioxinas, entre outros, têm recebido maior atenção quanto ao risco de contaminação de áreas agrícolas e corpos d'água adjacentes, tendendo-se, portanto, ao controle, também, de alguns desses compostos (SILVA et al., 2001).

2.2.2.1 Presença de Organismos Patogênicos

Embora a maioria dos organismos presentes no lodo não apresente riscos à saúde humana, diversas espécies patogênicas de vírus, bactérias, fungos, protozoários e helmintos

podem ser encontradas no lodo (SILVA et al., 2001; TSUTIYA, 2001a; FERNANDES, 2000). Embora a simples presença desses agentes patogênicos não seja condição suficiente para infecção humana e animal, ela se constitui em uma das principais causas da baixa aceitação pública do uso de lodo em áreas agrícolas (US EPA, 1999).

O risco de contaminação por organismos patogênicos está associado ao número de organismos viáveis presentes no lodo e ao tempo de sobrevivência desses organismos nos diferentes meios, a saber, solo, água, vegetais e outros produtos agrícolas. Thomaz-Soccol e Paulino (2000), em um trabalho de revisão sobre os riscos associados à contaminação de sistemas agrícolas pela aplicação de lodo, relacionaram os diferentes organismos patogênicos possíveis de serem encontrados no lodo, as doses mínimas infectantes e o tempo de sobrevivência nos diferentes meios.

O tempo de sobrevivência de agentes patogênicos é função da espécie considerada e das características do meio, tais como, umidade, pH, temperatura e competição inter-espécie (SILVA et al., 2001; THOMAZ-SOCCOL et al., 1997).

Por sua vez, o número de agentes patogênicos e a diversidade das espécies presentes no lodo são determinados pelas características epidemiológicas da população servida e, pelo processo de tratamento ao qual o lodo foi submetido antes de sua aplicação ao solo (SILVA et al., 2001).

Estudos comparativos (GANTZER et al, 2001; HU et al., 1996; GASPARD et al., 1995) indicaram que os processos de tratamento de lodo por compostagem, digestão anaeróbia termofílica e estabilização química (caleação) apresentam maior decaimento da população de agentes patogênicos, quando comparados aos processos de digestão mesofílica, estocagem de lodo desidratado mecanicamente e, estocagem em lagoas. Em outro estudo comparativo, Shaban (1999) analisou diferentes formas de compostagem, tendo observado maior eficiência na diminuição da população de bactérias indicadoras e *Salmonella*, para o sistema de leiras com aeração forçada.

Comparini (2001), em um estudo recente utilizando lodo gerado na ETE-Franca, comparou dois sistemas simplificados de higienização de lodo. O primeiro deles consistiu na estocagem do lodo anaeróbio em valas por um período de cerca de um ano, enquanto o segundo processo utilizou-se da secagem do lodo em estufas agrícolas por períodos que variaram entre 70 e 94 dias. A secagem em estufa demonstrou maior efetividade no decaimento de *Escherichia coli*, *Salmonella* e ovos de helmintos, gerando, assim, um lodo com características sanitárias apropriadas para disposição em solos agrícolas.

Além do grande número de processos de tratamento de lodo que podem ser utilizados para reduzir o número de organismos patogênicos, outras formas de controle, relacionadas à forma de aplicação do lodo ao solo, à restrição de acesso às áreas de aplicação e, ao tempo decorrido desde a aplicação até a colheita, permitem a diminuição do risco de contaminação. Algumas dessas formas de controle, detalhadas na literatura (THOMAZ-SOCCOL e PAULINO, 2000; KORENTAJER, 1991), têm sido incorporadas às normatizações nacionais e internacionais para uso do lodo em áreas agrícolas.

2.2.2.2 Presença de Metais: fontes, distribuição das espécies metálicas e riscos associados

Diversas atividades humanas são responsáveis pela presença de metais no lodo de esgoto, sendo, portanto consideradas fontes antropogênicas. Dentre essas atividades, destacam-se aquelas relacionadas à fabricação de produtos químicos, produtos fotográficos, tintas, vernizes e pigmentos, eletrodeposição e acabamento de produtos metálicos, dentre outras (STEPHENSON, 1987).

No Brasil, os efluentes gerados por atividades industriais devem atender a padrões de emissão, determinados pela norma NBR 9800 (ABNT, 1987), antes de serem lançados à rede coletora de esgoto. Dentre esses padrões, encontram-se limites para a concentração dos seguintes elementos: arsênio, cádmio, chumbo, cobre, cromo, estanho, mercúrio, níquel, prata, selênio e zinco. Apesar do estabelecimento desses limites, alguns autores (SILVA et al., 2001) apontam para a necessidade de revisão da norma, dado que seus critérios têm como objetivo apenas garantir a segurança e operacionalidade da rede coletora e do sistema de tratamento de esgoto, sem levar em consideração a qualidade do lodo gerado.

A utilização no âmbito doméstico, comercial ou institucional de produtos de limpeza, cosméticos, medicamentos, tintas e vernizes, pesticidas e produtos automotivos se constitui, igualmente, em uma fonte antropogênica de lançamento de metais no esgoto sanitário, além de outras atividades comerciais como aquelas desenvolvidas em laboratórios de revelação fotográfica, hospitais, consultórios dentários, farmácias de manipulação, laboratórios de análises clínicas, oficinas de manutenção de veículos automotores, dentre outras (STEPHENSON, 1987).

A Tabela 2.1 apresenta algumas das classes de produtos utilizados no âmbito doméstico e comercial, juntamente com os principais metais contidos nesses produtos. Produtos de uso diário, tais como cosméticos e produtos de limpeza, podem apresentar em sua

composição pelo menos um dos seguintes metais: alumínio, cobre, ferro, mercúrio, titânio e zinco, sendo que os cosméticos podem apresentar ainda diversos outros metais.

Atividades de caráter industrial, tais como fabricação de produtos de limpeza, fundição de metais preciosos e, metalização de produtos para a indústria de calçados, podem ser realizadas em pequenas empresas, algumas delas, clandestinas, as quais, em geral, não dispõem de sistemas de tratamento de efluentes, dispendo as águas residuárias diretamente no sistema de coleta de esgoto sanitário (PAULSRUD e NEDLAND, 1997).

Uma última fonte antropogênica de metais constitui-se nos detritos de origem humana. Spector (1956 apud STEPHENSON, 1987) apresentou as concentrações típicas de metais presentes nas fezes humanas, em base seca: zinco, $250 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; cobre, $68 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; chumbo, $11 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; níquel, $4,7 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ e; cádmio, $2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Alguns fenômenos naturais, aliados ou não à atividade humana, também contribuem para o aumento da concentração de metais no lodo. Assim, a percolação de águas pluviais por solos contendo elevadas concentrações de metais pode ocasionar a lixiviação de metais, os quais são carregados para as águas subterrâneas. A infiltração dessas águas na rede coletora de esgoto contribui para o aumento da concentração de metais no esgoto doméstico. Deve-se destacar, entretanto, que a ocorrência e significância dessa forma de contaminação são bastante limitadas (STEPHENSON, 1987).

Tabela 2.1 – Principais metais presentes na composição de diversos produtos de uso doméstico ou comercial.

Elementos	Cosméticos	Produtos de Limpeza e Desinfetantes	Medicamentos e Produtos Odontológicos	Pesticidas	Tintas e Pigmentos	Produtos Fotográficos	Produtos Automotivos
Al	X	X	X	X	X	X	X
Sb			X		X		
As			X	X	X		X
Be	X				X		X
Bi	X		X		X		
Cd	X			X	X		
Cr		X		X	X	X	X
Co	X		X		X		X
Cu	X	X	X	X	X		
Fe	X	X	X	X	X	X	X
Pb	X			X	X	X	X
Mn	X			X	X		
Hg	X	X	X	X	X	X	
Mo				X			X
Ni	X				X		
Se	X				X		
Ag	X					X	
Sn	X				X	X	
Ti	X	X			X		X
Zn	X	X	X	X	X		X

Fonte: Adaptada de ATKINS e HAWLEY, 1978 apud STEPHENSON, 1987.

Finalmente, o arraste de metais pelas águas pluviais corresponde ainda a uma fonte natural, porém relacionada a atividades humanas, principalmente à emissão de particulados para a atmosfera (STEPHENSON, 1987). Embora mais significativa em sistemas únicos de coleta, essa forma de contaminação também pode ocorrer em sistemas separadores, especialmente por meio de infiltrações (STEPHENSON, 1987).

Os metais lançados no esgoto sanitário tendem a se acumular no lodo por processos de adsorção, precipitação ou formação de complexos (LAKE, 1987). A remoção de metais da fase líquida do esgoto e seu acúmulo na fase sólida ocorrem, principalmente, durante o tratamento biológico do esgoto. Assim, durante o tratamento primário são removidos, dependendo do metal considerado, entre 6 e 26 % da concentração de metal presente na fase líquida, enquanto no tratamento biológico, podem ser obtidas remoções próximas a 100 %, para alguns metais, especialmente quando se utiliza o sistema de lodos ativados (MORITA, 1993 apud SILVA et al., 2001).

Desta forma, em função das fontes geradoras de metais e do sistema de tratamento de esgoto empregado, a concentração de metais no lodo poderá variar dentro de uma ampla faixa. Na literatura são encontrados valores médios e faixas de variação da concentração de metais em lodos, destacando-se a coletânea editada por Matthews (1997), que apresenta as concentrações de metais comumente encontradas em ETEs de diversos países, entre eles, China, Egito, França, Japão, Reino Unido e Suécia. No Brasil, valores de concentração média de metais para lodos gerados em diversas estações são reportados por Silva et al. (2001); Tsutiya (2001a); França e Figueiredo (2000).

A variabilidade de metais no lodo, entretanto, não se restringe apenas à concentração total, mas também, à distribuição das espécies metálicas. O conhecimento dessa distribuição, também denominada especiação, torna-se importante para prever o comportamento de metais no lodo e, posteriormente, no conjunto solo-lodo, quanto à sua mobilidade e biodisponibilidade (LAKE, 1987).

Diversos métodos de extração seqüencial têm sido propostos, com a finalidade de quantificar as frações de metais presentes em lodo de esgoto (LAKE, 1987). Dentre esses, o método de Stover et al. (1976), modificado posteriormente por Oake et al. (1984) tem sido continuamente utilizado, sendo possível determinar, por esse método, as seguintes frações: trocável, adsorvida, complexada à matéria orgânica, precipitada na forma de carbonatos e precipitada na forma de sulfetos.

Os estudos de especiação de metais em lodo de esgoto disponíveis na literatura concentram-se, principalmente, na determinação da especiação de metais no conjunto solo-lodo,

geralmente após longos períodos de aplicação de lodo de esgoto ao solo (PLANQUART et al., 1999; WALTER e CUEVAS, 1999) ou, na determinação da especiação de metais no lodo, de forma a permitir inferências sobre a biodisponibilidade dos metais e sua mobilidade, se aplicado ao solo (BURTON, et al., 2003; SCANCAR et al., 2000; ZUFIAURRE et al., 1998; QIAO e HO, 1996). Em ambos os tipos de estudo, os resultados obtidos, entretanto, são bastante controversos e dependentes do metal considerado. Ainda assim, são unânimes quanto à necessidade do estudo de especiação para avaliar o risco de mobilidade dos metais, informação que não pode ser obtida pela simples determinação da concentração total de metal no lodo.

Quanto aos riscos associados à presença de metais no lodo de esgoto, a literatura aponta para as seguintes possibilidades: (a) acúmulo na cadeia trófica, podendo comprometer a saúde humana, (b) fitotoxicidade, ocasionando a perda ou diminuição da produtividade agrícola; (c) alterações na diversidade microbiana do solo, de forma a afetar os processos metabólicos que asseguram a nutrição das plantas e; (d) contaminação de águas superficiais pelo arraste de metais pelas águas pluviais.

Em uma de suas publicações, a Agência de Proteção Ambiental norte-americana (US EPA, 1989 apud CHANG et al., 1992) resumizou as principais vias de contaminação humana por metais quando da disposição de lodo em áreas agrícolas ou de pastagem. Resumidamente, os metais presentes no lodo, se incorporados ao solo, podem se acumular na cadeia trófica por meio de sua assimilação por plantas, e seu consumo por animais destinados ao abate, sendo então acumulados no organismo humano. Ou ainda, podem ser ingeridos, pelo consumo de culturas agrícolas ou pela utilização de águas superficiais contaminadas. Outras vias possíveis de contaminação compreendem a inalação de partículas geradas pela aplicação do lodo ao solo e a ingestão de solo contendo lodo, especialmente por crianças.

Dentre essas vias, os estudos existentes se concentram, principalmente, sobre o acúmulo de metais em plantas, investigando, assim, os possíveis efeitos fitotóxicos. Nesses estudos, diversos aspectos foram avaliados, entre eles: a assimilação diferencial pelos tecidos vegetais (HILL, S. J. et al., 1996; MORENO et al., 1996; KEEFER et al., 1979; KELLING et al., 1977), a influência da composição e do pH do solo (KNIGHT et al., 1998; HUE e RANJITH, 1994; VALDARES et al., 1983; MORTVEDT e GIORDANO, 1975) e, da taxa de aplicação de lodo (BHOGAL et al., 2003; MULCHI et al., 1987; VALDARES et al. 1983) no acúmulo de metais no solo e nos tecidos vegetais.

Esses autores utilizaram diferentes tipos de lodo, alguns deles contaminados artificialmente com metais, outros oriundos de áreas estritamente residenciais e, outros ainda, com contribuição de efluentes industriais.

Os resultados obtidos por esses trabalhos apontam, em geral, para o aumento da concentração total de metal no solo, com acúmulos maiores para taxas de aplicação mais elevadas e, a ocorrência desse acúmulo na camada superficial do solo, entre 0 e 10 cm de profundidade; correlação positiva entre o aumento da fração solúvel de metais no solo e a diminuição da produtividade agrícola; maior assimilação de metais pelas partes aéreas das culturas, especialmente, as folhas e; minimização da assimilação de metais pelas culturas quando utilizados solos com valores de pH acima de 7,0.

O objetivo principal dos estudos de fitotoxicidade compreende a determinação de taxas de aplicação de lodo ao solo, de forma a garantir uma diminuta redução da produtividade agrícola pelo efeito fitotóxico dos metais e, principalmente, um baixo risco de acúmulo desses metais na cadeia trófica. Entretanto, alguns estudos ressaltam que os efeitos tóxicos de alguns metais, especialmente cádmio, podem ocorrer em seres humanos em concentrações muito inferiores às necessárias para que seja verificado algum efeito tóxico em culturas agrícolas (CHANEY et al., 1987).

Apesar disto, estudos para estabelecer limites fitotóxicos foram realizados e utilizados pela Agência de Proteção Ambiental norte-americana (US EPA, 1993 apud US EPA, 2002) com a finalidade de estabelecer taxas de aplicação de lodo que minimizassem o risco de contaminação humana por metais. Dentre esses estudos, destaca-se o trabalho publicado por Chang et al. (1992), que estabeleceram, com base em dados reportados por diversos outros autores, valores de referência para as taxas de aplicação de lodo de forma a não ultrapassar 50 % de retardamento do crescimento de culturas agrícolas devido aos efeitos de fitotoxicidade.

Embora diversos estudos tenham sido realizados, os efeitos de fitotoxicidade ainda demandam estudos adicionais, uma vez que o aumento da concentração de sais no solo devido à aplicação de lodo também pode influenciar negativamente o crescimento das culturas, sendo difícil separar os efeitos devidos aos metais e aqueles devidos aos sais (VALDARES et al., 1983). Adicionalmente, o estabelecimento de limites de aplicação que sejam seguros para a saúde humana requer, ainda, um número maior de experimentos conduzidos em campo e por longos períodos, uma vez que a grande maioria dos estudos foi conduzida em casas de vegetação ou, com tempos de aplicação de lodo ao solo que variaram de 1 a 5 anos (RENNER, 2000).

A necessidade de um número maior de estudos também se faz presente para avaliar, de modo mais satisfatório, os efeitos da presença de metais no lodo sobre a atividade microbiana do solo. Giller et al. (1998) traçaram um perfil dos diversos trabalhos publicados na área e, concluíram que a disparidade de resultados obtidos não permite ainda estabelecer a extensão

dos benefícios ou prejuízos causados pelos metais, adicionados via lodo, aos microrganismos e aos processos microbianos existentes em solos agrícolas. A principal razão apontada para esta discrepância refere-se ao grande número de diferentes testes utilizados e à dificuldade de garantir que a biodisponibilidade dos metais seja a mesma, entre os diferentes experimentos e, até mesmo, dentro de um mesmo conjunto de ensaios.

De fato, a partir de alguns desses textos, verifica-se a utilização de diversos métodos de avaliação, tais como monitoramento de espécies sensíveis, como protozoários ciliados (CAMPBELL et al., 1997) ou *Rhizobium* (OBBARD, 2001) ou, métodos que empregam medida de biomassa e respiração microbiana (FILCHEVA et al., 1996) ou aumento da tolerância a metais (KELLY et al., 1999) como parâmetros para determinar a atividade metabólica. Desses textos, apenas Filcheva et al. (1996) reportaram não terem encontrado nenhum efeito prejudicial da presença de metais na atividade metabólica.

De todos os possíveis efeitos da presença de metais no lodo, a contaminação de águas superficiais e subterrâneas pela aplicação de lodo ao solo apresenta o menor número de estudos publicados. Ainda assim, dois estudos foram publicados recentemente, nos quais se utilizou solos tropicais, que são naturalmente ácidos e, portanto, podem aumentar potencialmente a migração de metais pelo perfil do solo. O primeiro desses trabalhos (JOSHUA et al., 1998) foi realizado na Austrália, em um campo de pastoreio de ovelhas, sem apresentar um aumento significativo na concentração de metais, tanto nas águas de escoamento superficial, quanto nas águas de drenagem, após aplicação de lodo por um período de um ano e meio. No segundo trabalho, Cornu et al. (2001) utilizaram-se de um latossolo, proveniente do município de Suzano-SP e, de lodo gerado na ETE-Barueri (SP), que foram acondicionados em um sistema de colunas preenchidas com a mistura solo-lodo. Esses autores verificaram um aumento da concentração dos metais ferro, chumbo, cobre e, especialmente, níquel, nas águas de drenagem e de escoamento superficial, embora a concentração final, segundo os autores, tenha sido mantida abaixo do limite estabelecido para águas potáveis na Comunidade Européia.

De modo geral, a preocupação maior de contaminação de corpos d'água adjacentes a regiões com aplicação de lodo de esgoto relaciona-se ao potencial aumento da concentração de nitratos, devido aos riscos à saúde humana se essas águas forem utilizadas para abastecimento. Tanto assim, que as taxas de aplicação de lodo ao solo são definidas de modo a não exceder a necessidade de nitrogênio recomendada para as culturas (SANTOS, 2001).

2.2.3 Normatização para Uso Agrícola do Lodo de Esgoto

A crescente aplicação de lodo de esgoto em áreas agrícolas, intensificada em meados da década de 80, obrigou as autoridades de alguns países, especialmente dos Estados Unidos e da Comunidade Econômica Européia, a estabelecer critérios para definir a qualidade sanitária do lodo e as formas de aplicação no solo, de modo a minimizar o impacto ambiental devido à presença de organismos patogênicos e de metais no lodo (US EPA, 2002).

Apesar dos constantes esforços e reavaliações dos critérios estabelecidos, os estudos, e as conseqüentes discussões, sobre os efeitos da presença de metais e de compostos orgânicos recalitrantes no lodo ainda devem perdurar nos próximos anos. As questões referentes ao controle de organismos patogênicos e aos processos necessários para diminuir a atratividade de vetores, entretanto, parecem estar mais satisfatoriamente resolvidas.

Com relação aos organismos patogênicos, para a maioria das normas, foram estabelecidos valores máximos para a presença de coliformes fecais, *Salmonella* e ovos viáveis de helmintos (SANTOS, 2001).

A norma norte-americana, conhecida como 40 CRF Part 503 (US EPA, 1993 apud US EPA, 2002), publicada em 22 de março de 1993, estabelece duas classes de lodo, definidas em função da concentração de organismos indicadores. Para lodos Classe A, deve ser atendido um dos seguintes critérios, definidos em base seca²: número de coliformes fecais inferior a 10^3 NMP·g⁻¹ ou, número de *Salmonella* inferior a 3 NMP·4g⁻¹. Além desses critérios, a norma americana estabelece ainda que lodos Classe A devem, por meio de processos de tratamento para redução adicional de organismos patogênicos, atender ainda a um dos seguintes limites: número de ovos viáveis de helmintos inferior a uma unidade viável por 4g de lodo seco; ou número de vírus entéricos inferior a 1 UFP·4g⁻¹. Para lodos Classe B, os critérios são menos exigentes, de forma que deve ser atendido o limite de coliformes fecais inferior a 2×10^6 NMP·g⁻¹ (ou 2×10^6 UFC·g⁻¹).

Os lodos Classe A podem ser aplicados ao solo, sem restrições, desde que atendam aos limites de concentração de metais. Quanto aos lodos Classe B, podem ser utilizados na agricultura, porém com restrições quanto à forma de aplicação e ao manuseio dos produtos cultivados. Essas restrições e práticas de manejo impostas pela norma 40 CRF Part 503 foram apresentadas por Carvalho e Carvalho (2001), que revisaram as legislações existentes sobre

² NMP: número mais provável; UFP: unidade formadora de placa; UFC: unidade formadora de colônia.

biossólidos³. Esses mesmos autores também apresentam os processos de tratamento aceitos pela referida norma para redução do número de organismos patogênicos (lodos Classe B) e para redução adicional de organismos patogênicos (lodos Classe A), bem como aqueles necessários para redução da atratividade de vetores.

Na Comunidade Econômica Européia, a utilização de lodo em áreas agrícolas é regulamentada pela Diretiva 86/278/EEC, promulgada em 1986 (CEC, 1986). Embora não sejam apresentados limites quanto à presença de organismos patogênicos no lodo, alguns países da CEE (França, Itália e Luxemburgo) estabeleceram seus próprios limites, para a presença de *Salmonella*, enterovírus, ovos de helmintos e enterobactérias (EUROPEAN COMMUNITIES, 2001).

Embora as preocupações quanto à qualidade sanitária do lodo possa levar à inclusão de limites para a presença de outros organismos, além daqueles citados acima (US EPA, 2002), as maiores controvérsias ainda residem nos limites de metais no lodo e nos métodos para de estabelecimento desses limites.

Para ilustrar a diversidade de valores-limite estabelecidos para a concentração de metais no lodo, a Tabela 2.2, apresenta a concentração máxima de metais permitida pela Diretiva 86/278/EEC e por seus países-membro e, aquelas determinadas pela norma norte-americana 40 CRF Part 503.

Os países nórdicos (Suécia, Finlândia e Noruega), além da Dinamarca, Holanda e Bélgica são os que apresentam valores mais restritivos, seguidos pela Alemanha e Áustria. Os Estados Unidos são, de longe, o país com limites mais abrangentes, à exceção dos limites para chumbo.

Renner (2000), em sua avaliação dos limites estabelecidos para a presença de metais no lodo, esclarece que as diferenças observadas são devidas aos métodos utilizados para definição das concentrações-limite. Assim, os países nórdicos estabeleceram seus limites na tentativa de minimizar o acúmulo de metais no solo. Desta forma, a entrada de metais, via lodo, foi equiparada à saída de metais do solo, ocorrida pelo seu acúmulo nos tecidos vegetais, e pela lixiviação e arraste dos metais pela erosão e percolação até as águas subterrâneas, resultando, portanto, em limites bastante restritivos.

³ A designação “biossólidos” foi sugerida pela Water Environment Federation (WEF) em 1993 para lodos obtidos por tratamento biológico de esgoto sanitário, cujas características permitam sua utilização de forma sustentável, principalmente pela sua destinação final em áreas agrícolas (US EPA, 2002).

Tabela 2.2 – Concentrações-limite para a presença de metais no lodo de esgoto, conforme estabelecido pelas normas norte-americana e europeia. Os valores destacados correspondem a concentrações-limite fixadas em valores inferiores à Diretiva Europeia.

	Concentração-limite de Metais em Lodo de Esgoto (mg·kg ⁻¹ lodo seco)							
	As	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
Estados Unidos (40 Part 503)	41 - 75	39 - 85		1.500 - 4.300	17 - 57	420	300 - 840	2.800 - 7.500
CEE (Diretiva 86/278/EEC)		20 - 40		1.000 - 1.750	16 - 25	300 - 400	750 - 1.200	2.500 - 4.000
Alemanha		10	900	800	8	200	900	2.500
Áustria								
Região Sul		2	50	300	2	25	100	1.500
Região Norte		10	500	500	10	100	400	2.000
Bélgica								
Flandres	150	6	250	375	5	100	300	900
Walloon		10	500	600	10	100	500	2.000
Dinamarca	25	0,8	100	1.000	0,8	30	120	4.000
Espanha								
solo c/ pH < 7		20	1.000	1.000	16	300	750	2.500
solo c/ pH > 7		40	1.750	1.750	25	400	1.200	4.000
Finlândia		3	300	600	2	100	150	1.500
França		20	1.000	1.000	10	200	800	3.000
Grécia		20 - 40	500	1000 - 1.750	16 - 25	300 - 400	750 - 1.200	2.500 - 4.000
Holanda		1,25	75	75	0,75	30	100	300
Irlanda		20		1.000	16	300	750	2.500
Itália		20		1.000	10	300	750	2.500
Luxemburgo		20 - 40	1000 - 1.750	1000 - 1.750	16 - 25	300 - 400	750 - 1.200	2.500 - 4.000
Portugal		20	1.000	1.000	16	300	750	2.500
Suécia		2	100	600	2,5	50	100	800

Fonte: Adaptada de EUROPEAN COMMUNITIES, 2001.

Por sua vez, embora as autoridades norte-americanas e holandesas tenham utilizado a técnica de análise de risco para estabelecer suas concentrações-limite, os valores obtidos resultaram extremamente diversos (Tabela 2.2). A própria Agência de Proteção Ambiental norte-americana, em sua última revisão da norma (US EPA, 2002), comenta a razão dessa diferença, notada também por Renner (2000). As autoridades holandesas estabeleceram como alvo, em sua análise de risco, os microrganismos presentes no solo e os processos ocorridos no solo que são mediados por esses organismos, ao passo que, a agência americana definiu como organismos-alvo os seres humanos, animais e culturas agrícolas. Uma vez que esses organismos-alvo estão situados em níveis superiores da cadeia trófica, as concentrações de metais que podem causar danos a esses organismos resultaram mais elevadas que aquelas possivelmente prejudiciais aos organismos presentes no solo (RENNER, 2000).

Os métodos utilizados durante a elaboração da análise de risco pela Agência de Proteção Ambiental norte-americana encontram-se detalhadamente descritos por autores nacionais (SANTOS, 2001; CUNHA e AQUINO NETO, 2000).

A revisão realizada recentemente na norma americana teve como objetivo atualizar os métodos de análise de risco utilizados na versão original elaborada em 1993. Os resultados obtidos e disponibilizados (US EPA, 2002), embora não sejam definitivos, não alteraram os limites estabelecidos para a concentração de metais. Nessa revisão, também foi estudada a necessidade de inclusão de alguns compostos orgânicos (dioxinas, furanos e PCBs), entretanto, nenhum limite foi estabelecido para esses compostos. Apenas os países Alemanha, Áustria, Bélgica, Dinamarca, França e Suécia apresentam limites para a presença de compostos orgânicos no lodo de esgoto (EUROPEAN COMMUNITIES, 2001).

Além do estabelecimento de limites para a concentração de metais no lodo, as normas americana e europeia estabelecem, ainda, limites para a concentração de metais acumulados no solo, como resultado da aplicação de lodo (Tabelas 2.3 e 2.4).

Segundo a norma americana, para lodos cuja concentração de metais esteja abaixo da concentração-limite estabelecida (Tabela 2.3, coluna 2), não existe restrição quanto ao uso, podendo, inclusive, serem comercializados. Para lodos cuja concentração-limite, para um ou mais metais, ultrapasse os valores estabelecidos, desde que se mantenham abaixo da concentração máxima (Tabela 2.3, coluna 1), a aplicação no solo deve ocorrer segundo as taxas de aplicação recomendadas (coluna 3 da Tabela 2.3) de forma a não ultrapassar o limite de concentração de metais acumulados no solo (coluna 4) (US EPA, 2002).

Tabela 2.3 – Valores estabelecidos pela norma-americana 40 CRF Part 503 para concentração de metais no lodo e para a concentração de metais acumulada no solo.

Elemento	Concentração Máxima	Concentração-limite para aplicação sem restrições ^(a)	Taxa de aplicação anual máxima	Carga cumulativa máxima em solos agrícolas
	(mg·kg⁻¹)^(b)	(mg·kg⁻¹)^(b)	(kg·ha⁻¹·ano⁻¹)^(b)	(kg·ha⁻¹)^(b)
	[1]	[2]	[3]	[4]
As	75	41	2	41
Cd	85	39	1,9	39
Cr	(3.000) ^(c)	(1.200) ^(c)	(150) ^(c)	(3.000) ^(c)
Cu	4.300	1.500	75	1.500
Pb	840	300	15	300
Hg	57	17	0,85	17
Mo	75	(18) ^(c)	(0,90) ^(c)	(18) ^(c)
Ni	420	420	21	420
Se	100	(36) ^(c) 100	5	100
Zn	7.500	2.800	140	2.800

^(a) Média mensal.

^(b) Base seca.

^(c) Em 1994, os valores para molibdênio foram excluídos, permanecendo apenas a restrição para concentração máxima. Os valores para cromo foram excluídos em 1995, enquanto selênio teve sua concentração-limite aumentada para 100 mg·kg⁻¹ lodo seco.

Fonte: Adaptada de BASTIAN, 1997.

A Tabela 2.4 apresenta as concentrações-limite para metais acumulados no solo estabelecidas pela Diretiva 86/278/EEC, bem como os valores que estão sendo propostos. Os limites estabelecidos pela norma americana foram inclusos para fins de comparação, tendo sido obtidos a partir dos valores de carga cumulativa máxima apresentados na Tabela 2.3 (coluna 4) e, apresentados em $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ por Renner (2000). De modo geral, a norma européia apresenta valores mais restritivos quanto à concentração de metais no solo, com tendência a tornar-se ainda mais restritiva, mesmo para solos com pH acima de 7 (EUROPEAN UNION, 2000).

Tabela 2.4 – Concentrações-limite para acúmulo de metais no solo devido à aplicação de lodo, conforme normas norte-americana e européia.

	Concentração-limite de Metais no Solo ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) ^(a)						
	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
Estados Unidos (40 Part 503)	20	-	750	8	210	150	1.400
CEE (Diretiva 86/278/EEC) ^(b)	1 - 3	-	50 - 140	1 - 1.5	30 - 75	50 - 300	150 - 300
CEE (Proposição)							
Solos com pH:							
5 ≤ pH ≤ 6	0,5	30	20	0,1	15	70	60
6 ≤ pH ≤ 7	1	60	50	0,5	50	70	150
pH ≥ 7	1,5	100	100	1	70	100	200

^(a) Base seca.

^(b) Diretiva atual, estabelecida para solos com pH entre 6 e 7.

Fontes: EUROPEAN UNION, 2000; RENNEN, 2000.

Os limites estabelecidos pela Diretiva européia foram utilizados como referência pelo Reino Unido, uma vez que este país não estabeleceu limites para a concentração de metais no lodo, tendo criado um comitê independente (ISC, 1993 apud RENNEN, 2000) que avaliou estudos de aplicação de lodo no solo por períodos superiores a 10 anos. Com base nesses estudos, foram estabelecidos limites para o acúmulo de metais no solo, de forma a proteger a microbiota presente, especialmente os organismos fixadores de nitrogênio.

No Brasil, ainda não existe legislação federal sobre a utilização de lodo de esgoto para fins agrícolas, embora o Ministério da Agricultura e Abastecimento esteja ciente da necessidade de promover uma revisão da legislação existente sobre fertilizantes, corretivos e inoculantes (Leis Federais 6.894/80 e 6.934/81 e Decretos Federais 86.955/82 e 99.427/90), de forma a regulamentar o uso de lodo de esgoto como insumo agrícola (CARVALHO e CARVALHO, 2001).

As iniciativas de estabelecer limites para a presença de metais e organismos patogênicos no lodo foram tomadas pelo Estado de São Paulo e pelo Estado do Paraná. Em São Paulo, a Cetesb elaborou a Norma P4.230 (CETESB, 1999), publicada em 4 de dezembro de 1999, estabelecendo os procedimentos, critérios e requisitos para a elaboração de projetos, implantação e operação de sistemas de aplicação de lodos oriundos do tratamento biológico de efluentes sanitários em áreas agrícolas.

O estabelecimento de limites quanto à presença de organismos patogênicos e de metais tomou como base a norma norte-americana, discutida anteriormente. Assim, os lodos foram classificados em Classe A ou B, de acordo com a presença de patógenos, enquanto os limites adotados para a concentração de metal no lodo e para a concentração acumulada no solo foram aqueles apresentados na Tabela 2.3, ressaltando-se que a norma elaborada pela Cetesb incluiu um valor máximo para o acúmulo de cromo no solo, que não consta, atualmente, da norma americana.

O Estado do Paraná tem uma proposta de normatização sendo examinada pelo Instituto Ambiental do Paraná, cujos limites propostos para metais no lodo são, em base seca: cádmio, $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; cobre, $1000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; Ni, $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; chumbo, $750 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; zinco, $2.500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; mercúrio, $16 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ e, cromo, $1.000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (SANTOS, 2001). Tais limites são bastante restritivos, encontrando-se, para todos os metais, exceto chumbo, abaixo da concentração-limite para aplicação sem restrições determinada pela norma americana (Tabela 2.3, coluna 2).

2.3 Características Operacionais da Estação de Tratamento de Esgoto do Município de Franca-SP (ETE-Franca)

Uma vez que as amostras de lodo de esgoto utilizadas neste trabalho foram obtidas na ETE-Franca (SP), cabem algumas considerações sobre suas características operacionais. Essa Estação, em operação desde março de 1998, atende parte da população urbana do município de Franca-SP (VANZO et al., 2001). A Estação ocupa uma área de 20 hectares, estando localizada junto à margem esquerda do Córrego dos Bagres, próximo à Rodovia Cândido Portinari.

No ano de 2.001, a vazão média diária de esgoto afluente à Estação foi de $273 \text{ L}\cdot\text{s}^{-1}$, com uma produção média de lodo, após desaguamento, de $35 \text{ m}^3\cdot\text{dia}$, contendo 20 % de sólidos totais (BUENO, 2003). A estação opera um sistema de lodos ativados convencional, cujo fluxograma está apresentado na Figura 2.1. As principais operações e processos envolvidos incluem (COMPARINI, 2001; VANZO et al., 2001):

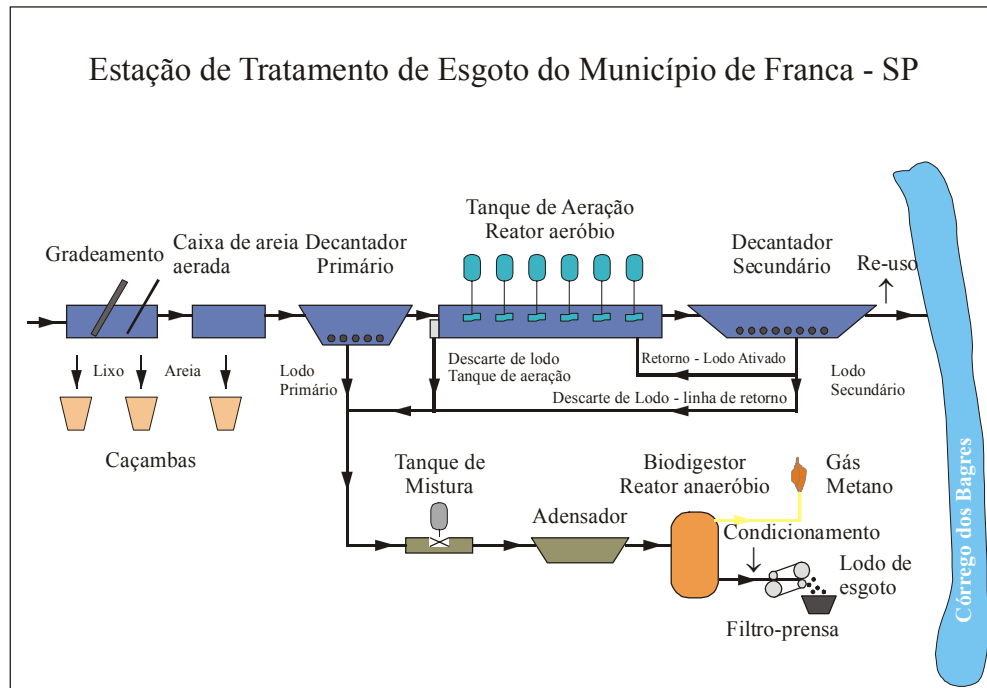


Figura 2.1 – Fluxograma de operação da Estação de Tratamento de Esgoto de Franca-SP (ETE-Franca).

1. Tratamento da fase líquida:

- a) Gradeamento: operação composta por uma grade grossa, de limpeza manual, e por duas grades finas de limpeza mecanizada;
- b) Caixa de areia aerada: o sistema possui duas caixas de areia, dispostas em paralelo, funcionando alternadamente;
- c) Medidor de vazão: a vazão do esgoto afluyente é medida em uma Calha Parshall, utilizando um sistema de detecção por ultra-som (essa operação não está representada na Figura 2.1);
- d) Decantadores primários: são operados três decantadores primários, com a remoção do lodo sendo efetuada por raspadores rotativos. O tempo de residência médio é de 3,3 horas;
- e) Tanques de aeração: o sistema apresenta três tanques de aeração, para os quais são encaminhados os efluentes dos decantadores primários. Para esses tanques são recirculados parte do lodo biológico proveniente dos decantadores secundários, atingindo-se, assim, um tempo médio de retenção celular de 8,9 horas;
- f) Decantadores secundários: o efluente dos tanques de aeração alimentam três decantadores secundários, cujo tempo de residência médio é de 9,3 horas. O efluente vertido desses decantadores é lançado no Córrego dos Bagres, embora a tendência seja de reaproveitamento do efluente tratado, dentro da própria Estação ou para outros fins.

2. Tratamento da fase sólida:

- a) Tanque de mistura: nesse tanque são homogeneizados o lodo oriundo do decantador primário (lodo primário) e, o excedente de lodo biológico, proveniente dos decantadores secundários (lodo secundário), iniciando-se, assim, as etapas de tratamento da fase sólida do esgoto;
- b) Adensador: a mistura de lodos primário e secundário é encaminhada para esta unidade, sendo retirada como lodo adensado com concentração de sólidos totais entre 1,5 e 3,0 % ($15 \text{ a } 30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), por um sistema de raspadores rotativos;
- c) Biodigestores: constituídos por dois digestores primários, onde ocorre a digestão anaeróbia, propriamente dita, e por um digestor secundário, onde ocorre o adensamento do lodo digerido. O tempo de residência nos digestores primários varia entre 16 e 32 dias e, no digestor secundário, entre 8 e 16 dias. Os biodigestores operam à temperatura ambiente, em geral, compreendida entre 25 e 29°C;
- d) Sistema de coleta e queima de gases: os gases gerados nos biodigestores são coletados por dutos independentes, tendo sua vazão medida antes de serem conduzidos a dois queimadores;
- e) Condicionamento e desidratação do lodo: o lodo digerido e adensado é adicionado de polieletrólito catiônico antes de ser desidratado em um filtro-prensa do tipo esteira. O teor de sólidos do lodo desidratado varia entre 18 e 20 % ($180 \text{ a } 200 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$).

Em outubro de 1999, a ETE-Franca (SP) recebeu o Registro de Estabelecimento Produtor de Insumo Agrícola, concedido pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento (VANZO et al., 2001), pela geração de lodo Classe B, cujas características o classificam como condicionador de solos. O produto recebeu o nome comercial Sabesfértil e tem sido distribuído a agricultores interessados, mediante apresentação de um projeto de aplicação agrícola elaborado por engenheiro agrônomo, seguidas as orientações de um manual elaborado pela Sabesp para utilização do lodo (SABESP, 2001).

2.4 Processos para Solubilização de Metais presentes em Lodo de Esgoto

2.4.1 Processos Químicos

Em meados da década de 70, o estudo publicado por Scott e Horlings (1975) tinha como objetivo principal aumentar a eficiência do processo de incineração do lodo pela

remoção prévia de metais e fosfatos presentes em quantidades significativas no lodo. Para tanto, foram utilizados ácidos inorgânicos diluídos (H_2SO_4 e HCl), com os quais foram acidificadas amostras de lodo digerido anaeróbio. Com esse procedimento, os autores obtiveram solubilizações elevadas de alumínio, ferro, fosfato e zinco (da ordem de 80 a 100 %) e, concluíram que a solubilização ácida de metais e de fosfato presentes no lodo poderia ser considerada como um processo tecnicamente viável.

Nessa mesma época, McNulty et al. (1978) publicaram os resultados obtidos pelo tratamento ácido de lodo a quente. Nesse caso, o objetivo principal do trabalho era o desenvolvimento de um processo de condicionamento do lodo que fosse tão eficiente quanto o tratamento térmico, mas com custo de operação mais modesto. A solubilização de metais devida à acidificação era, portanto, um evento secundário nesse estudo.

Para sua realização, amostras de lodo biológico, proveniente de um sistema de lodos ativados, foram acidificadas com H_2SO_4 até pH final entre 2,0 e 3,0 e, em seguida, aquecidas a temperaturas moderadas (80 a 100°C) por períodos variáveis entre 10 e 60 min. Para efeito de comparação, amostras de lodo foram também condicionadas por tratamento térmico (aquecimento a $180\text{-}190^\circ\text{C}$ por 30 min) e por tratamento químico (adição de FeCl_3 ou de polieletrólito), tendo-se comparado o grau de separação sólido-líquido obtido após cada tratamento. O processo de tratamento ácido a quente mostrou-se mais eficiente que o condicionamento químico, mas com valores de taxas de separação bastante inferiores ao tratamento térmico. Como vantagens do processo investigado, os autores apontaram a solubilização de metais, especialmente zinco e níquel (81 e 79 %, respectivamente) e, a redução do número de organismos patogênicos, fatores importantes para uma possível disposição do lodo em áreas agrícolas, segundo os autores.

Uma vez verificado que a acidificação de lodo com ácidos inorgânicos promovia a solubilização de metais, alguns autores (NAOUM et al., 2001; ABREGO, 1996; WOZNIAK e HUANG, 1982) se dedicaram a investigar as melhores condições para realização desse processo. Dentro os fatores estudados, destacam-se: a natureza do ácido utilizado, sua concentração, a relação sólido/líquido, o tempo de contato e, a influência de parâmetros, tais como pH e concentração de sólidos totais na eficiência de solubilização.

De modo geral, os resultados obtidos por esses autores foram concordantes quanto ao uso de H_2SO_4 , por proporcionar melhor solubilização, em oposição ao H_3PO_4 e, quanto à facilidade de solubilização dos metais cádmio, zinco e níquel, que, em geral, apresentaram solubilização acima de 80 %, enquanto a solubilização de cromo, cobre e chumbo mostrou-se, em geral, baixa (menor que 40%) e bastante dependente das condições do processo.

Na tentativa de substituir os ácidos inorgânicos, ou de minimizar seu consumo, alguns processos foram propostos, com destaque para a utilização de agentes oxidantes associados a ácidos inorgânicos, utilização de compostos de ferro III e de ácidos orgânicos.

O estudo realizado por Kastanek et al. (1994) utilizou associações de agentes oxidantes (gás cloro e ozônio) a ácidos inorgânicos (HCl e H₂SO₄), tendo-se observado solubilizações de, aproximadamente, 90 % para cobre e 50 % para chumbo, quando amostras de lodo secundário foram acidificadas a pH 3,0, e borbulhadas com gás cloro. Os resultados obtidos com ozônio foram, em geral, menos eficientes.

A solubilização de metais utilizando compostos de ferro III foi investigada por Ito et al. (2000), tendo-se utilizado sulfato férrico hidratado (Fe₂(SO₄)₃·nH₂O). O princípio da solubilização envolve a dissolução do cátion [Fe(H₂O)_n]³⁺ e, a conseqüente produção de íons H⁺, bem como o ataque do íon Fe³⁺ aos sulfetos metálicos presentes no lodo. O estudo foi realizado acidificando-se amostras de lodo digerido anaeróbio, pela adição do sulfato férrico hidratado, até pH 3,0. Paralelamente, algumas amostras foram acidificadas, também até pH 3,0, utilizando-se H₂SO₄. A utilização de sulfato férrico resultou em velocidades de solubilização mais elevadas para os metais cádmio e zinco, embora as solubilizações finais tenham resultado idênticas entre os dois processos. Resultados ainda mais significativos foram obtidos para cobre, que apresentou 70 % de solubilização final pelo procedimento utilizando sulfato férrico, contra 36 % de solubilização obtida utilizando-se ácido sulfúrico.

Veeken e Hamelers (1999) apresentaram um trabalho inédito sobre o uso de ácidos orgânicos para lixiviação de metais em lodo. Segundo esses autores, a solubilização não é devida apenas ao fenômeno de abaixamento de pH, mas também à complexação dos metais para formação de compostos solúveis. Desta forma, a utilização de ácido cítrico ou oxálico, cujos ânions são fortes complexantes, poderia permitir a solubilização de metais em condições de pH mais brandas (entre 3,0 e 5,0).

Os resultados obtidos demonstraram que a solubilização de cobre e zinco na presença de ácido cítrico, para valores de pH acima de 3,0, apresentou valores mais elevados que aqueles obtidos pela utilização de HNO₃. Para a condição de pH abaixo de 3,0, entretanto, valores de solubilização mais elevados foram obtidos pela utilização do ácido inorgânico, devido à protonação do ácido cítrico. Os autores concluíram que os ácidos orgânicos, principalmente o cítrico, poderiam ser utilizados como uma alternativa viável de solubilização de metais, principalmente devido à possibilidade de recuperação de parte desses reagentes.

A despeito dos estudos citados, o desenvolvimento do processo biológico de lixiviação bacteriana aplicado a lodo de esgoto fez surgir estudos comparativos (SREEKRISHNAN e

TYAGI, 1996; 1994; STRASSER et al., 1995; COUILLARD e MERCIER, 1994), que, de modo geral, apontam para a maior viabilidade econômica do processo biológico, pela utilização de compostos (enxofre elementar ou sulfato ferroso) com menor valor agregado que os ácidos inorgânicos, orgânicos ou os demais oxidantes investigados.

2.4.2 Processo Biológico: lixiviação bacteriana

2.4.2.1 Origens e Aplicações

O emprego de técnicas de lixiviação bacteriana, ou biolixiviação, para extração de metais é conhecido desde a Idade Média. Foi no século XVIII, entretanto, que a extração de cobre das minas do Rio Tinto na Espanha deu início à utilização dessas técnicas em escala industrial (ROANE et al., 1996). Embora desconhecido naquela época, a solubilização de cobre durante o processo de extração era resultado de atividade microbiana. Posteriormente, a utilização de microrganismos na recuperação de metais preciosos, ou economicamente importantes, foi denominada Biohidrometalurgia.

Como conseqüência de sua eficiência e viabilidade econômica, a lixiviação bacteriana tem sido aplicada em escala industrial para recuperação de cobre, urânio e, mais recentemente, de ouro, em vários países, destacando-se os Estados Unidos, Canadá, África do Sul, Rússia, Espanha, Chile, México, Bulgária e Austrália (GARCIA JÚNIOR e URENHA, 2001).

Além das aplicações em processos industriais, pesquisas sobre a obtenção de metais estratégicos como gálio, utilizados em sensores óticos de alto desempenho, por meio de técnicas de lixiviação bacteriana têm sido conduzidas por setores da defesa nacional norte-americana (HEDBERG, 1991).

Segundo Bosecker (2001), a lixiviação bacteriana apresenta ainda aplicações potenciais relacionadas à biorremediação para remoção de metais presentes em áreas de mineração desativadas, em resíduos industriais, tais como cinzas de incineração, em sedimentos fluviais e em solos contaminados por metais. Aplicações para recuperação de níquel e cádmio presentes em baterias de telefones móveis também têm sido reportadas (CERRUTI et al., 1998).

A lixiviação bacteriana apresenta ainda um significativo potencial para descontaminação de emissões gasosas contendo H_2S . Processos com essa finalidade têm sido utilizados comercialmente no Japão, segundo Jordan et al. (1996). No Brasil, estudos dessa

natureza foram apresentados recentemente por Maia e Silva (2003) e Oprime (2001), tendo-se obtido eficiências de remoção de H₂S superiores a 90%, em ambos os trabalhos.

2.4.2.2 Bactérias envolvidas no Processo

O processo de lixiviação bacteriana é conduzido por microrganismos sulfo- e ferro-oxidantes, especialmente as bactérias do gênero *Thiobacillus*, embora espécies do gênero *Beggiatoa* sejam também capazes de oxidar formas reduzidas de enxofre (GARCIA JÚNIOR, 1997), assim como as arqueobactérias pertencentes ao gênero *Sulfolobus* (BROOK et al., 1997). O gênero *Beggiatoa* apresenta poucas espécies conhecidas, podendo ocorrer como células isoladas ou em filamentos e são quimioorganotróficas ou autotróficas facultativas. Ocorrem em regiões-limítrofes, entre anóxicas e aeróbias, especialmente em sedimentos marinhos (HOLT et al., 1994). Quanto ao gênero *Sulfolobus*, caracteriza-se por ser termofílico, apresentando crescimento em temperaturas situadas entre 55 e 87°C, com crescimento litotrófico ou organotrófico. Em crescimento litotrófico, promovem a oxidação de sulfitos e tetrionato a sulfato, podendo ainda oxidar enxofre elementar (HOLT et al., 1994).

Embora alguns trabalhos tenham sido reportados utilizando espécies do gênero *Sulfolobus*, o gênero *Thiobacillus* encontra-se como o principal gênero relacionado à lixiviação bacteriana (HUTCHINS et al., 1986). Suas espécies apresentam-se como células Gram-negativas, na forma de bastonetes, com dimensões de 0,5 µm de diâmetro por 1,0 a 4,0 µm de comprimento. Algumas espécies apresentam mobilidade por meio de flagelo polar. Todas as espécies são fixadoras de CO₂ atmosférico pelo ciclo de Benson-Calvin, e, portanto, capazes de crescimento autotrófico. Algumas espécies são quimiolitotróficas obrigatórias, enquanto outras podem se desenvolver também como quimioorganotróficas. Esse gênero inclui ainda organismos estritamente aeróbios e outros desnitrificantes facultativos (KELLY e HARRISON, 1989).

Devido à grande variabilidade das características fisiológicas e filogenéticas entre suas espécies, o gênero *Thiobacillus* foi, recentemente, reclassificado, por Kelly e Wood (2000), que propuseram a criação de três novos gêneros, a saber: *Acidithiobacillus*, *Thermithiobacillus* e *Halothiobacillus*.

As espécies do novo gênero *Acidithiobacillus* compreendem *A. ferrooxidans*, *A. thiooxidans*, *A. caldus* e *A. albertensis*. Esse gênero caracteriza-se por ser obrigatoriamente aeróbio e obrigatoriamente acidofílico, com pH ótimo menor que 4,0. As espécies mesofílicas

apresentam temperatura ótima entre 30 e 35°C, e a espécie moderadamente termofílica (*A. caldus*) apresenta temperatura ótima de 45°C.

O gênero novo *Thermithiobacillus* caracteriza-se por ser obrigatoriamente aeróbio e, moderadamente termofílico, tendo por espécie típica *T. tepidarius*.

As espécies do recém-estabelecido gênero *Halothiobacillus* são neutrofílicas e apresentam a característica de serem tolerantes a concentrações elevadas de sais. Algumas dessas espécies apresentam halofilia moderada para NaCl. São espécies desse gênero: *H. neapolitanus*, *H. halophilus* e *H. hydrothermalis*.

Permaneceram como espécies pertencentes ao gênero *Thiobacillus* os organismos: *T. thioparus*, *T. denitrificans*, *T. aquaesulis*, *T. novellus*, *T. delicatus*, *T. plumbophilus* e *T. prosperus*, essas duas últimas espécies ainda não validadas (KELLY e WOOD, 2000).

A maioria das espécies de thiobacilli⁴ promove a oxidação de formas reduzidas de enxofre a sulfato. Embora os mecanismos de oxidação não estejam completamente elucidados, as observações experimentais têm apontado para o acúmulo extracelular de enxofre precipitado, quando sulfetos, incluindo-se H₂S, são utilizados como substrato (BROOK et al., 1997). Este fenômeno é explicado pela oxidação desses compostos a enxofre elementar, mediada por sistemas enzimáticos existentes no espaço periplasmático da membrana celular. A oxidação de enxofre elementar a sulfito (SO₃²⁻) ocorre por mecanismos ainda não esclarecidos (SUZUKI et al., 1992). Por fim, a oxidação de sulfito a sulfato ocorre, no interior das células, por duas possíveis rotas.

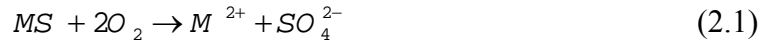
Na primeira rota, o sulfito é oxidado a sulfato pela enzima sulfito-oxidase, com formação de ATP via fosforilação oxidativa. Na segunda, o sulfito é oxidado após combinação com AMP, formando adenosina fosfosulfato, composto energético que pode reagir com fosfato inorgânico para formar ADP e sulfato. Assim, parte da energia gerada pela oxidação de sulfitos é produzida via fosforilação em nível de substrato (VanDEMARK e BATZING, 1987).

2.4.2.3 Mecanismos da Lixiviação Bacteriana

A lixiviação bacteriana de metais pode ocorrer diretamente, como parte integrante do metabolismo bacteriano, ou indiretamente, por exemplo, pela ação de ácidos produzidos durante o metabolismo (HUTCHINS et al., 1986).

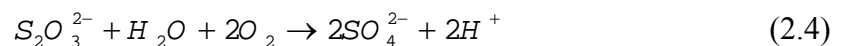
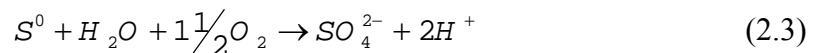
⁴ Para efeito de simplificação, adotou-se, neste trabalho, a denominação “thiobacilli” para designar genericamente as bactérias envolvidas no processo de lixiviação bacteriana, pertencentes ao gênero *Thiobacillus* e aos novos gêneros descritos por Kelly e Wood (2000).

No mecanismo direto, os sulfetos metálicos são oxidados a sulfatos, de acordo com a Equação 2.1, onde MS representa o sulfeto de metal bivalente.



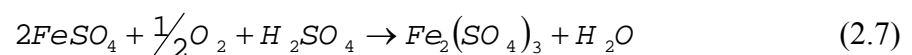
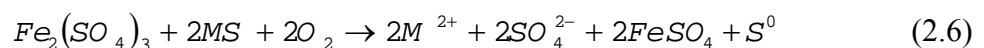
A oxidação direta de sulfetos metálicos por *A. ferrooxidans* foi demonstrada para: NiS, ZnS, CoS, PbS e Cu₂S (HUTCHINS et al., 1986).

No mecanismo indireto, formas reduzidas de enxofre, tais como, gás sulfídrico (H₂S), enxofre elementar (S⁰) e, tiosulfato (S₂O₃²⁻) são oxidadas a ácido sulfúrico (Equações 2.2 a 2.4). A produção de ácido sulfúrico promove então a solubilização dos metais presentes nas diversas formas químicas, genericamente indicadas por R na Equação 2.5.



Dentre as espécies que oxidam enxofre elementar, encontram-se: *T. thioparus*, *A. ferrooxidans*, *A. thiooxidans*, *T. denitrificans*, *T. delicatus*, *A. albertensis*, *H. neapolitanus* e *T. tepidarius* (KELLY e HARRISON, 1989).

Ainda sobre o mecanismo indireto, a solubilização de metais pode ocorrer pela oxidação de formas químicas como sulfetos, por exemplo, por íons férricos (Equação 2.6). Na presença da bactéria *A. ferrooxidans*, os íons ferrosos formados na Equação 2.6 são reoxidados a íons férricos (Equação 2.7).



O enxofre elementar (S⁰) produzido na Equação (2.6) é subsequenteemente oxidado por ação bacteriana a ácido sulfúrico, conforme indicado na Equação (2.3), aumentando, assim, a taxa de solubilização dos metais (HUTCHINS et al., 1986).

2.4.2.4 Histórico do Desenvolvimento do Processo Biológico aplicado a Lodo de Esgoto

Os primeiros passos em direção à aplicação do processo de lixiviação bacteriana para solubilização de metais presentes em lodo de esgoto foram dados por pesquisadores, que investigavam as diferentes formas metálicas presentes no lodo anaeróbio, com vistas a compreender o efeito desses metais sobre a cinética da degradação anaeróbia. Nesse contexto, foram publicados dois trabalhos sobre a distribuição das espécies metálicas em lodo de esgoto anaeróbio.

No primeiro deles, Hayes e Theis (1978) determinaram que os metais cádmio, cromo, cobre, chumbo, níquel e zinco estavam presentes no lodo em duas frações preponderantes: na forma de precipitados inorgânicos e, associados à biomassa do lodo. Nesse estudo, os autores demonstraram que os metais associados à biomassa estavam presentes principalmente no interior das células, ou seja, como complexos intracelulares. Tal observação experimental não foi confirmada por outros autores, sendo, ao contrário, contestada em outros trabalhos (KASTANEK et al., 1994; GOULD e GENETELLI, 1978). Ainda assim, o trabalho de Hayes e Theis (1978) apresentou uma importância histórica dentro do presente contexto.

Tanto assim, que a partir desses resultados, um segundo trabalho foi publicado pelos mesmos autores (THEIS e HAYES, 1980), no qual foram determinadas, teoricamente, as possíveis formas químicas dos metais presentes no lodo como precipitados inorgânicos. Para tanto, os autores utilizaram equações de equilíbrio químico para reações de óxido-redução e de equilíbrio ácido-base para os sistemas carbonato, fosfato, sulfeto, hidróxido e óxido. A partir dessas equações foram elaborados diagramas que estabelecem as formas químicas dos metais em função do pH e do potencial de óxido-redução (E_h), ou do parâmetro equivalente dado por pE^5 . A Figura 2.2 apresenta o diagrama obtido para o metal cobre. Os diagramas obtidos para cromo, chumbo, níquel e zinco estão apresentados no Anexo A.

Com base nos diagramas elaborados, os autores verificaram que, nas condições de pH e E_h normalmente encontradas em um biodigestor anaeróbio (área em destaque na Figura 2.2), os metais cobre, níquel, chumbo e zinco estariam presentes, principalmente, na forma de sulfetos, enquanto o metal cromo, não apresentando formas estáveis conhecidas de sulfetos, estaria presente, principalmente, como hidróxido.

⁵ O parâmetro pE , definido por $pE = -\log a_{e^-}$, onde a_{e^-} corresponde à atividade eletrônica, pode ser calculado por (MANAHAN, 1993): $pE = E_h / 2,303 \times (RT/F)$, em que, R , constante dos gases perfeitos, T , temperatura absoluta, F , constante de Faraday.

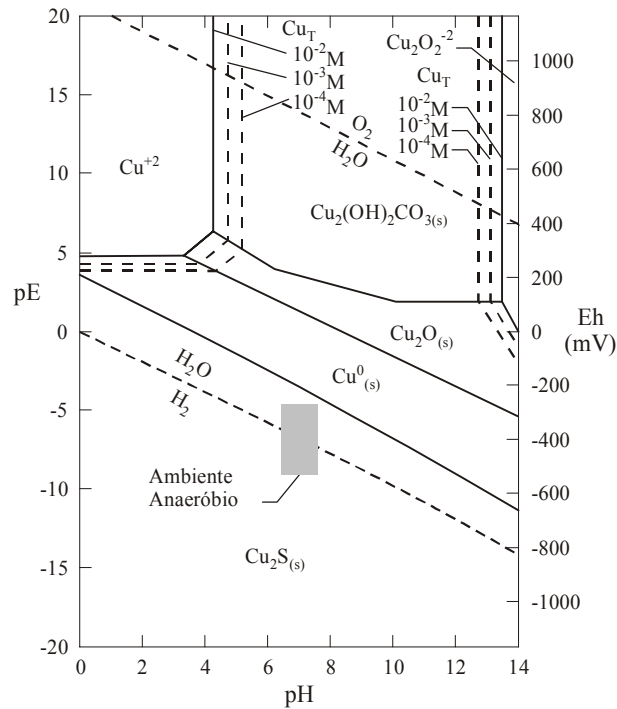


Figura 2.2 – Diagrama de formas químicas predominantes para o metal cobre em função das condições de pH e de potencial de óxido-redução (E_h) do meio. (Fonte: THEIS e HAYES, 1980).

Em outro trabalho, Hayes et al. (1981) manifestaram seu entendimento de que a solubilização de metais presentes no lodo seria função da distribuição das espécies metálicas no lodo. De posse dos diagramas pH vs. E_h , os autores argumentaram que apenas a acidificação do lodo não bastaria para a solubilização dos metais e que, portanto, era necessário que, simultaneamente ao abaixamento do pH, ocorresse o aumento dos valores de E_h , de forma que o binômio pH- E_h deslocasse o equilíbrio para a forma de íons livres. Certamente, os autores não estavam aqui considerando a fração complexada à matéria orgânica, mas apenas a fração inorgânica dos metais presentes no lodo.

Para verificar sua hipótese, esses autores trabalharam com uma mistura de lodo primário e secundário, esse último proveniente de um sistema de lodos ativados, a qual foi submetida a um dos seguintes processos de digestão: (i) anaeróbia, que resultou em baixos valores de E_h , geralmente inferiores a -300 mV ou, (ii) aeróbia, com valores de E_h mais elevados, da ordem de 500 mV. Após a digestão, ambos os lodos foram acidificados a pH 2,0 com ácidos inorgânicos. Como resultado, obtiveram-se solubilizações da ordem de 80 e 40 % para cobre e cromo, respectivamente, quando foi utilizado lodo aeróbio, enquanto para o lodo anaeróbio, as eficiências obtidas foram de 10 e 5 %, respectivamente, para os mesmos metais. Diante desse

resultado, os autores demonstraram a necessidade não apenas de abaixamento do pH, mas também de elevação do E_h para que a solubilização das espécies precipitadas ocorresse.

Este é justamente o princípio de operação da lixiviação bacteriana que, por meio da oxidação biológica de fontes reduzidas de enxofre a sulfato, ou de íons ferrosos a íons férricos, proporciona o abaixamento do pH e o aumento do potencial oxidante do meio (ROSSI, 1990).

Com base no trabalho publicado por Hayes et al. (1981) e nos trabalhos anteriores, Wong e Henry (1984) propuseram a utilização da lixiviação bacteriana como forma de oxidação biológica, que simultaneamente, elevaria o potencial de óxido-redução, conforme recomendado por Hayes et al. (1981) e ainda, provocaria o abaixamento do pH, necessário para a solubilização de metais.

O trabalho de Wong e Henry (1984) foi seguido pelos pesquisadores canadenses Tyagi et al. (1988) e Tyagi e Couillard (1987), que se dedicaram, durante a primeira metade da década de 90, a verificar a aplicabilidade do processo de lixiviação bacteriana para solubilização de metais presentes em lodo de esgoto.

Nesse contexto, deve-se destacar entretanto, o trabalho de Schönborn e Hartmann (1978), que ainda antes da publicação dos trabalhos de Hayes e Theis, propuseram a utilização das bactérias *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* para solubilização de metais presentes no lodo. Embora pioneiro, esse estudo não foi continuado por seus autores, tornando-se uma referência de pouca menção.

Os trabalhos publicados pelo grupo canadense, citado anteriormente, têm ocupado majoritariamente o espaço destinado a esses estudos, embora, mais recentemente, possam ser encontrados alguns trabalhos, ainda esparsos, provenientes de outros países, entre eles China, Austrália e Japão (WONG et al., 2002; XIANG et al., 2000; SHANABLEH e GINIGE, 1999; ITO et al., 1998). Estudos referentes à aplicação de lixiviação bacteriana para solubilização de metais presentes em lodos gerados no tratamento de efluentes industriais têm sido reportados mais recentemente (SHEN et al., 2002; SOLISIO et al., 2002).

2.5 Aplicação da Lixiviação Bacteriana para Solubilização de Metais em Lodo de Esgoto

Tendo-se estabelecido que a solubilização de metais presentes em lodo de esgoto era possível de ser efetivada utilizando-se o processo de lixiviação bacteriana (TYAGI et al., 1988; TYAGI e COUILLARD, 1987; WONG e HENRY, 1984; SCHÖNBORN e

HARTMANN, 1978), alguns trabalhos dedicaram-se à investigação dos fatores de influência e das condições ótimas de operação do processo.

2.5.1 Fatores de Influência no Processo

Lombardi e Garcia Júnior (1999), em um trabalho de revisão, apresentaram os principais fatores que afetam o processo de lixiviação bacteriana quando aplicado a lodo de esgoto. A eficiência desse processo depende, primariamente, da produção de ácido sulfúrico, para solubilização de formas metálicas diferentes de sulfetos, conforme pode ser depreendido dos mecanismos de lixiviação apresentados anteriormente.

A produção de ácido sulfúrico, por sua vez, é controlada pelo desenvolvimento das espécies de thiobacilli presentes durante o processo, sendo, portanto, função da natureza e concentração do substrato e das condições de temperatura e pH. Além desses fatores, outros relacionados à característica do lodo, como sua concentração de sólidos totais e os tratamentos a que foi submetido, podem ainda interferir na eficiência e na cinética do processo de lixiviação, principalmente devido a modificações ocorridas na capacidade tamponante do lodo e na distribuição das formas metálicas presentes no lodo (LOMBARDI e GARCIA JÚNIOR, 1999).

Dentre esses parâmetros, a definição da espécie ou espécies de thiobacilli que se pretende empregar na lixiviação tem um papel fundamental, dado que essa condição define outros parâmetros, tais como natureza do substrato que será empregado, temperatura e pH inicial de operação do processo.

Por similaridade aos processos de Biohidrometalurgia, grande parte dos trabalhos publicados sobre lixiviação bacteriana de metais em lodo utilizou a espécie *A. ferrooxidans* (COUILLARD e CHARTIER, 1993; COUILLARD e MERCIER, 1993; TYAGI, 1992; COUILLARD et al., 1991; TYAGI et al., 1991; 1990; WONG e HENRY, 1984), uma vez que essa espécie tem sido a mais comumente empregada em processos comerciais de lixiviação bacteriana (HUTCHINS et al., 1986).

Estudos comparativos, (COUILLARD e ZHU, 1992; TYAGI e COUILLARD, 1991; TYAGI et al., 1988; TYAGI e COUILLARD, 1987), entretanto, revelaram que a utilização de *A. thiooxidans* em associação com a espécie *A. ferrooxidans* produzia valores de pH final mais baixos e, conseqüentemente, eficiências de solubilização mais elevadas, especialmente para cobre e chumbo.

Como inconveniente, entretanto, a utilização dessas duas espécies, em associação ou separadas, apresentavam a necessidade de ajuste do pH a valores próximos a 4,0, uma vez que, sendo espécies acidofílicas, não são passíveis de se desenvolverem em valores de pH acima de 5,0 (KELLY e HARRISON, 1989). Essa necessidade de ajuste do pH inicial e, portanto, de consumo de ácido inorgânico, levou à investigação (BLAIS et al., 1993a; BLAIS et al., 1992a; JAIN e TYAGI, 1992) de espécies neutrofílicas de thiobacilli que poderiam promover o abaixamento do pH desde 6,0-7,0 até 4,0. Como resultado, esses autores verificaram que pelo menos uma espécie neutrofílica de thiobacilli estaria presente nos lodos estudados, a espécie *T. thioparus*.

Diante da possibilidade de promover a acidificação do lodo sem a necessidade de adição de ácidos inorgânicos, Blais et al. (1992b) desenvolveram um método de enriquecimento de thiobacilli sulfo-oxidantes endógenos, de modo que o lodo enriquecido nessa microbiota, poderia ser utilizado como inóculo para os ensaios de lixiviação, sem a necessidade de manutenção de culturas puras, ou de adaptação das mesmas ao lodo, representando, assim, uma vantagem significativa para a implementação do processo. De modo análogo, Tyagi et al. (1993a) estabeleceram um procedimento semelhante para o enriquecimento de thiobacilli ferro-oxidantes.

Investigações sobre o efeito de parâmetros, tais como temperatura, pH inicial e concentração de sólidos totais, sobre a eficiência do processo de lixiviação bacteriana foram conduzidas em estudos isolados, ora utilizando lodo tratado aerobiamente e inoculado com thiobacilli endógenos sulfo-oxidantes (BLAIS et al., 1993b; TYAGI et al., 1993b), ora utilizando lodo anaeróbio inoculado com uma cultura pura de *A. ferrooxidans* (COUILLARD e CHARTIER, 1993; TYAGI, 1992). Alguns estudos (JAIN e TYAGI, 1993) investigaram ainda o efeito da concentração inicial de enxofre elementar e da concentração de inóculo na cinética de acidificação do lodo.

2.5.2 Alterações ocorridas no Lodo de Esgoto decorrentes da Lixiviação Bacteriana

A imposição de condições enérgicas, de baixo pH e elevado potencial de óxido-redução, levou ao estudo das alterações ocorridas no lodo, principalmente quanto às suas características fertilizantes e sanitárias, ou seja, quanto à disponibilização de nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo, e à alteração do número de organismos patogênicos.

Os resultados obtidos, entretanto, mostraram-se controversos. Henry et al. (1991) não observaram decaimento do número de organismos indicadores (coliformes totais e fecais e,

estreptococos fecais) para lodos com concentração de sólidos totais acima de 10 g·L⁻¹. Contrariamente, Blais et al. (1992c) reportaram declínios acima de 90% na população desses organismos para lodos digeridos (aeróbios) e não-digeridos (secundários), submetidos à lixiviação bacteriana, ainda que com concentração de sólidos totais de 17 g·L⁻¹.

Quanto à disponibilidade de nitrogênio e fósforo, os trabalhos existentes também apresentaram resultados bastante diversos. Shanableh e Ginige (1999) reportaram um aumento na fração de nitrogênio mineral, variando desde 10 até 43 %, dependendo do lodo estudado, enquanto o aumento da fração de fósforo solúvel variou entre 16 e 65 %. Entretanto, variações significativas também foram observadas nos controles utilizados. O trabalho publicado por Couillard e Mercier (1993), entretanto, não relatou qualquer solubilização significativa de fósforo ou aumento da fração mineral de nitrogênio durante experimentos de lixiviação bacteriana conduzidos em processo contínuo, utilizando a espécie *A. ferrooxidans*.

2.6 Considerações sobre a Problemática da Remoção de Metais presentes em Lodo de Esgoto Sanitário

Certamente, a presença de metais em lodo de esgoto sanitário tornou-se um problema ambiental apenas quando as alternativas para disposição do lodo tornaram-se mais restritivas, ou foram abolidas, como a disposição oceânica, tendendo-se, assim, à sua utilização como fertilizante orgânico, ou como condicionador de solos.

A rigor, a concentração de metais em lodo sanitário não deveria atingir níveis elevados, dado que as contribuições de metais por excrementos humanos são baixas. Entretanto, atividades comerciais e industriais, cujos efluentes são lançados na rede pública, elevam a concentração de metais, sendo essa contribuição tanto maior quanto maior a característica industrial da população servida.

A utilização de produtos diversos no âmbito doméstico também se constitui em uma importante fonte de metais no esgoto, que tende a aumentar em importância com o crescimento da “sociedade de consumo” nos países em desenvolvimento.

Uma vez que o controle das fontes geradoras de metais não se constitui em uma tarefa facilmente implementável, e pode, ainda, requerer modificações nas normas vigentes, a remoção de metais do lodo, antes de sua disposição agrícola, pode se tornar uma necessidade.

Paralelamente, a intensificação de estudos para estabelecimento de limites seguros para a presença de metais no lodo e no solo pode se constituir em uma forma auxiliar de

resolução do problema, uma vez que as controvérsias sobre os limites estabelecidos possivelmente irão continuar por mais algum tempo, especialmente devido às discordâncias quanto aos métodos utilizados para definição desses limites.

Com relação aos processos de remoção de metais presentes no lodo, as primeiras tentativas foram aquelas mais prontamente disponíveis, ou seja, da utilização de ácidos inorgânicos e de complexantes para solubilização dos metais. O processo biológico, entretanto, similar àquele utilizado para extração de metais de minérios de baixo teor, apresentou-se como uma alternativa viável, embora oponentes a essa alternativa apontem para as dificuldades operacionais relativas à separação dos metais após a solubilização. De fato, estudos dessa natureza foram, até o momento, vagamente discutidos na literatura.

Exatamente por essa razão, deve-se investigar, primeiramente, a viabilidade técnica do processo, procurando por condições que minimizem suas dificuldades operacionais, como a utilização de espécies endógenas para inoculação do lodo e a operação do processo em condições de pH, temperatura, entre outras, que demandem baixo consumo energético e de insumos, de modo que os estudos quanto à viabilidade de separação dos metais solubilizados sejam conduzidos em uma segunda etapa de desenvolvimento do processo.

Até o momento, investigações quanto à aplicação de lixiviação bacteriana em lodo de esgoto foram realizadas, principalmente, pelo grupo de pesquisadores canadenses, citado nesta revisão, com algumas exceções. Considerando que o lodo, ainda que obtido de um mesmo processo de tratamento, pode apresentar características muito diversas, dado à natureza da população servida e das atividades realizadas por essa população, estudos nacionais devem ser conduzidos de forma a serem obtidos dados relacionados às condições de saneamento existentes no País.

No Brasil, poucos estudos foram realizados referentes à lixiviação bacteriana de metais em lodo. Takamatsu (1995) apresentou um estudo pioneiro, utilizando a espécie *A. ferrooxidans*, isolada de lodo aeróbio gerado na ETE-Belém (Curitiba-PR). Entretanto, em seu trabalho, foi realizada a contaminação artificial do lodo, pela adição de metais na forma de sulfetos, o que compromete, em parte, os resultados obtidos, uma vez que, por esse procedimento, altera-se a distribuição das formas metálicas presentes originalmente no lodo.

Em um estudo comparativo, realizado por Lombardi e Garcia Júnior (2001), utilizaram-se as espécies *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans*, isoladas previamente de minas de urânio (GARCIA JÚNIOR, 1991), para solubilização de metais presentes em lodo adensado, gerado em tanque séptico, localizado em Campinas-SP. Os resultados obtidos mostraram que

a espécie *A. thiooxidans* proporcionou melhores condições de lixiviação, atingindo-se eficiências de solubilização acima de 60 % para cobre, manganês e zinco.

Mais recentemente, França (2003) apresentou os resultados obtidos com a lixiviação bacteriana de metais presentes em amostras de lodo digerido anaeróbio gerado pela ETE-Barueri (SP), utilizando as espécies *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans*, isoladas por Garcia Júnior (1991), as quais foram inoculadas simultaneamente. As eficiências de solubilização obtidas foram: cádmio, 73 %; cobre, 77 %; cromo, 49 %; chumbo, 62 %; níquel, 79% e, zinco, 83 %. Após lixiviação, o lodo foi centrifugado e aplicado em experimentos agrônômicos de cultivo de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), tendo-se obtido concentrações de metais nas sementes, abaixo dos limites fitotóxicos recomendados, enquanto, para o lodo não submetido à lixiviação de metais, a concentração de cobre nas sementes resultou acima do limite fitotóxico.

No contexto dos trabalhos nacionais que tratam da lixiviação de metais em lodo de esgoto, o presente trabalho se propôs a estudar a aplicação do processo de lixiviação bacteriana no lodo de esgoto gerado pela Estação de Tratamento de Esgoto do município de Franca-SP (ETE-Franca) para solubilização dos metais cromo, cobre, chumbo, níquel e zinco, tendo-se como objetivos: (i) a definição do tipo de lodo a ser empregado ao longo do projeto, digerido (anaeróbio) ou não-digerido; (ii) o estudo do efeito da temperatura, do pH inicial e da concentração de sólidos totais sobre a eficiência e a cinética do processo de lixiviação bacteriana, em ensaios utilizando thiobacilli endógenos como inóculo; (iii) a determinação das alterações ocorridas no lodo, após lixiviação, quanto à distribuição das frações de nitrogênio e fósforo e, quanto à variação do número de bactérias indicadoras. Em função de resultados obtidos ao longo do trabalho, investigou-se, ainda, o desenvolvimento dos thiobacilli endógenos durante ensaios de lixiviação bacteriana e, a alteração na distribuição das espécies metálicas, decorrente da lixiviação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Lodo de Esgoto

Amostras de lodo de esgoto foram obtidas junto à ETE-Franca (SP). As amostras de lodo digerido anaeróbico foram coletadas na saída do biodigestor, imediatamente antes da alimentação do filtro-prensa. O lodo não-digerido foi coletado imediatamente antes da alimentação do biodigestor, após homogeneização e adensamento dos lodos primário e secundário. Ambos os pontos de coleta podem ser verificados na Figura 3.1.

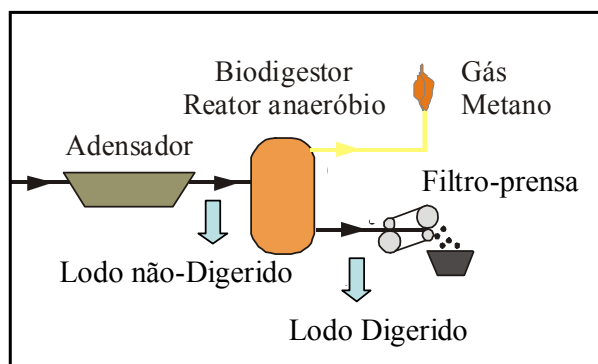


Figura 3.1 – Pontos de coleta dos lodos digerido e não-digerido gerados pela ETE-Franca (SP).

As amostras foram coletadas em frascos de polietileno, com capacidade de 5 L, os quais foram previamente esterilizados utilizando-se uma solução de formaldeído 5% (v/v) por um tempo de contato de 24 h. Em seguida, os frascos foram lavados com água bi-distilada esterilizada e deixados à temperatura ambiente para secagem.

As amostras de lodo de esgoto foram mantidas resfriadas durante o transporte e armazenadas a 4°C até sua utilização, em geral, em um período máximo de uma semana após a coleta. Quando necessário, uma parte da amostra foi esterilizada em autoclave a 121°C por 30 min, ainda no dia da coleta.

3.2 Caracterização Físico-Química

3.2.1 Sólidos Totais

Para cada amostra de lodo coletada, a concentração de sólidos totais (ST) foi determinada seguindo-se o método descrito pelo Standard Methods for the Examination of

Water and Wastewater (APHA et al., 1992). As determinações foram realizadas em cinco réplicas, cada uma delas contendo 50 mL de lodo, deixados evaporar em banho-maria e, em seguida, levados à secagem em estufa à temperatura de 103-105°C, até massa constante.

3.2.2 Metais

A seleção dos metais que seriam analisados ao longo deste trabalho foi realizada tendo-se por base os seguintes critérios:

- a. inclusão dos metais na norma Cetesb P4.230 (CETESB, 1999);
- b. concentração total do metal selecionado no lodo gerado pela ETE-Franca;
- c. inclusão dos metais em estudos de lixiviação bacteriana de lodo de esgoto reportados na literatura.

A norma Cetesb P4.230 estabelece concentrações máximas para os elementos arsênio, cádmio, cobre, chumbo, mercúrio, molibdênio, níquel, selênio e zinco. Embora não tenha sido estabelecido um valor de concentração máxima para cromo, esse metal foi incluído entre os parâmetros que devem ser analisados antes da disposição do lodo em áreas agrícolas.

Dispondo-se de dados sobre a concentração de metais totais no lodo gerado pela ETE-Franca (SP) em janeiro de 2.000 (VANZO et al., 2001), verificou-se que, dentre os elementos constantes da referida norma, arsênio, cádmio, mercúrio, molibdênio e selênio estavam presentes em baixas concentrações, inferiores a 3 mg·kg⁻¹ lodo seco, não justificando, portanto, sua inclusão neste trabalho.

Desta forma, diante das considerações acima, decidiu-se pela análise dos metais cromo, cobre, chumbo, níquel e zinco, ao longo deste projeto, ressaltando-se que, esses metais são os mais comumente investigados em estudos de lixiviação bacteriana de metais em lodo de esgoto.

3.2.2.1 Metais Totais e Metais Dissolvidos

Para cada amostra de lodo coletada, determinou-se a concentração total dos metais selecionados, procedendo-se à decomposição por via úmida do lodo seco, utilizando-se como agente oxidante a mistura HNO₃/H₂O₂. O método empregado baseou-se no procedimento proposto por Delfino e Enderson (1978), ao qual se fez algumas modificações quanto à relação volumétrica lodo/ácido e a inclusão de uma etapa de pré-digestão a frio.

No procedimento utilizado, realizou-se a decomposição de amostras de 5 g de lodo, seco à 103-105°C, dispostas em tubos de vidro com diâmetro de 40 mm. Primeiramente, as amostras foram submetidas a uma pré-digestão a frio, com a adição de 40 mL de HNO₃ (70 % m/m) em duas etapas, seguida da adição de 5 mL de H₂O₂ (30 % v/v). O conjunto foi mantido em repouso por 12 h, após o qual, a mistura foi aquecida a 120°C por 3 h, sob refluxo, em um bloco digestor de alumínio (Sarge-Te, modelo 015/615). O aquecimento foi interrompido por 1 h, para permitir o resfriamento da mistura e a adição de 20 mL de HNO₃, seguidos de 5 mL de H₂O₂. O aquecimento prosseguiu por mais 2 h, aumentando-se a temperatura para 140°C para permitir a diminuição do volume da mistura.

Após um período de repouso de 12 h, a mistura foi filtrada em papel de filtro Whatman n.º 1, seguindo-se a lavagem da torta de filtro e do tubo digestor com água deionizada. O filtrado foi transferido para balão volumétrico de 100 mL. Para cada amostra de lodo coletada, a concentração de metais totais foi determinada em triplicata, com a presença de uma prova em branco.

Adicionalmente à determinação da concentração de metais totais, algumas amostras foram analisadas, ainda, quanto à concentração de metais dissolvidos na fase líquida do lodo. Essa determinação foi realizada, em triplicata, tomando-se alíquotas de 20 mL de lodo recém-coletado (até 12 h após a coleta), as quais foram centrifugadas a 13.000 g por 20 min, sendo o sobrenadante filtrado em membrana de acetato de celulose com porosidade de 0,45 µm (APHA et al., 1992) e preservado por adição de 0,1 mL de HNO₃ (6 M) para cada 9,9 mL de filtrado.

3.2.2.2 Procedimentos Analíticos

Para evitar interferências nas análises de metais, todo o material de laboratório utilizado na caracterização química foi previamente deixado em contato com HNO₃ (1 M) por um período de 24 h e posteriormente lavado com água bi-destilada. Materiais plásticos foram acondicionados em HCl (0,1 M) por 48 h, à temperatura de 65°C. Esse procedimento também foi utilizado para os materiais utilizados nos ensaios de lixiviação bacteriana.

As análises de metais ao longo deste trabalho foram realizadas por espectrometria de emissão atômica em plasma indutivamente acoplado (ICP-AES) em um equipamento com capacidade analítica multi-elementar (Thermo Jarrel Ash, modelo IRIS AP Duo). Os parâmetros de análise e calibração utilizados foram aqueles descritos na literatura (APHA et al., 1992).

3.3 Ensaios de Lixiviação Bacteriana

3.3.1 Obtenção e Manutenção de Inóculos

Para realização do ensaio preliminar de lixiviação bacteriana, utilizando lodo digerido e lodo não-digerido, utilizou-se como inóculo a linhagem *A. thiooxidans* FG01. Essa linhagem foi isolada de efluente ácido de minério de urânio obtido em Figueira-PR (GARCIA JÚNIOR, 1991). A manutenção da linhagem foi realizada por meio de sub-cultivos bimestrais, em meio de cultura “9K” (SILVERMAN e LUNDGREN, 1959), contendo enxofre elementar (S^0) como fonte de energia. A composição e o modo de preparo do meio estão apresentados no Anexo B.

Os sub-cultivos foram incubados em mesa agitadora (New Brunswick, modelo C 25KC) à temperatura de 30°C e 200 rpm, conforme procedimento utilizado por Garcia Júnior (1989) para isolamento e manutenção dessa linhagem.

Para todos os demais ensaios de lixiviação bacteriana utilizou-se um inóculo obtido por enriquecimento do lodo em thiobacilli endógenos. Esse inóculo foi obtido por meio de sucessivos sub-cultivos, conforme procedimento proposto por Blais et al. (1992b) e descrito em seqüência.

Um volume de 150 mL de lodo digerido não-autoclavado, recém-coletado, foi transferido para um Erlenmeyer de 500 mL, previamente esterilizado. O lodo foi suplementado com S^0 , na forma de pó, a uma concentração de 10 g·L⁻¹, sendo então incubado em mesa agitadora a 30°C e 200 rpm. Foram incluídos dois controles para essa acidificação inicial do lodo, os quais continham: (i) lodo não-autoclavado, sem adição de S^0 ; (ii) lodo autoclavado, com adição de S^0 .

No procedimento original de enriquecimento do lodo para obtenção do inóculo, Blais et al. (1992b) procederam às incubações à temperatura de 28°C. Neste trabalho, utilizou-se a temperatura de 30°C por corresponder à temperatura ótima de crescimento para diversas espécies de thiobacilli (KELLY e HARRISON, 1989).

Quando o pH do lodo atingiu valores inferiores a 1,5, foi realizada a transferência de 5 % (v/v) do lodo acidificado para um Erlenmeyer contendo 150 mL de lodo não-autoclavado, suplementado com S^0 (10 g·L⁻¹). Procedeu-se, então, a um novo período de incubação. Esta seqüência de sub-cultivos foi repetida até que as velocidades médias de decréscimo de pH obtidas entre duas transferências sucessivas resultassem idênticas. Ao final deste procedimento, o lodo enriquecido em thiobacilli endógenos foi mantido a 4°C, até seu uso como inóculo nos ensaios de lixiviação bacteriana.

Para manutenção do inóculo obtido, foram realizados sub-cultivos mensais do lodo enriquecido e, sempre que possível, um sub-cultivo recente foi produzido antes da realização de um conjunto de ensaios de lixiviação bacteriana.

3.3.2 Condições Experimentais dos Ensaios de Lixiviação Bacteriana

Os ensaios de lixiviação bacteriana foram realizados em frascos Erlenmeyer de 500 mL, previamente esterilizados. A estes frascos foram adicionados 200 mL de lodo recém-coletado e suplementado com S^0 em pó e esterilizado, a uma concentração de $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Cada frasco foi inoculado (5 % v/v) com um sub-cultivo recente de *A. thiooxidans* FG01 ou de inóculo contendo thiobacilli endógenos. A concentração de substrato (S^0) e o volume de inóculo foram estabelecidos em função do estudo apresentado por Jain e Tyagi (1993).

Os frascos foram incubados em mesa agitadora (New Brunswick, modelo C 25KC) a 200 rpm, à semelhança de diversos estudos de lixiviação descritos na literatura. As condições de temperatura e pH inicial dos ensaios foram estabelecidas conforme o objetivo dos mesmos. Assim, para estudo do efeito de parâmetros de processo sobre a eficiência e a cinética da lixiviação bacteriana, foram realizados três conjuntos de ensaios, resumidos na Tabela 3.1, os quais compreenderam:

1. ensaio preliminar utilizando lodo digerido e lodo não-digerido;
2. conjunto de ensaios para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial;
3. conjunto de ensaios para estudo do efeito da concentração de sólidos totais.

Tabela 3.1 – Condições experimentais dos ensaios de lixiviação bacteriana realizados.

Conjunto de Ensaios	Tipo de Lodo	Inóculo	Temperatura (°C)	pH inicial	Sólidos Totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
n.º 1	lodo digerido e lodo não-digerido	<i>A. thiooxidans</i> FG01	30	4,0	21
			20		
			30		
n.º 2	lodo digerido	thiobacilli endógenos	40	7,0	17
			20		
			30		
n.º 3	lodo digerido	thiobacilli endógenos	40	4,0	10
			30		
			25		
			40		

3.3.2.1 Ensaio preliminar utilizando Lodo Digerido e Lodo não-Digerido

O estudo do tipo de lodo a ser utilizado ao longo do projeto, com base na eficiência de solubilização, foi conduzido em ensaio preliminar utilizando lodo digerido e lodo não-digerido, previamente autoclavados, os quais foram inoculados com a linhagem *A. thiooxidans* FG01. Sendo essa espécie acidofílica (KELLY e WOOD, 2000; KELLY e HARRISON, 1989), fez-se necessário, no início dos ensaios, o ajuste do pH para 4,0. A estabilização do pH do lodo nesse valor foi obtida fazendo-se sucessivos ajustes com H₂SO₄ (1 M) esterilizado. O pH foi medido imergindo-se o eletrodo diretamente no lodo, ou seja, sem a retirada de alíquotas. Para garantir as condições de esterilidade, o eletrodo foi primeiramente imerso em uma solução de formaldeído 5 % (v/v) por 15 min e, em seguida, lavado com água bi-destilada esterilizada. A validação desse procedimento quanto à garantia de esterilidade do eletrodo foi realizada por Bevilaqua-Mascarim (1999).

A inoculação do lodo foi realizada tomando-se um volume de 100 mL de um subcultivo de *A. thiooxidans* FG01 (pH < 1,0), o qual foi filtrado em papel de filtro Whatman n.º 1, para remoção do S⁰ não consumido. O filtrado foi centrifugado a 13.000 g por 20 min e o sobrenadante, descartado. O sedimento obtido foi lavado e ressuspenso em água bi-destilada acidificada a pH 2,8 e esterilizada, a um volume idêntico ao do filtrado que havia sido descartado. Esse procedimento foi utilizado para evitar o abaixamento de pH devido à inoculação do lodo com a cultura de *A. thiooxidans* FG01. A suspensão obtida foi imediatamente utilizada como inóculo para o ensaio de lixiviação, de forma a manter a viabilidade das células. Cada frasco foi inoculado com 5 % (v/v) dessa suspensão.

O ensaio foi realizado em duplicata e incluiu dois controles, para cada um dos lodos: um frasco contendo lodo autoclavado, inoculado, sem adição de S⁰ (controle biológico) e, outro, contendo lodo autoclavado, não-inoculado, com adição de S⁰ (controle químico). Todos os frascos foram incubados a 30°C.

3.3.2.2 Efeito da Temperatura e do pH inicial

Foram estudadas três condições de temperatura, a saber, 20, 30 e 40°C, tendo-se iniciado os ensaios a pH 7,0 e 4,0, conforme apresentado na Tabela 3.1. Nesses ensaios foi utilizado lodo digerido, não-autoclavado, proveniente de uma única coleta, com concentração de sólidos totais de 17 g·L⁻¹. O inóculo utilizado foi aquele obtido por enriquecimento do lodo digerido em thiobacilli endógenos.

Os ensaios foram realizados em duplicata, com a presença de dois controles, para cada condição de pH inicial: (i) lodo digerido, não-autoclavado, inoculado, sem adição de S^0 (controle biológico); (ii) lodo digerido, autoclavado, não-inoculado, com adição de S^0 (controle químico). Os controles foram incubados à temperatura de 30°C.

3.3.2.3 Efeito da Concentração de Sólidos Totais

Para estudo do efeito da concentração de sólidos totais no processo de lixiviação bacteriana foi utilizada uma amostra de lodo digerido de concentração 25 g·L⁻¹. Essa amostra foi diluída com água bi-destilada, previamente esterilizada, para se obter a concentração de sólidos totais de 10 g·L⁻¹. Para as concentrações acima de 25 g·L⁻¹, a saber, 32,5 e 40 g·L⁻¹, o lodo foi centrifugado a 3.300 g por 30 min e o sólido obtido foi adicionado ao lodo de concentração 25 g·L⁻¹. Antes de ser adicionado, entretanto, alíquotas do lodo centrifugado foram retiradas para determinação da concentração de sólidos totais, de forma a permitir calcular a massa de lodo centrifugado a ser adicionada ao lodo original para que se obtivesse as concentrações de sólidos totais desejadas.

O ensaio foi realizado em duplicata, com a inclusão de um controle biológico (lodo digerido, não-autoclavado, inoculado, sem adição de S^0) e um controle químico (lodo digerido, autoclavado, não-inoculado, com adição de S^0) para a condição de sólidos totais de 25 g·L⁻¹. Os frascos foram incubados a 30°C, tendo-se o ensaio iniciado a pH 7,0.

3.3.3 Procedimentos Analíticos

Durante a realização dos ensaios de lixiviação bacteriana, alíquotas de 15 mL foram retiradas periodicamente, para determinação do valor de pH e do potencial de óxido-redução (E_h). As medidas de E_h foram realizadas por eletrodo de platina (Cole-Palmer), previamente aferido com soluções combinadas de Fe^{+2}/Fe^{+3} , de potencial conhecido. Antes da retirada das alíquotas, entretanto, a evaporação ocorrida nos frascos foi corrigida pela adição de volume correspondente de água bi-destilada esterilizada.

Após medida do pH e E_h , as alíquotas foram centrifugadas a 3.300 g por 30 min e o sobrenadante obtido foi filtrado (papel de filtro Whatman n.º 1) e acidificado com 0,1 mL de HNO_3 (6 M) para cada 9,9 mL de filtrado, sendo mantido a 4°C até a análise dos metais, feita por espectrometria (ICP-AES).

Após a determinação da concentração de metais solubilizados pela lixiviação, calculou-se a solubilização, em percentagem, obtida ao longo de cada ensaio realizado. Assim, para cada metal investigado, a solubilização foi calculada pela razão entre a concentração do metal solubilizado e a concentração total do metal no lodo, conforme descrito na Equação 3.1, adaptada de Couillard e Zhu (1992). A concentração de metal solubilizado foi obtida pela diferença entre a concentração de metal determinada na fase líquida do lodo, ou seja, no filtrado obtido de cada alíquota retirada durante o ensaio, e a concentração de metal dissolvida no lodo *in natura*, ou seja, antes de ser submetido à lixiviação (Equação 3.2).

$$\text{Solubilização} = \frac{Me_{lixiv}}{Me_T \times ST \times 0,001} \times 100 \quad (3.1)$$

$$Me_{lixiv} = Me_{FL} - Me_{dis} \quad (3.2)$$

em que,

Me_{lixiv} , concentração de metal solubilizado pela lixiviação bacteriana, em $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;

Me_{FL} , concentração de metal solúvel na fase líquida do lodo, em $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;

Me_{dis} , concentração de metal dissolvido no lodo *in natura*, em $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;

Me_T , concentração de metal total presente no lodo em base seca⁶, em $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ lodo seco;

ST , concentração de sólidos totais, em $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

3.3.4 Análise de Resultados

Os valores de solubilização, obtidos pela aplicação da Equação 3.1 foram ajustados pela equação de Boltzmann, apresentada abaixo, que descreve uma função do tipo sigmoidal.

$$\text{Solubilização} = \frac{q_i - q_{\max}}{1 + e^{k_B(t-t_0)}} + q_{\max} \quad (3.3)$$

em que,

⁶ A rigor, o parâmetro Me_T deveria ser descrito como fração mássica. Entretanto, seguindo a nomenclatura adotada na literatura (APHA et al., 1992), utilizou-se a designação ‘concentração em base seca’.

α_i , solubilização inicial, quando $t = 0$, em porcentagem;

α_{\max} , solubilização máxima ou de saturação, quando $t \rightarrow +\infty$, em porcentagem;

t , tempo, em dia;

t_0 , valor de t , no qual ocorre a inflexão da curva de solubilização, em dia;

k_B , constante de velocidade de solubilização, quando $t = t_0$, em dia^{-1} ;

O parâmetro α_{\max} obtido a partir do ajuste pela equação de Boltzmann fornece a solubilização máxima obtida em cada ensaio. Desta forma, os valores gerados para este parâmetro (Microcal Origin® 6.0) e seus correspondentes valores de desvio-padrão foram submetidos à análise de variância. Quando necessário, a comparação de médias foi realizada aplicando-se o teste de Tukey.

Os parâmetros k_B e t_0 fornecem informações sobre a cinética de solubilização, uma vez que referem-se ao ponto de inflexão da curva de solubilização e, portanto, correspondente ao ponto de máxima velocidade de solubilização.

Para efeito de comparação, os valores de solubilização foram também ajustados assumindo-se uma cinética de solubilização de primeira ordem, na qual a velocidade de solubilização seria proporcional à concentração do metal presente na fase sólida do lodo, conforme expresso pelas Equações 3.4 e 3.5.

$$\frac{d(Me_{FS})}{dt} = -k \times Me_{FS} \quad (3.4)$$

$$Me_{FS} = Me_T \times ST \times 0,001 - Me_{FL} \quad (3.5)$$

em que,

Me_{FS} , concentração de metal na fase sólida do lodo, em $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$;

k , constante da velocidade de solubilização, em dia^{-1} ;

t , tempo, em dia.

Pela integração da Equação 3.4, determinou-se a constante de velocidade de solubilização (k) por regressão linear, conforme Equação 3.6.

$$\ln(Me_{FS}) = \ln(Me_{FS})_0 - k \times t \quad (3.6)$$

em que,

$(Me_{FS})_0$, concentração de metal na fase sólida no tempo inicial, em $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;

3.3.5 Ensaios Complementares

Com a finalidade de complementar os resultados obtidos nos ensaios de lixiviação bacteriana, foram realizados os seguintes ensaios adicionais: (i) ensaio para obtenção das curvas de crescimento de thiobacilli endógenos; (ii) ensaio para determinação da distribuição das espécies metálicas no lodo antes e após o ensaio de lixiviação.

3.3.5.1 Curvas de Crescimento de Thiobacilli Endógenos

As curvas de crescimento das populações de thiobacilli acidofílicos e thiobacilli neutrofílicos foram obtidas durante ensaio de lixiviação bacteriana conduzido para duas condições distintas de pH inicial (7,0 e 4,0). Para realização do ensaio foi utilizado lodo digerido com concentração de sólidos totais de $17 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Os frascos, em duplicata, foram incubados à temperatura de 30°C e 200 rpm.

A enumeração de thiobacilli foi realizada utilizando-se um meio de cultura sólido contendo tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) como substrato, a uma concentração de $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (0,5 % m/v), preparado conforme descrito por Barton e Shively (1968). Houve, entretanto, a necessidade de alterar a concentração de CaCl_2 para evitar a precipitação de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ quando o pH do meio foi ajustado para 7,0 (para crescimento dos thiobacilli neutrofílicos). A composição do meio utilizado e o procedimento de preparo estão apresentados no Anexo C.

O procedimento utilizado para enumeração de thiobacilli ao longo do ensaio de lixiviação bacteriana foi descrito por Blais et al. (1993a). Alíquotas de 1 mL foram retiradas diariamente e adicionadas a 14 mL de tampão-fosfato (pH 7,1) em um frasco-centrífuga de 50 mL. O conjunto foi levado a um agitador de tubos, a alta velocidade, por 2 min. Em seguida, diluições em série desde 10^{-2} até 10^{-8} foram preparadas em tubos de ensaio contendo tampão-fosfato. De cada diluição, incluindo-se a inicial (1:15), uma alíquota de 0,1 mL foi retirada e espalhada na superfície dos meios sólidos (a pH 7,0 e 4,0) com o auxílio de uma alça de Drigalsky. Esse procedimento foi realizado, em duplicata. As placas de Petri inoculadas foram incubadas em estufa a 30°C por 15 dias. Adicionalmente à enumeração de thiobacilli, alíquotas de 10 mL foram retiradas, ao longo do ensaio, para medida de pH e de E_h .

3.3.5.2 Distribuição das Espécies Metálicas

A distribuição das espécies metálicas na fase sólida do lodo foi investigada para uma amostra de lodo recém-coletada (lodo *in natura*) e para outra, submetida a um ensaio de lixiviação (lodo acidificado). Nesse ensaio, foi utilizado lodo digerido ($ST = 34,7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), inoculado com thiobacilli endógenos e incubado sob as condições de pH inicial 7,0 e temperatura de 30°C .

Para realização desse ensaio foi necessário utilizar esferas de S^0 , em substituição ao S^0 em pó, de forma que o substrato não consumido pudesse ser retirado do meio reacional ao final do ensaio e, desta maneira, permitir a análise do sólido remanescente quanto ao fracionamento de metais. Esferas de enxofre de diâmetro médio de 2 mm foram obtidas por precipitação de S^0 fundido em água bi-destilada à temperatura de aproximadamente 10°C , conforme descrito por Laishley et al. (1986), e adicionadas ao lodo à concentração de $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

A determinação das espécies metálicas foi realizada seguindo-se o método de extração seqüencial proposto inicialmente por Stover et al. (1976) e modificado posteriormente por Oake et al. (1984). A seqüência e a concentração dos extratores, a razão extrator/sólidos e, o tempo de contato utilizados pelo método modificado por Oake e seus colaboradores encontram-se descritos na Tabela 3.2. Embora nenhum extrator seja capaz de separar apenas uma única forma química de um dado metal, os autores apontam as seguintes frações preponderantes obtidas por cada extrator: KNO_3 , trocável; KF, adsorvido; $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, complexada à matéria orgânica; Na_2EDTA , carbonato; HNO_3 , sulfeto.

Tabela 3.2 – Procedimento de extração seqüencial utilizado para determinar a distribuição das espécies metálicas no lodo *in natura* e no lodo acidificado, obtido após lixiviação bacteriana.

Fração	Extrator	Concentração (M)	Razão Extrator/Lodo (mL : g)	Tempo de Contato (h)
Trocável	KNO_3	1	50:1	16
Adsorvida	KF (pH 6,5)	0,5	80:1	16
Orgânica	$\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$	0,1	80:1	16
Carbonato	Na_2EDTA (pH 6,5)	0,1	80:1	2 x 8*
Sulfeto	HNO_3	6	50:1	16

* Intervalo de 12 h entre as duas extrações.

A amostra de lodo *in natura* foi submetida à secagem imediatamente após a coleta, de forma a evitar qualquer alteração na especiação dos metais provocada pela estocagem do lodo, conforme alertado por Oake et al. (1984).

Ambas as amostras, de lodo *in natura* e de lodo acidificado após lixiviação, foram analisadas em quatro réplicas, cada uma delas contendo 1 g de lodo seco peneirado em malha de 0,59 mm (Tyler n.º 28) e disposto em frascos-centrífuga de 100 mL.

A cada frasco adicionou-se 50 mL de KNO_3 , levando-se os frascos para agitação a 170 rpm por 16 horas. Após este período, os frascos foram centrifugados a 3.300 g por 30 min. O sobrenadante foi filtrado e armazenado a 4°C até análise dos metais extraídos. Os sólidos depositados nos frascos foram lavados com 20 mL de água bi-destilada, sob agitação, durante 5 min e, em seguida, centrifugados (3.300 g por 30 min). O sobrenadante foi cuidadosamente coletado, para não carregar sólidos, e descartado. Adicionou-se o extrator seguinte (KF), prosseguindo-se à seqüência de extração mostrada na Tabela 3.2.

Os extratos obtidos foram analisados por espectrometria de emissão óptica em plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), em um equipamento de configuração axial (Varian, modelo VISTA AX), conforme procedimento de análise e calibração descrito na literatura (APHA et al., 1992).

3.4 Alterações no Lodo de Esgoto decorrentes da Lixiviação Bacteriana

3.4.1 Distribuição das Frações de Nitrogênio e Fósforo

Para uma amostra de lodo digerido, recém-coletada, foram determinadas, em duplicata, as frações de nitrogênio (Kjeldahl, amoniacal, nitrito + nitrato) e de fósforo (total e solúvel). Essas mesmas frações foram determinadas para o lodo acidificado obtido após ensaio de lixiviação bacteriana realizado a pH inicial 7,0 e temperatura de 30°C. O ensaio foi conduzido em duplicata, utilizando-se lodo digerido, com concentração de sólidos totais de 26,8 g·L⁻¹. Um frasco-controle contendo lodo não-autoclavado, não-inoculado e sem adição de S⁰ foi incluído no ensaio. Analogamente ao ensaio para estudo da distribuição das espécies metálicas, este ensaio foi realizado utilizando-se esferas de S⁰ na concentração de 5 g·L⁻¹.

A determinação das frações de nitrogênio e fósforo seguiu os procedimentos recomendados pela APHA et al. (1992). Assim, nitrogênio amoniacal foi determinado por destilação com recolhimento em ácido bórico, sendo analisado por eletrodo de íon seletivo (Orion, modelo 290A). O método de macro-Kjeldahl foi utilizado para determinação de

nitrogênio Kjeldahl, no qual a amostra foi decomposta por via úmida utilizando-se H_2SO_4 , na presença de sulfato de potássio (K_2SO_4), tendo como catalisador, sulfato de cobre (CuSO_4). O sulfato de amônio obtido foi reagido com tiosulfato de sódio, em meio alcalino, gerando amônia, a qual foi destilada e recolhida em ácido bórico, tendo sua concentração determinada por eletrodo de íon seletivo. A concentração de nitrogênio orgânico foi obtida por diferença das concentrações de nitrogênio Kjeldahl e amoniacal.

As concentrações de nitrito e nitrato foram determinadas conjuntamente, fazendo-se a redução do nitrato a nitrito na presença de cádmio. O nitrito total da amostra foi determinado por reação com sulfanilamida e naftilenodiamina. O azo-composto formado, de coloração vermelho-púrpura, foi analisado por espectrofotometria de absorção na região do ultra-violeta visível (UV-VIS) em um equipamento Hitachi, modelo U1100.

Para determinação de fósforo solúvel, amostras de lodo foram filtradas em membrana de acetato de celulose (porosidade de $0,45 \mu\text{m}$) imediatamente após a coleta de lodo ou o término do ensaio de lixiviação. O filtrado obtido foi submetido à digestão ácida, utilizando-se a mistura $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$, na proporção de 1:5 (v/v). Analogamente, para determinação da concentração de fósforo total, as amostras foram submetidas ao mesmo procedimento de digestão, porém, sem prévia filtração. Em seguida, a concentração de fósforo total e solúvel nas amostras foi determinada pelo método de detecção do ácido ascórbico (APHA et al., 1992) e analisadas por espectrofotometria (UV-VIS), conforme procedimento de análise descrito na literatura (APHA et al., 1992).

3.4.2 Variação do Número de Bactérias Indicadoras

O estudo do efeito da acidificação do lodo sobre o número de bactérias indicadoras de contaminação fecal foi realizado por meio da enumeração de coliformes totais, coliformes fecais e estreptococos fecais ao longo de um ensaio de lixiviação bacteriana. A enumeração de bactérias heterotróficas totais (aeróbias) também foi realizada, para efeito de comparação com a população de bactérias indicadoras.

O ensaio foi conduzido em duplicata, utilizando-se lodo digerido com concentração de sólidos totais de $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, incubado a 30°C e pH inicial 7,0. Um frasco-controle foi incluído, o qual continha lodo não-autoclavado, não-inoculado e sem adição de S^0 . O ensaio foi iniciado apenas algumas horas após a coleta do lodo na Estação, de forma a minimizar qualquer alteração na população de bactérias indicadoras. Ao longo do ensaio, alíquotas foram retiradas (10 mL) de um dos frascos-ensaio para medida de pH.

A enumeração de bactérias indicadoras foi realizada pela técnica de plaqueamento direto nos seguintes meios seletivos: Bacto m-Endo Agar LES (coliformes totais), Bacto m-FC Agar (coliformes fecais) e Bacto m- Enterococcus Agar (estreptococos fecais). As bactérias heterotróficas totais (aeróbias) foram enumeradas pela mesma técnica, utilizando-se o meio Bacto Nutrient Agar.

As condições de incubação foram: coliformes totais, 24 h a 35°C; coliformes fecais, 4 h a 35°C seguidas de 20 h a 44,5°C; estreptococos fecais, 48 h a 35°C; heterotróficas totais, 48 h a 35°C. Dudley e colaboradores (1980) estabeleceram que a incubação por 4 a 5 h a 35°C, previamente à incubação a 44,5°C, melhora a recuperação de estreptococos fecais quando o plaqueamento direto é utilizado como método de enumeração de bactérias indicadoras presentes em lodo de esgoto.

A enumeração de bactérias indicadoras ao longo do ensaio de lixiviação foi realizada seguindo-se o procedimento sugerido por esses autores (DUDLEY et al, 1980). Aliquotas de 5 mL foram retiradas diariamente, as quais foram adicionadas a 15 mL de tampão-fosfato (pH 7,1) em um frasco-centrífuga de 50 mL. O conjunto foi levado a um agitador de tubos, a alta velocidade, por 2 min. Em seguida, diluições em série desde 10^{-2} até 10^{-8} foram realizadas em tubos de ensaio contendo tampão-fosfato. De cada diluição, incluindo-se a inicial (1:4), uma alíquota de 0,1 mL foi retirada e espalhada na superfície dos meios sólidos com o auxílio de uma alça de Drigalsky. Esse procedimento foi realizado em duplicata, para um dos frascos-ensaio e para o frasco-controle.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização Físico-Química

As amostras de lodo de esgoto coletadas ao longo deste projeto foram caracterizadas quanto à concentração de sólidos totais, de metais totais e de metais dissolvidos. A determinação desses parâmetros fez-se necessária, principalmente, para quantificar a solubilização de metais ocorrida durante os ensaios de lixiviação bacteriana (Equação 3.1).

4.1.1 Sólidos Totais

A Tabela 4.1 apresenta os valores obtidos para a concentração de sólidos totais das amostras de lodo coletadas no período de agosto de 1.999 a outubro de 2.001. A coleta de lodo não-digerido foi interrompida após março de 2.000, em decorrência dos resultados obtidos durante o ensaio preliminar de lixiviação bacteriana (seção 4.2.1).

No período analisado, excetuando-se a última coleta⁷, a concentração de sólidos totais no lodo digerido apresentou um valor médio de $21 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Os valores de desvio-padrão obtidos para cada amostra, a partir da análise de 5 réplicas, resultaram inferiores a 10 %.

Tabela 4.1 – Concentração de sólidos totais para amostras de lodo digerido e lodo não-digerido coletadas na ETE-Franca (SP).

Amostragem	Sólidos Totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	
	Lodo Digerido	Lodo não-Digerido
agosto/1999	$21,2 \pm 0,4$	$26,4 \pm 2,4$
março/2000	$20,9 \pm 0,8$	$24,5 \pm 0,7$
maio/2000	$20,5 \pm 1,1$	–
julho/2000	$16,2 \pm 0,3$	–
setembro/2000	$22,7 \pm 2,4$	–
dezembro/2000	$26,8 \pm 0,6$	–
janeiro/2001	$25,0 \pm 0,7$	–
abril/2001	$20,1 \pm 1,0$	–
julho/2001	$17,0 \pm 1,1$	–
outubro/2001	$34,7 \pm 2,5$	–

⁷ A partir de setembro de 2.001, a ETE-Franca (SP) passou a receber o lodo gerado pela Estação de Tratamento de Água (ETA) do município de Franca-SP.

4.1.2 Metais

4.1.2.1 Metais Totais

As concentrações totais dos metais cromo, cobre, chumbo, níquel e zinco, obtidas para as amostras de lodo utilizadas neste projeto, estão apresentadas na Tabela 4.2. A amostra coletada em agosto de 1.999 não foi analisada quanto à concentração de metais, uma vez que o procedimento de análise estava sendo validado.

Comparando-se as concentrações de metais totais obtidas para os lodos digerido e não-digerido, provenientes da mesma data de amostragem (março/2.000), observa-se a ocorrência de um maior acúmulo de metais no lodo digerido. Esse acúmulo, entretanto, apresentou diferentes tendências de variação. Assim, ao longo do período compreendido entre março de 2.000 e julho de 2.001, as concentrações totais dos metais cobre, chumbo e níquel no lodo digerido apresentaram tendência de aumento, enquanto cromo teve sua concentração diminuída. Contrariamente aos demais metais, a concentração de zinco manteve-se relativamente estável, com pequenas flutuações, em torno do valor médio de $850 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ lodo seco. A drástica diminuição da concentração total de metais observada para a amostra coletada em outubro de 2.001 deve-se ao efeito de diluição do lodo de esgoto, pela incorporação do lodo gerado na Estação de Tratamento de Água (ETA) de Franca (SP).

Tabela 4.2 – Concentração de metais totais para amostras de lodo digerido e lodo não-digerido coletadas na ETE-Franca (SP).

Tipo de Lodo/ Amostragem	Concentração de Metais Totais ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ lodo seco)				
	Cr	Cu	Pb	Ni	Zn
Lodo não-Digerido					
março/2000	627 ± 4	116 ± 1	23 ± 4	15 ± 1	533 ± 9
Lodo Digerido					
março/2000	749 ± 13	198 ± 24	31 ± 4	34 ± 5	843 ± 54
maio/2000	685 ± 14	181 ± 2	33 ± 1	38 ± 1	888 ± 14
julho/2000	356 ± 27	197 ± 16	39 ± 2	56 ± 5	710 ± 9
setembro/2000	255 ± 5	222 ± 4	46 ± 1	51 ± 1	702 ± 14
dezembro/2000	246 ± 10	271 ± 12	135 ± 8	59 ± 2	960 ± 72
janeiro/2001	225 ± 9	253 ± 10	129 ± 8	53 ± 2	929 ± 56
abril/2001	229 ± 10	263 ± 12	98 ± 10	56 ± 6	910 ± 65
julho/2001	245 ± 5	232 ± 15	90 ± 13	54 ± 3	848 ± 69
outubro/2001	97 ± 5	63 ± 10	40 ± 8	22 ± 1	445 ± 59

Os valores de desvio-padrão, calculados a partir de triplicatas, resultaram inferiores a 10 % para a maioria das determinações de metais totais. Para algumas análises, entretanto, valores de desvio-padrão entre 12 e 20 % foram obtidos.

4.1.2.2 Metais Dissolvidos

A concentração de metais dissolvidos na fase líquida do lodo está apresentada na Tabela 4.3. Essa determinação foi realizada apenas para as amostras de lodo utilizadas subsequentemente em ensaios de lixiviação bacteriana. Para os metais analisados, à exceção de níquel, a concentração dissolvida na fase líquida do lodo resultou abaixo de 3 % (m/m) da concentração total de metal.

Os valores de desvio-padrão resultaram inferiores a 10 %, para grande parte dos resultados obtidos (dados não apresentados).

Tabela 4.3 – Concentração de metais dissolvidos para amostras de lodo digerido e lodo não-digerido coletadas na ETE-Franca (SP).

Tipo de Lodo/ Amostragem	Concentração de Metais Dissolvidos*									
	Cr		Cu		Pb		Ni		Zn	
	(mg·L ⁻¹)	(%)	(mg·L ⁻¹)	(%)	(mg·L ⁻¹)	(%)	(mg·L ⁻¹)	(%)	(mg·L ⁻¹)	(%)
Lodo não-Digerido										
março/2000	0,08	0,5	0,02	0,7	< 0,001	–	0,01	2,8	0,06	0,5
Lodo Digerido										
março/2000	0,31	2,0	0,10	2,4	0,01	1,5	0,01	1,4	0,34	1,9
maio/2000	0,02	0,1	0,02	0,5	0,01	1,5	0,01	1,3	0,25	1,4
janeiro/2001	0,08	1,3	0,04	0,6	0,10	2,8	0,13	9,0	0,39	1,5
julho/2001	0,03	0,7	0,02	0,5	0,03	1,9	0,05	5,3	0,26	1,8

* Porcentagem expressa em relação à concentração de metais totais (*i.e.*, em mg metal dissolvido·L⁻¹ por mg metal total·L⁻¹)

4.2 Ensaios de Lixiviação Bacteriana

4.2.1 Ensaio preliminar utilizando Lodo Digerido e Lodo não-Digerido

Este ensaio teve como objetivo avaliar a eficiência de solubilização obtida para os lodos digerido e não-digerido. Uma vez que os procedimentos para obtenção de um inóculo

contendo thiobacilli endógenos estavam em estudo, decidiu-se pela utilização da cultura pura de *A. thiooxidans* FG01, previamente isolada por Garcia Júnior (1991).

A inoculação do lodo digerido e do lodo não-digerido com um sub-cultivo recente (5 dias) de *A. thiooxidans* FG01, na presença de enxofre elementar (S^0), resultou na acidificação desses lodos até valores de pH próximos a 1,5, conforme apresentado na Figura 4.1.

Devido à característica acidofílica da espécie *A. thiooxidans*, os lodos utilizados nesse ensaio foram acidificados a pH 4,0 antes de serem inoculados. Apesar do ajuste inicial de pH, observou-se um período de adaptação da bactéria às condições do meio, para ambos os lodos. Esse período foi de aproximadamente 7 dias para o lodo digerido e de 9 dias para o lodo não-digerido.

Os controles químico e biológico utilizados nesse ensaio não apresentaram abaixamento do pH, tendo, ao contrário, tendência a retornar ao valor de pH original (pH 7,0) para o lodo digerido.

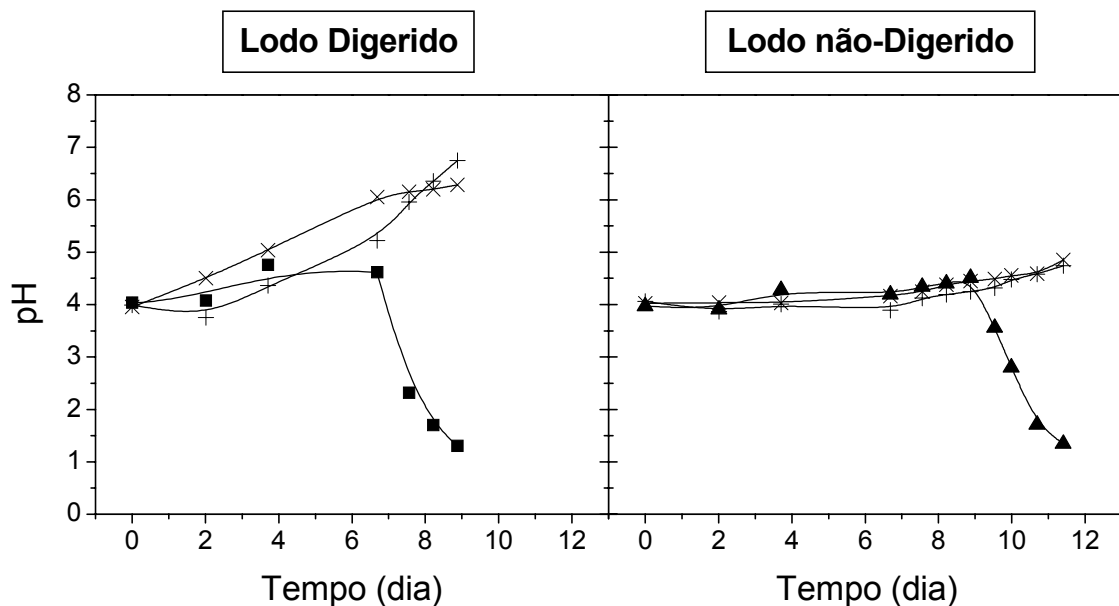


Figura 4.1 – Valores de pH durante ensaio de lixiviação utilizando *A. thiooxidans* FG01. Símbolos: (■) Frasco-ensaio contendo lodo digerido autoclavado, inoculado e com adição de S^0 ; (▲) Frasco-ensaio contendo lodo não-digerido autoclavado, inoculado e com adição de S^0 ; (+) Controle biológico (lodo autoclavado, inoculado, sem adição de S^0); (x) Controle químico (lodo autoclavado, não-inoculado, com adição de S^0).

A solubilização obtida ao longo desse ensaio está apresentada na Figura 4.2, para os metais cromo, cobre e chumbo, e na Figura 4.3, para os metais níquel e zinco. Com base nos perfis de solubilização obtidos, observou-se que a fase de adaptação da linhagem *A. thiooxidans* FG01, a ambos os lodos, ocasionou atrasos correspondentes no início da solubilização dos metais.

Devido ao ajuste inicial do pH ao valor 4,0, houve uma solubilização parcial dos metais níquel e zinco no início do ensaio, da ordem de 43 e 26 %, respectivamente. Os metais cromo, cobre e chumbo não apresentaram solubilização significativa decorrente desse ajuste.

Analisando-se os frascos-controle, verifica-se que, para os metais cromo, cobre e chumbo nenhuma solubilização foi detectada, para ambos os lodos utilizados (Figura 4.2). Os metais níquel e zinco, à semelhança dos frascos-ensaio, apresentaram uma solubilização inicial devida ao ajuste de pH, a qual, entretanto, apresentou uma diminuição ao longo do ensaio (Figura 4.3), especialmente para os controles contendo lodo digerido, devido ao aumento de pH nesses frascos (Figura 4.1).

Excetuando-se a solubilização inicial de níquel e zinco ocorrida nos controles, a ausência de solubilização de metais no controle biológico demonstrou que a presença do substrato S^0 foi decisiva para ocorrência da lixiviação bacteriana. Adicionalmente, a ausência de solubilização de metais no controle químico demonstrou que os procedimentos de esterilização do lodo foram adequados.

Os resultados obtidos nesse ensaio preliminar de lixiviação bacteriana demonstraram que índices de solubilização similares podem ser obtidos utilizando-se os dois tipos de lodo, uma vez que as seguintes solubilizações finais foram observadas para os lodos digerido e não-digerido, respectivamente: cromo, 38 e 36 %; cobre, 77 e 76 %; chumbo, 57 e 54 %; níquel, 95 e 94 %; zinco, 91 e 86 %.

Tendo-se verificado que a utilização de lodo digerido ou não-digerido não afetava significativamente a eficiência do processo de lixiviação bacteriana, os demais ensaios realizados neste projeto passaram a utilizar apenas lodo digerido. A escolha pelo lodo digerido ocorreu devido a maior homogeneidade de suas características físico-químicas, quando comparadas ao lodo não-digerido, uma vez que, sendo a digestão anaeróbia um processo de estabilização, o lodo obtido nesse processo apresenta uma composição mais constante, garantindo melhores condições de reprodutibilidade dos ensaios.

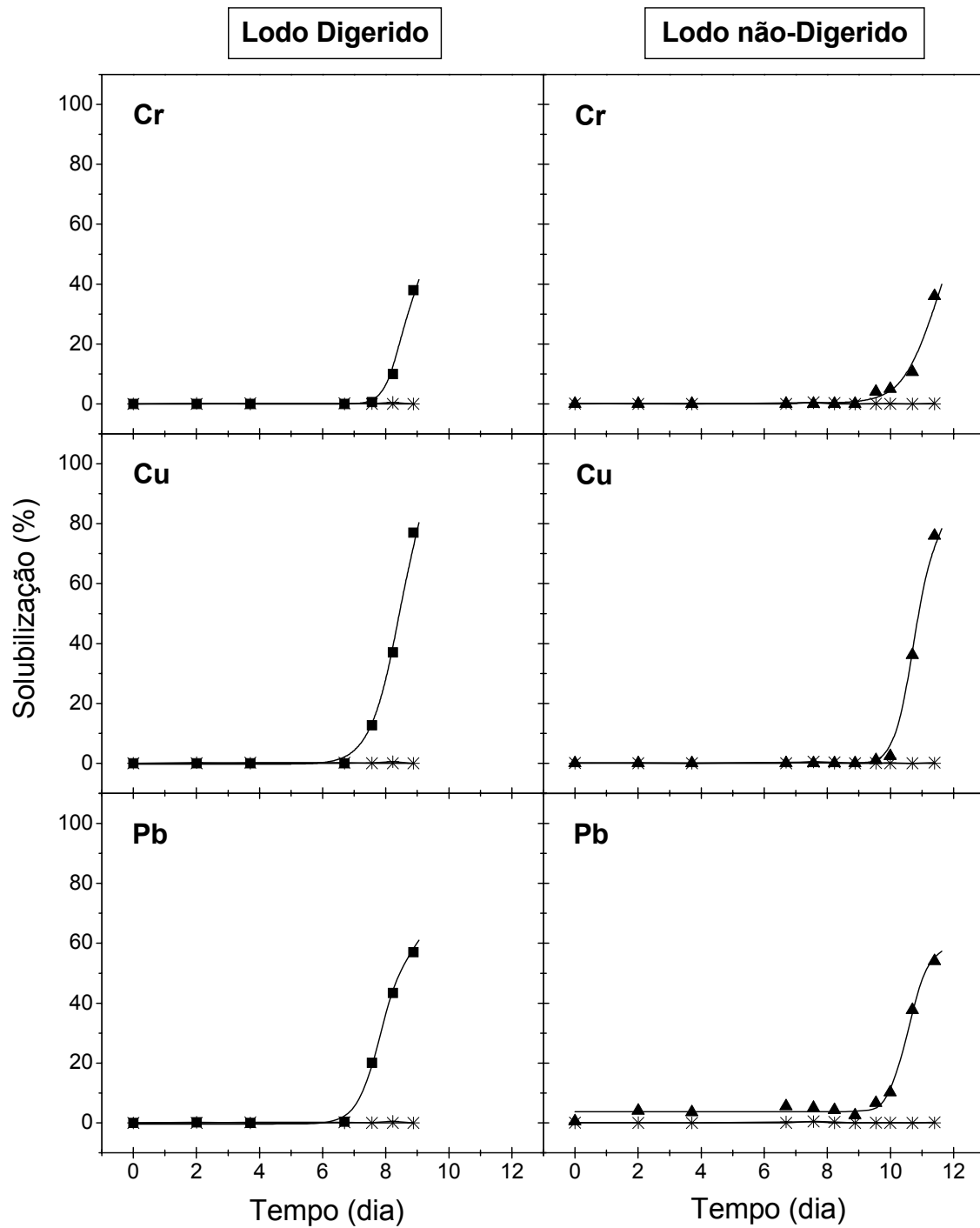


Figura 4.2 – Solubilização, expressa em porcentagem, obtida para os metais Cr, Cu e Pb durante ensaio de lixiviação utilizando *A. thiooxidans* FG01. Símbolos: (■) Frasco-ensaio contendo lodo digerido autoclavado, inoculado e com adição de S^0 ; (▲) Frasco-ensaio contendo lodo não-digerido autoclavado, inoculado e com adição de S^0 ; (+) Controle biológico (lodo autoclavado, inoculado, sem adição de S^0); (x) Controle químico (lodo autoclavado, não-inoculado, com adição de S^0).

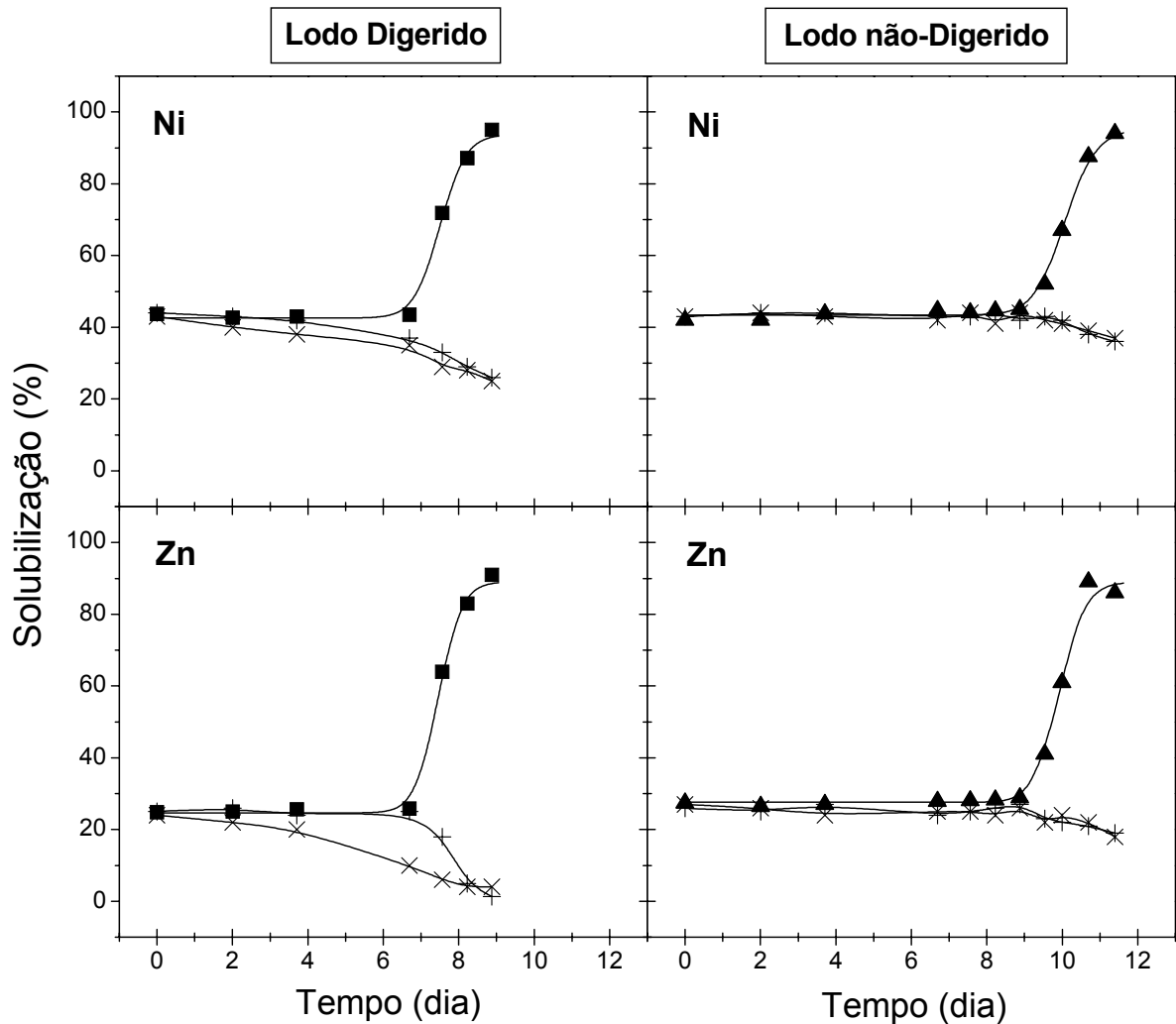


Figura 4.3 – Solubilização, expressa em porcentagem, obtida para os metais Ni e Zn durante ensaio de lixiviação utilizando *A. thiooxidans* FG01. Símbolos: (■) Frasco-ensaio contendo lodo digerido autoclavado, inoculado e com adição de S⁰; (▲) Frasco-ensaio contendo lodo não-digerido autoclavado, inoculado e com adição de S⁰; (+) Controle biológico (lodo autoclavado, inoculado, sem adição de S⁰); (x) Controle químico (lodo autoclavado, não-inoculado, com adição de S⁰).

4.2.2 Obtenção de Inóculo contendo Thiobacilli Endógenos

Uma vez que grande parte das espécies de thiobacilli são aeróbias estritas (KELLY e HARRISON, 1989), o processo de digestão anaeróbia do lodo tende a diminuir a população endógena dessas espécies. Sendo assim, a produção de um inóculo por enriquecimento de thiobacilli endógenos teve a função, neste trabalho, de diminuir o tempo necessário para realização dos ensaios de lixiviação.

Sucessivos sub-cultivos de lodo acidificado em lodo recém-coletado, não-autoclavado, foram realizados até a obtenção de curvas semelhantes de acidificação do lodo, ou seja, com idênticas velocidades médias de acidificação do lodo. A Figura 4.4 apresenta os resultados obtidos para os sub-cultivos realizados. Durante o procedimento de acidificação inicial do lodo foram inclusos dois controles, contendo: (i) lodo digerido não-autoclavado, sem adição de S^0 ; (ii) lodo digerido autoclavado, com adição de S^0 . O primeiro controle teve a finalidade de verificar se a população de thiobacilli endógena poderia acidificar o lodo, mesmo na ausência de uma fonte externa de enxofre reduzido, enquanto o segundo controle teve o objetivo de verificar a ocorrência de oxidação química do enxofre adicionado.

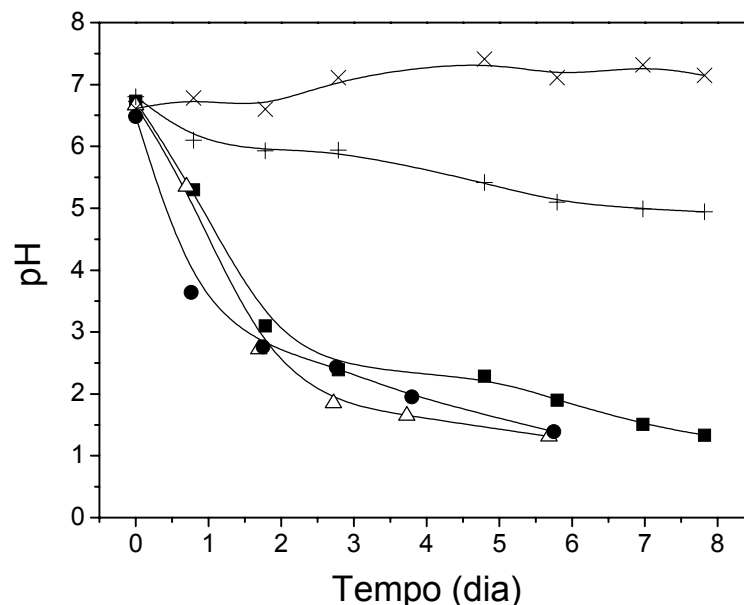


Figura 4.4 – Valores de pH durante sub-cultivos sucessivos para obtenção de inóculo contendo thiobacilli endógenos. Símbolos: (■) Acidificação inicial; (▲) Primeiro sub-cultivo; (●) Segundo sub-cultivo; (+) Controle contendo lodo digerido, não-autoclavado, sem adição de S^0 ; (x) Controle contendo lodo digerido, autoclavado, com adição de S^0 .

Ao longo do ensaio, apenas o controle contendo lodo não-autoclavado apresentou algum declínio de pH, embora moderado, até valores próximos a 5,0.

O declínio no valor de pH do lodo desde 7,0 até valores próximos a 1,3 foi obtido após 8 dias de incubação, aproximadamente, para a acidificação inicial (velocidade média de 0,69 unidades de $\text{pH}\cdot\text{dia}^{-1}$). Para os dois sub-cultivos seguintes, o mesmo valor de pH final foi obtido em, aproximadamente, 6 dias (velocidade média de 0,91 unidades de $\text{pH}\cdot\text{dia}^{-1}$).

Tendo-se obtido idênticas velocidades médias de acidificação do lodo entre o primeiro e o segundo sub-cultivos, considerou-se concluído o procedimento de enriquecimento do lodo. Assim, o lodo acidificado obtido a partir do segundo sub-cultivo foi utilizado como inóculo para a realização dos ensaios de lixiviação bacteriana que se seguiram. A manutenção desse inóculo foi realizada por meio de sub-cultivos mensais, sempre que possível, em lodo recém-coletado.

4.2.3 Efeito da Temperatura e do pH inicial

Neste conjunto de ensaios, investigou-se o efeito da temperatura e do pH inicial sobre a eficiência e a cinética do processo de lixiviação bacteriana de metais aplicado a lodo de esgoto. Para tanto, foram investigadas três condições de temperatura (20, 30 e 40°C), iniciando-se os ensaios a pH 7,0 e 4,0. Nesses ensaios, bem como em todos os demais que se seguiram, utilizou-se o inóculo contendo thiobacilli endógenos.

As curvas de variação do pH e do potencial de óxido-redução (E_h) em função do tempo, obtidas para esses ensaios, estão apresentadas na Figura 4.5. O efeito da temperatura sobre o perfil de acidificação do lodo mostrou-se bastante similar para ambas as condições de pH inicial estudadas. Assim, a acidificação do lodo ocorreu mais rapidamente à temperatura de 30°C e, mais lentamente à temperatura de 20°C. Um perfil diferenciado de acidificação foi observado, apenas, para a condição de pH inicial 7,0 e temperatura de 40°C. Nessa condição, o valor de pH foi estabilizado em 2,4, diferindo, assim, dos resultados obtidos para as demais condições, em que o pH final atingiu valores próximos a 1,0.

Os controles incubados a pH inicial 4,0 apresentaram uma tendência de retomar a condição de neutralidade do lodo digerido, de modo análogo aos controles utilizados no ensaio preliminar de lixiviação. Para os controles incubados a pH inicial 7,0, entretanto, a variação de pH apresentou um comportamento semelhante aos controles utilizados durante o procedimento de obtenção do inóculo contendo thiobacilli endógenos. Assim, o controle

químico manteve-se na condição de pH 7,0, enquanto o controle biológico apresentou um ligeiro declínio do pH até o valor de 5,8. Todos os controles foram incubados a 30°C.

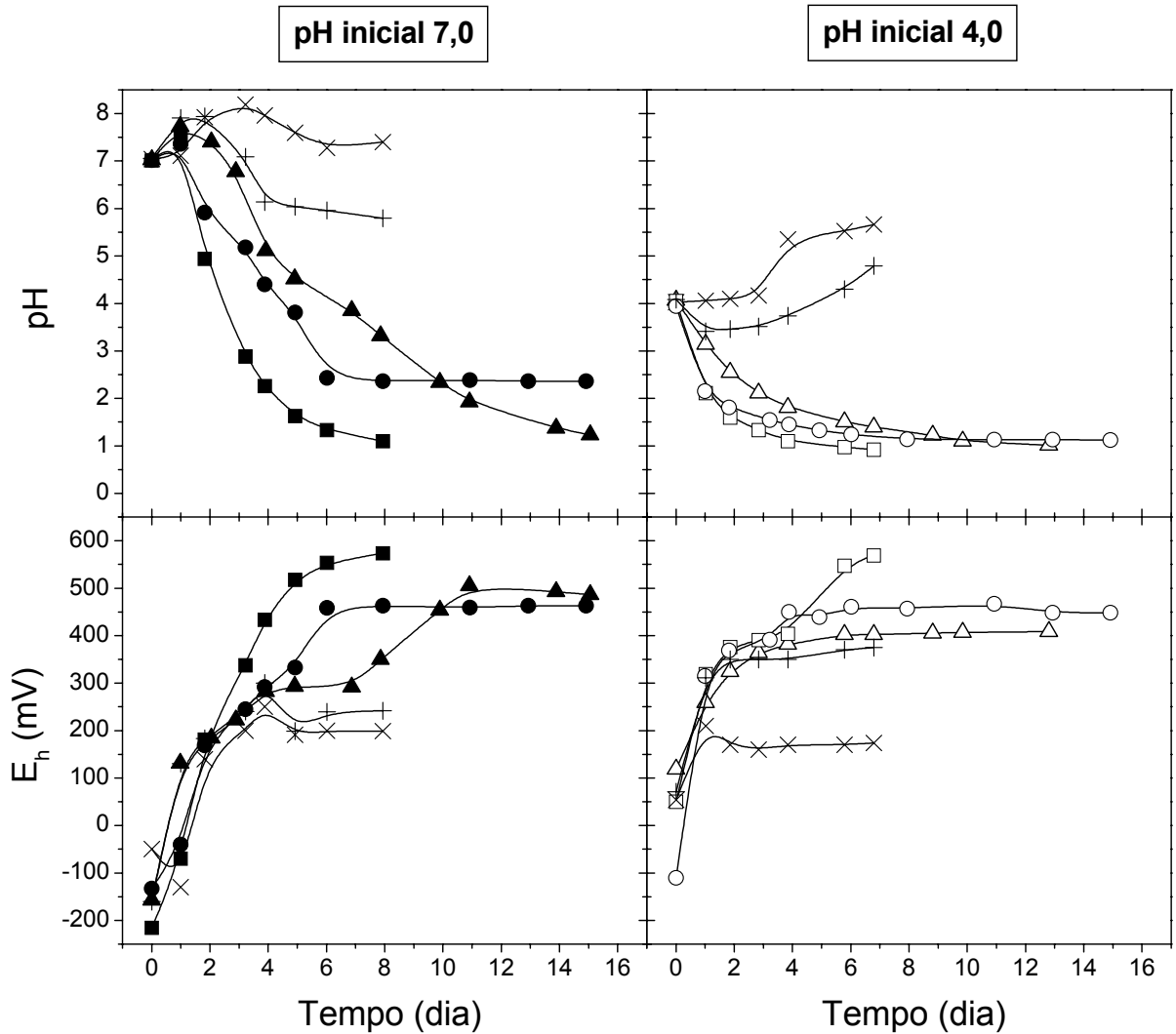


Figura 4.5 – Valores de pH e de E_h durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial. Símbolos: Frascos inoculados e incubados a: (▲) 20°C e pH inicial 7,0; (■) 30°C e pH inicial 7,0; (●) 40°C e pH inicial 7,0; (△) 20°C e pH inicial 4,0; (□) 30°C e pH inicial 4,0; (○) 40°C e pH inicial 4,0. (+) Controle biológico (lodo não-autoclavado, inoculado, sem adição de S^0); (×) Controle químico (lodo autoclavado, não-inoculado, com adição de S^0). Controles incubados a 30°C.

Da análise das curvas de E_h em função do tempo, verifica-se que, para ambos os valores de pH inicial, ocorreu um aumento do valor do potencial de óxido-redução, com os valores mais elevados (aproximadamente 570 mV) tendo sido observados para os ensaios realizados à temperatura de 30°C.

Para os controles, houve um aumento mais moderado do potencial de óxido-redução, com valores finais compreendidos entre 150 e 250 mV. Apenas o controle biológico incubado a pH inicial 4,0 apresentou um valor final de E_h mais elevado, da ordem de 370 mV.

A retirada de alíquotas para determinação da concentração de metal solubilizado ao longo dos ensaios, permitiu calcular a solubilização ocorrida para cada um dos metais investigados (Figuras 4.6 e 4.7). Os dados experimentais obtidos para os tratamentos inoculados, ou seja, excetuando-se os controles, foram ajustados pela equação de Boltzmann (Equação 3.3). A escolha da função que melhor representasse os dados experimentais foi realizada com vistas à minimização do parâmetro Qui-quadrado⁸. Os parâmetros obtidos estão apresentados na Tabela 4.4.

Valores negativos de q_i foram obtidos, especialmente para os ensaios a pH inicial 4,0, indicando que, nessa condição, a curva de solubilização não se apresenta como uma curva sigmoidal típica.

Os valores de solubilização máxima (q_{max}) obtidos para cada metal solubilizado, nas diferentes condições ensaiadas, foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5 % (Tabela 4.4).

Observa-se então, que apenas os valores de solubilização máxima obtidos para a condição de pH inicial 7,0 e temperatura de 40°C apresentaram-se estatisticamente diferentes dos valores obtidos para as demais condições, à exceção de níquel, para o qual não houve diferença estatística entre as solubilizações máximas obtidas a 20 e 40°C, para pH inicial 7,0. Observa-se ainda que, naquela condição (pH inicial 7,0 e temperatura de 40°C), os valores de solubilização máxima resultaram muito inferiores à média das solubilizações máximas obtidas para as outras condições, que foram de: cromo, 54 %; cobre, 79 %; chumbo, 49 %; níquel, 90 % e zinco, 96 %.

⁸ Por definição, o parâmetro Qui-quadrado (χ^2) é dado por: $\chi^2 = \sum_{i=1}^N [y_i - y_i^*]^2 / \sigma_i^2$, em que y_i , valor experimental de ordem i ; y_i^* , valor de ordem i obtido pela equação de ajuste; σ_i^2 , variância da distribuição normal do resíduo, definido por $(y_i - y_i^*)$ e; N , número de dados experimentais.

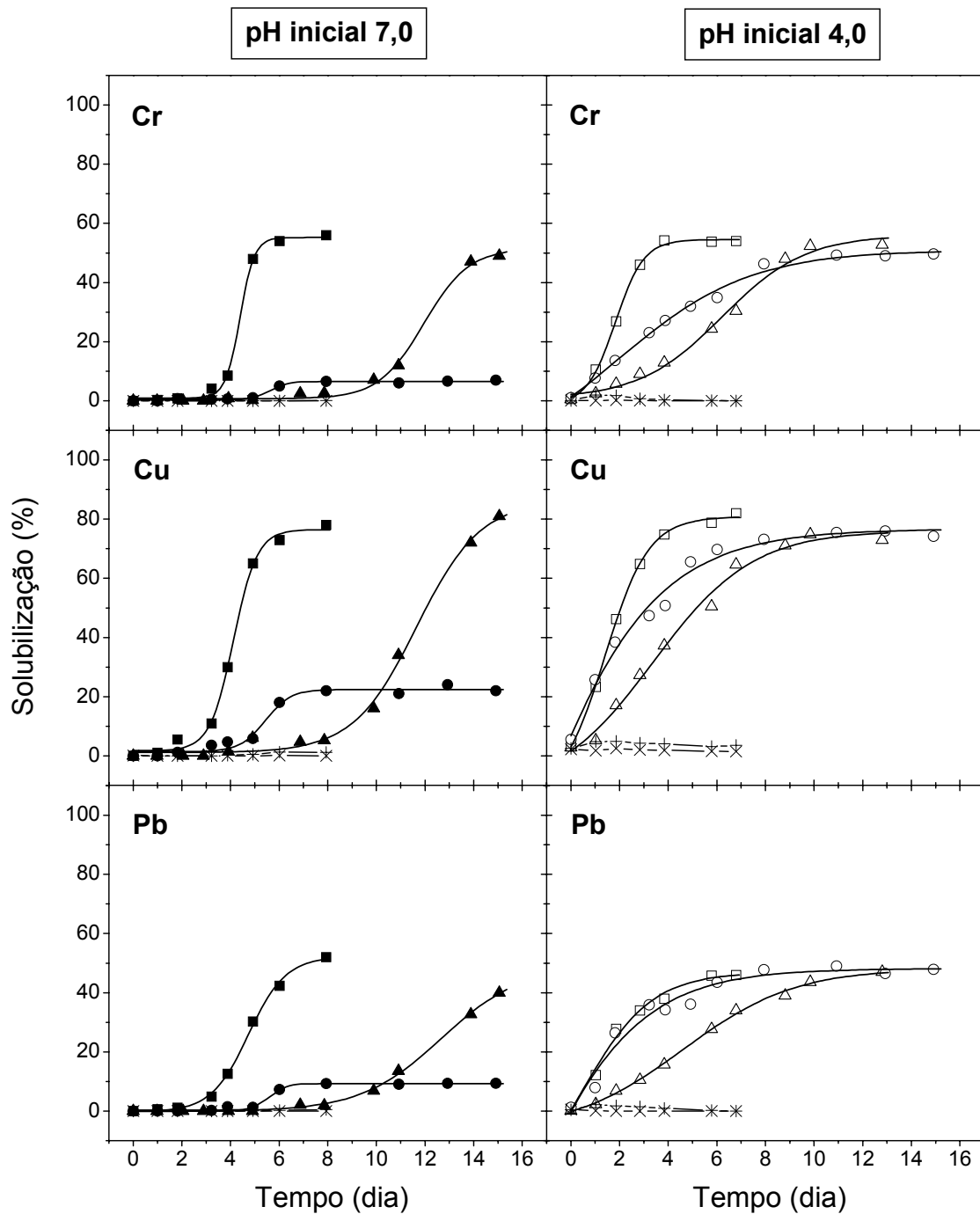


Figura 4.6 – Solubilização, expressa em porcentagem, obtida para os metais Cr, Cu e Pb durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial. Símbolos: Frascos inoculados, incubados a: (▲) 20°C e pH inicial 7,0; (■) 30°C e pH inicial 7,0; (●) 40°C e pH inicial 7,0; (△) 20°C e pH inicial 4,0; (□) 30°C e pH inicial 4,0; (○) 40°C e pH inicial 4,0. (+) Controle biológico (lodo não-autoclavado, inoculado, sem adição de S^0); (x) Controle químico (lodo autoclavado, não-inoculado, com adição de S^0). Controles incubados a 30°C.

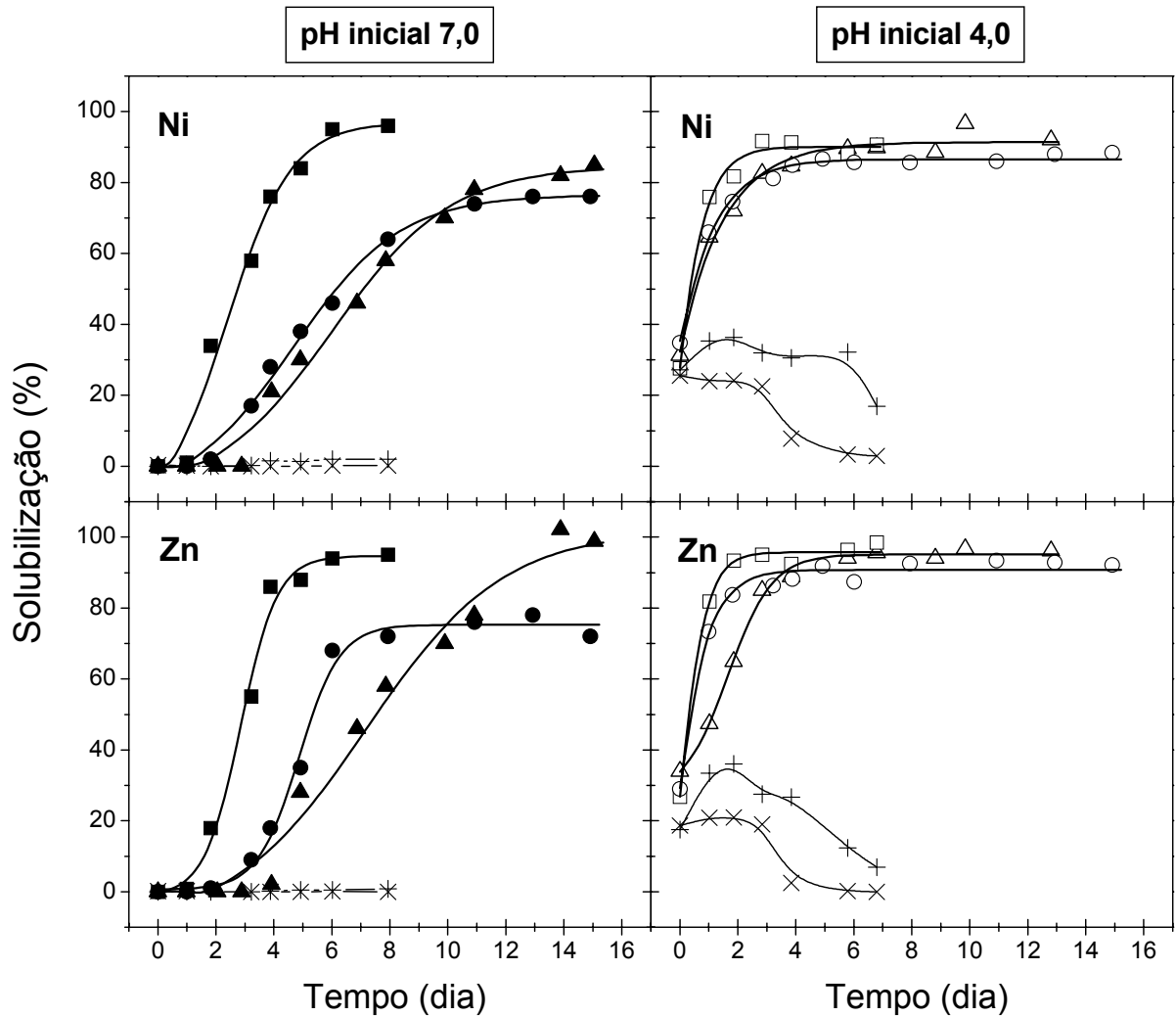


Figura 4.7 – Solubilização, expressa em porcentagem, obtida para os metais Ni e Zn durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial. Símbolos: Frascos inoculados, incubados a: (▲) 20°C e pH inicial 7,0; (■) 30°C e pH inicial 7,0; (●) 40°C e pH inicial 7,0; (△) 20°C e pH inicial 4,0; (□) 30°C e pH inicial 4,0; (○) 40°C e pH inicial 4,0. (+) Controle biológico (lodo não-autoclavado, inoculado, sem adição de S^0); (x) Controle químico (lodo autoclavado, não-inoculado, com adição de S^0). Controles incubados a 30°C.

Tabela 4.4 – Parâmetros da equação sigmoidal de Boltzmann obtidos por ajuste das curvas de solubilização em função do tempo para os tratamentos inoculados, durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial.

Metal	pH inicial	Temperatura (°C)	Parâmetros da Equação de Boltzmann			
			q_i (%)	q_{max}^* (%)	t_0 (dia)	k_B (dia ⁻¹)
Cromo	7,0	20	0,708	51,6a	12,0	1,08
		30	0,948	55,2a	4,39	3,39
		40	0,347	6,55b	5,64	2,93
	4,0	20	0,719	56,1a	6,21	0,586
		30	-1,36	54,5a	1,83	1,71
		40	-22,6	50,9a	1,96	0,371
Cobre	7,0	20	1,09	86,3a	11,7	0,762
		30	1,70	76,4a	4,12	2,07
		40	1,40	22,4b	5,43	1,91
	4,0	20	-12,4	76,1a	3,40	0,493
		30	-13,0	80,8a	1,41	1,12
		40	-209	76,8a	-3,06	0,367
Chumbo	7,0	20	-0,157	49,6a	12,7	0,595
		30	-0,205	52,1a	4,74	1,31
		40	0,291	9,26b	5,60	3,05
	4,0	20	-6,59	48,2a	4,62	0,435
		30	-34,0	46,9a	0,442	0,696
		40	-108	48,1a	-1,85	0,434
Níquel	7,0	20	-8,47	84,7ac	6,01	0,486
		30	-14,7	96,9b	2,40	0,910
		40	-9,04	76,5c	4,68	0,544
	4,0	20	-2020	91,4ab	-5,29	0,670
		30	-222	90,1ab	-0,926	1,51
		40	-451	86,6ab	2,55	0,887
Zinco	7,0	20	-10,2	102a	7,28	0,415
		30	-1,28	94,7a	2,86	1,59
		40	0,609	75,3b	4,86	1,42
	4,0	20	26,9	95,1a	1,66	1,31
		30	-58,5	95,9a	-0,104	2,05
		40	-319	90,8a	-1,31	1,34

* Para cada metal, valores de solubilização máxima seguidos de letras idênticas indica que não houve diferença estatística entre esses valores (Teste de Tukey, com nível de significância de 5 %).

Nenhuma solubilização significativa de cromo, cobre e chumbo foi observada nos frascos-controle, para ambos os valores de pH inicial (Figura 4.6). De modo análogo ao ensaio preliminar utilizando lodo digerido e lodo não-digerido, os metais níquel e zinco apresentaram valores de solubilização inicial de 31 e 30 %, respectivamente, devido ao ajuste inicial de pH para 4,0 (Figura 4.7). Ainda à semelhança dos resultados obtidos anteriormente

(Figura 4.3), a solubilização de níquel e zinco nos frascos-controle diminuiu com o tempo, devido ao aumento do valor de pH nesses frascos.

Adicionalmente, a cinética de solubilização foi avaliada calculando-se a constante da velocidade de solubilização (k), assumindo-se uma cinética de primeira ordem (Tabela 4.5). Valores, em geral, próximos à unidade foram observados para os coeficientes de correlação linear (r^2) obtidos para a regressão linear da Equação 3.6.

Tabela 4.5 – Constante da velocidade de solubilização (k) para a equação de cinética de primeira ordem, com os respectivos coeficientes de correlação linear (r^2), para os tratamentos inoculados, durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial.

Metal	pH inicial	Temperatura (°C)	Equação de Primeira Ordem	
			k (dia ⁻¹)	r^2
Cromo	7,0	20	0,19	0,9999
		30	0,65	0,9999
		40	0,043	0,9996
	4,0	20	0,12	0,9999
		30	0,32	0,9995
		40	0,082	0,9999
Cobre	7,0	20	0,34	0,9998
		30	0,66	0,9991
		40	0,10	0,9993
	4,0	20	0,18	0,9999
		30	0,45	0,9999
		40	0,20	0,9996
Chumbo	7,0	20	0,099	0,9997
		30	0,24	0,9999
		40	0,060	0,9941
	4,0	20	0,077	0,9998
		30	0,16	0,9999
		40	0,14	0,9992
Níquel	7,0	20	0,25	0,9999
		30	0,99	0,9988
		40	0,21	0,9995
	4,0	20	0,59	0,9996
		30	1,2	0,9999
		40	0,63	0,9992
Zinco	7,0	20	0,48	0,9999
		30	1,0	0,9998
		40	0,45	0,9994
	4,0	20	0,79	0,9989
		30	1,5	0,9995
		40	0,93	0,9990

Para uma mesma condição de pH inicial, os valores de k_B e k resultaram, em geral, mais elevados quando os ensaios foram realizados a 30°C, para todos os metais investigados. A única exceção sendo registrada para chumbo, para o qual os valores de k obtidos durante o ensaio a pH inicial 4,0, resultaram similares para as temperaturas de 30 e 40°C, enquanto para o ensaio a pH inicial 7,0, valores mais elevados de k_B foram obtidos à temperatura de 40°C.

Quanto ao efeito do pH inicial, observou-se que, para níquel e zinco, os valores mais elevados de k_B e k foram obtidos a pH inicial 4,0, para uma mesma temperatura. Para cromo, cobre e chumbo, entretanto, os valores mais elevados de k_B e k foram obtidos, em geral, a pH inicial 7,0, especialmente para as temperaturas de 20 e 30°C.

Utilizando-se os parâmetros obtidos para ambos os modelos de ajuste (Boltzmann e primeira ordem), compararam-se os valores de solubilização calculados a partir dos modelos, com os valores obtidos experimentalmente (Figura 4.8). Os resultados demonstraram que o ajuste pela equação sigmoideal de Boltzmann permitiu obter valores bastante próximos dos valores experimentais, para ambas as condições de pH inicial estudadas. O modelo de cinética de primeira ordem, entretanto, apresentou elevada dispersão em relação aos valores experimentais, especialmente para os ensaios a pH inicial 7,0.

Finalizando o estudo do efeito da temperatura e do pH inicial, os valores de solubilização foram ainda analisados em função da variação do pH ao longo dos ensaios, para cada condição de lixiviação investigada (Figura 4.9). Os resultados obtidos para os ensaios a pH inicial 4,0 e 7,0 foram reunidos em um mesmo gráfico, para um dado metal. Observa-se que os metais cromo, cobre e chumbo tiveram sua solubilização iniciada apenas a partir de valores de pH entre 2,5 e 3,0. Para níquel e zinco, entretanto, a solubilização foi iniciada mais prontamente, ou seja, a partir de valores de pH entre 5,0 e 6,0.

4.2.4 Efeito da Concentração de Sólidos Totais

Dando continuidade ao estudo de parâmetros de processo, investigou-se o efeito da concentração de sólidos totais sobre a eficiência e a cinética da lixiviação bacteriana. Para tanto, foram conduzidos ensaios de lixiviação bacteriana, nos quais utilizou-se lodo digerido, com concentração de sólidos totais de 25 g·L⁻¹, a partir do qual foram obtidas as concentrações de 10; 32,5 e 40 g·L⁻¹ por diluição ou por concentração da amostra original.

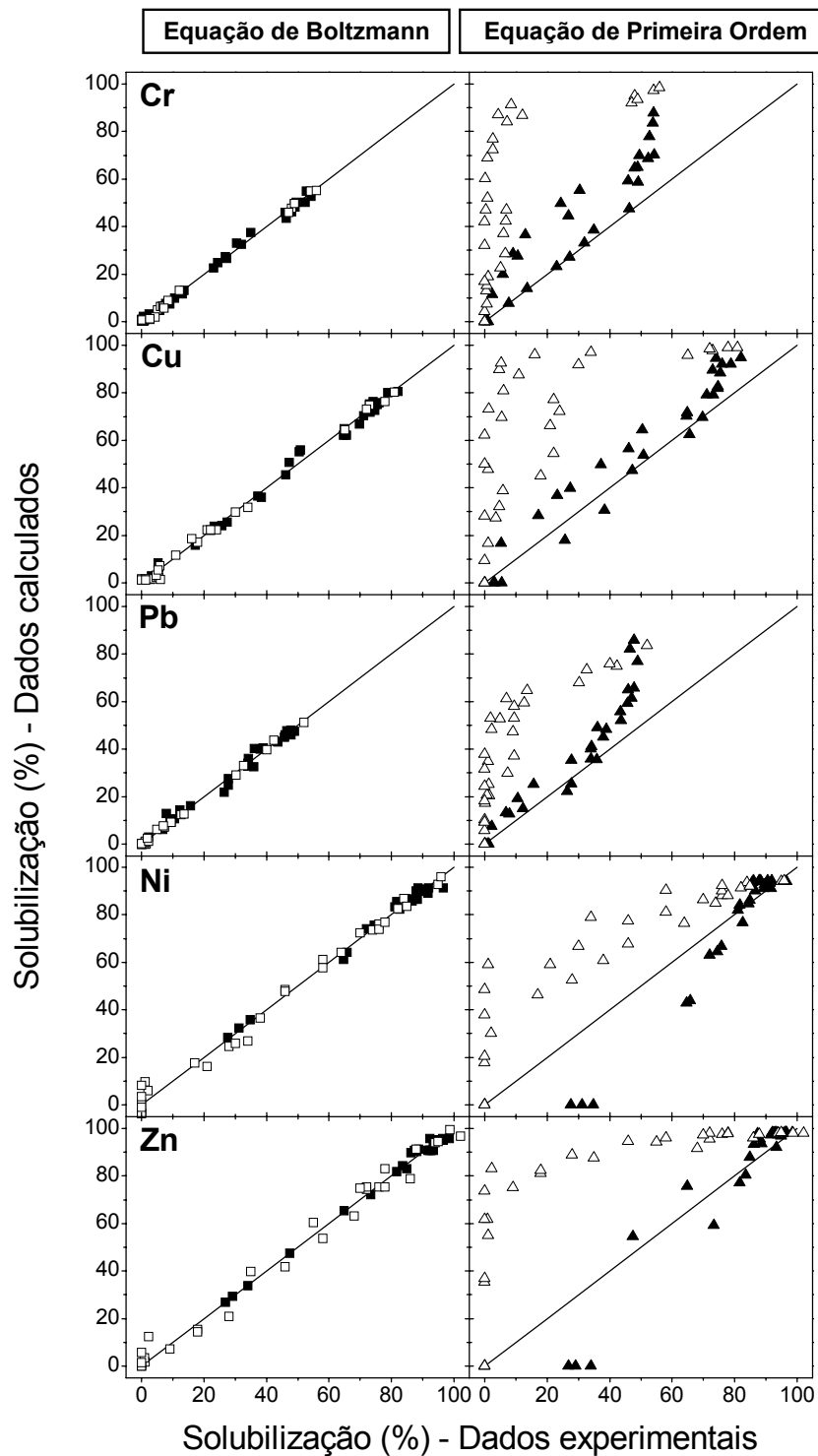


Figura 4.8 – Solubilização calculada a partir dos modelos sigmoidal de Boltzmann e cinética de primeira ordem em função dos valores de solubilização experimentais obtidos para os metais Cr, Cu, Pb, Ni e Zn durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial. Símbolos: (■) Boltzmann, pH inicial 4,0; (□) Boltzmann, pH inicial 7,0; (▲) Primeira ordem, pH inicial 4,0; (Δ) Primeira ordem, pH inicial 7,0.

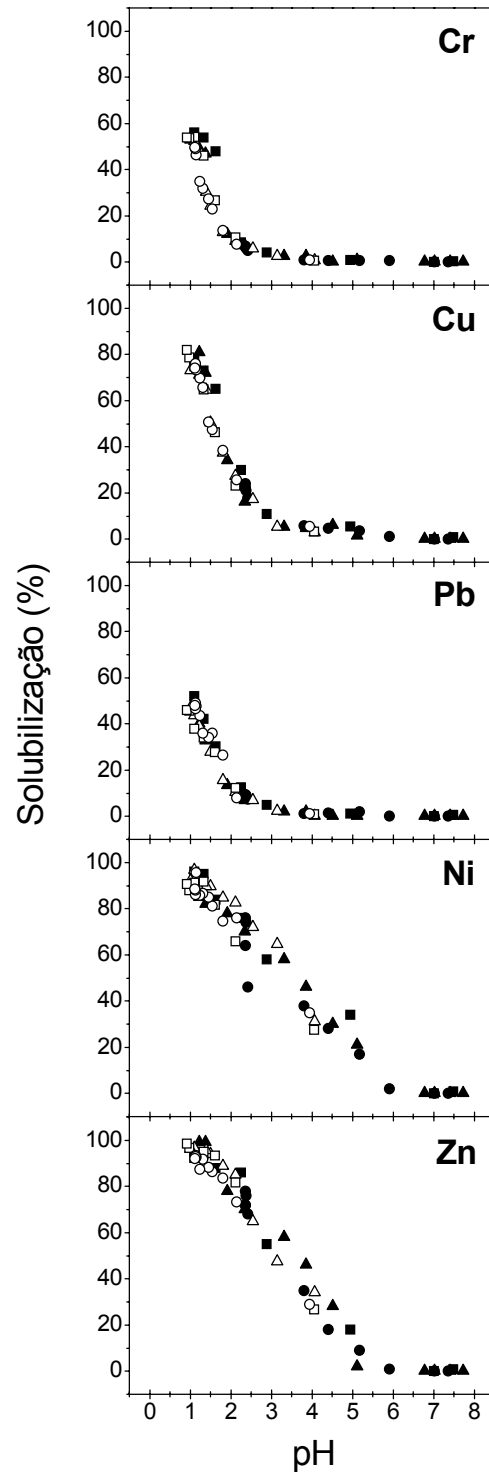


Figura 4.9 – Solubilização em função do pH para os metais Cr, Cu, Pb, Ni e Zn durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da temperatura e do pH inicial. Símbolos: Frascos inoculados, incubados a: (▲) 20°C e pH inicial 7,0; (■) 30°C e pH inicial 7,0; (●) 40°C e pH inicial 7,0; (△) 20°C e pH inicial 4,0; (□) 30°C e pH inicial 4,0; (○) 40°C e pH inicial 4,0.

Esses ensaios foram realizados à temperatura de 30°C e pH inicial 7,0. A escolha da temperatura e do pH inicial ocorreu em função dos resultados apresentados na seção anterior. As curvas obtidas para acidificação do lodo e variação do potencial de óxido-redução em função do tempo são apresentadas na Figura 4.10.

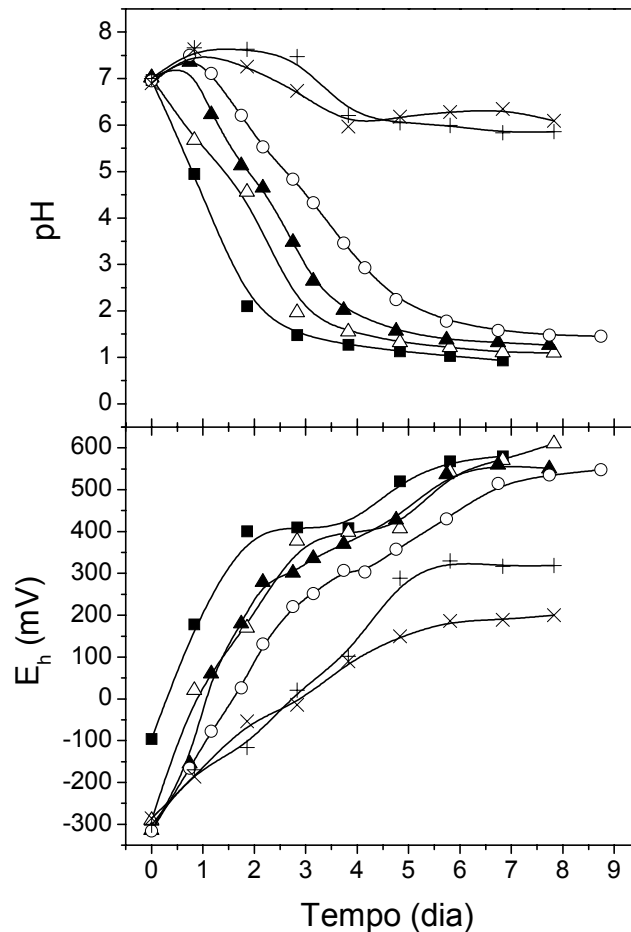


Figura 4.10 – Valores de pH e de E_h durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da concentração de sólidos totais. Símbolos: Frascos inoculados, com concentração de sólidos totais de: (■) 10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; (Δ) 25 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; (\blacktriangle) 32,5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; (\circ) 40 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. (+) Controle biológico (lodo não-autoclavado, inoculado, sem adição de S^0); (x) Controle químico (lodo autoclavado, não-inoculado, com adição de S^0). Frascos-controle contendo lodo com concentração de sólidos totais de 25 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Observa-se que, com o aumento da concentração de sólidos totais, a acidificação do lodo ocorreu mais lentamente, tendo-se ainda obtido valores de pH final ligeiramente mais

elevados. Assim, para o lodo com concentração de sólidos de $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, o pH de 1,1 foi obtido após 5 dias de ensaio, ao passo que, para a concentração de sólidos de $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, o pH final de 1,5 foi obtido após 9 dias.

Os controles, com concentração de sólidos de $25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, apresentaram pequena variação do pH ao longo do ensaio, tendo apresentado pH final próximo a 6,0.

As curvas de variação do potencial de óxido-redução em função do tempo apresentaram valores finais similares para as diferentes concentrações de sólidos totais estudadas. Os valores finais de E_h foram da ordem de 580 mV, estando, portanto, bastante próximos do valor final de E_h observado para o ensaio anterior à temperatura de 30°C e pH inicial 7,0 (Figura 4.5). O aumento de E_h ao longo dos ensaios, entretanto, ocorreu mais rapidamente para as concentrações de sólidos totais mais baixas.

De modo semelhante aos controles utilizados durante o estudo do efeito da temperatura e do pH inicial, os valores finais de E_h obtidos nos frascos-controle foram sensivelmente inferiores, da ordem de 320 e 200 mV, para os controles biológico e químico, respectivamente (Figura 4.10).

As Figuras 4.11 e 4.12 apresentam a solubilização obtida, em função do tempo, para os metais cromo, cobre, chumbo, níquel e zinco.

Analogamente ao tratamento de dados realizado anteriormente, os valores de solubilização obtidos para os tratamentos inoculados foram ajustados pela equação de Boltzmann (Figuras 4.11 e 4.12), cujos parâmetros estão apresentados na Tabela 4.6. Os valores de solubilização máxima foram submetidos à análise de variância (Tabela 4.6). Em função dos resultados apresentados na seção anterior (Figura 4.8), não foi realizado o ajuste pela equação de primeira ordem para o presente conjunto de ensaios.

Com base nos resultados apresentados nas Figuras 4.11 e 4.12, reforçados pelos valores de t_0 obtidos (Tabela 4.6), observa-se que, de modo geral, a solubilização máxima foi atingida em menor tempo de ensaio quando se foram utilizados lodos com menor concentração de sólidos totais. Apesar disto, excetuando-se as solubilizações obtidas para chumbo, a análise de variância não apontou diferença estatística entre as solubilizações máximas obtidas, para cada metal, sob as diferentes condições de concentração de sólidos totais estudadas (Tabela 4.6). Para chumbo, observou-se uma eficiência maior de solubilização (49 %) para a concentração de sólidos de $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

De modo semelhante aos controles utilizados durante o ensaio a 30°C e pH inicial 7,0 realizado anteriormente (Figuras 4.6 e 4.7), os controles utilizados no presente ensaio não apresentaram solubilização significativa para os metais analisados (Figuras 4.11 e 4.12).

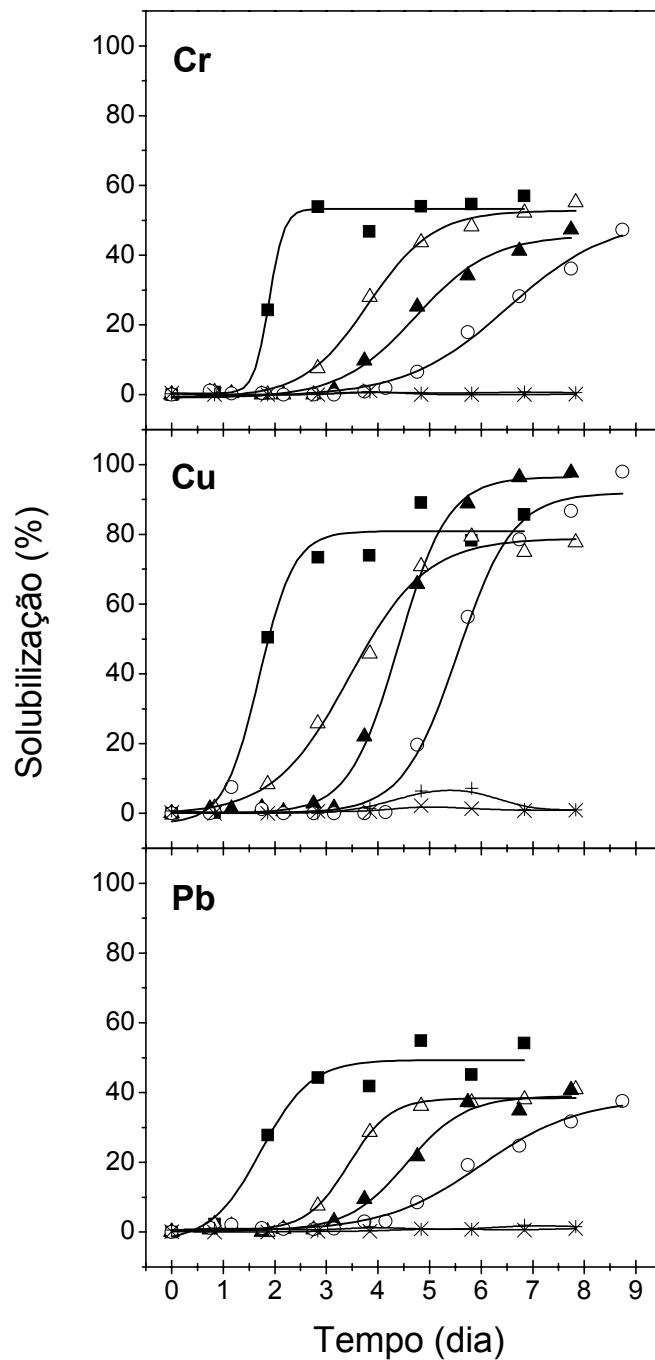


Figura 4.11 – Solubilização, expressa em porcentagem, obtida para os metais Cr, Cu e Pb durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da concentração de sólidos totais. Símbolos: Frascos inoculados, com concentração de sólidos totais de: (■) 10 g·L⁻¹; (Δ) 25 g·L⁻¹; (▲) 32,5 g·L⁻¹; (○) 40 g·L⁻¹. (+) Controle biológico (lodo não-autoclavado, inoculado, sem adição de S⁰); (x) Controle químico (lodo autoclavado, não-inoculado, com adição de S⁰). Frascos-controle contendo lodo com concentração de sólidos totais de 25 g·L⁻¹.

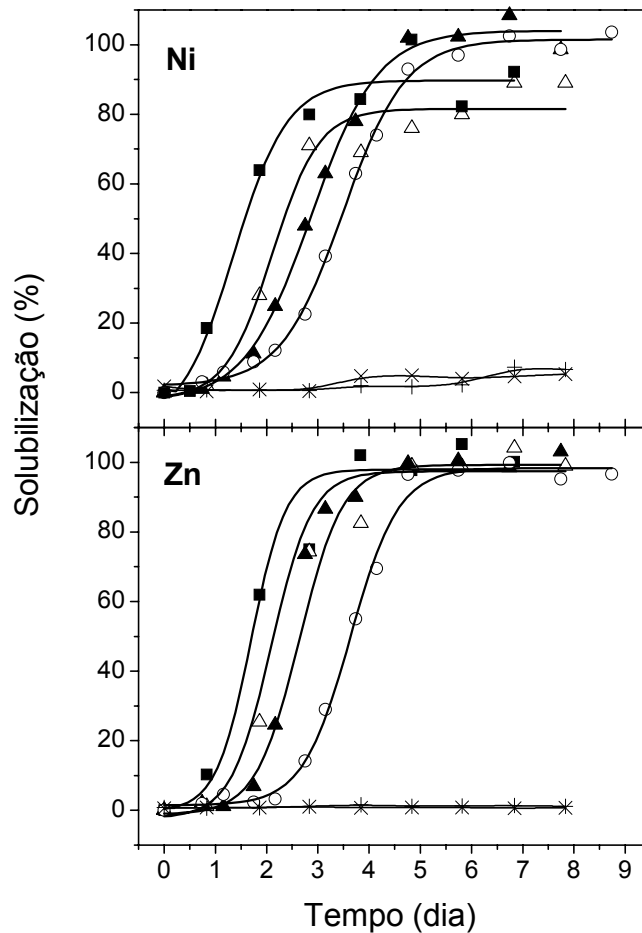


Figura 4.12 – Solubilização, expressa em porcentagem, obtida para os metais Ni e Zn durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da concentração de sólidos totais. Símbolos: Frascos inoculados, com concentração de sólidos totais de: (■) 10 g·L⁻¹; (Δ) 25 g·L⁻¹; (▲) 32,5 g·L⁻¹; (○) 40 g·L⁻¹. (+) Controle biológico (lodo não-autoclavado, inoculado, sem adição de S⁰); (x) Controle químico (lodo autoclavado, não-inoculado, com adição de S⁰). Frascos-controle contendo lodo com concentração de sólidos totais de 25 g·L⁻¹.

Verificou-se ainda que, para os metais investigados, os valores de k_B apresentaram uma tendência de aumento com a diminuição da concentração de sólidos totais. Essa tendência, entretanto, mostrou-se mais acentuada para os metais cromo, cobre e chumbo, enquanto níquel e zinco apresentaram menor alteração nos valores de k_B em função da variação da concentração de sólidos totais.

Tabela 4.6 – Parâmetros da equação sigmoideal de Boltzmann obtidos por ajuste das curvas de solubilização em função do tempo para os tratamentos inoculados, durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da concentração de sólidos totais.

Metal	Concentração de Sólidos Totais (g·L ⁻¹)	Parâmetros da Equação de Boltzmann			
		α_i (%)	α_{max}^* (%)	t_0 (dia)	k_b (dia ⁻¹)
Cromo	10	0,401	53,3a	1,87	17,7
	25	-0,794	52,8a	3,81	1,59
	32,5	-0,873	45,8a	4,73	1,36
	40	-0,566	50,5a	6,52	1,01
Cobre	10	-2,81	80,9a	1,70	2,97
	25	-0,262	78,8a	3,45	1,35
	32,5	0,130	96,4a	4,40	2,09
	40	0,148	91,9a	5,55	1,87
Chumbo	10	-2,64	49,3a	1,73	2,08
	25	0,518	38,4b	3,43	2,48
	32,5	0,387	39,0b	4,55	1,76
	40	0,305	38,2b	6,00	1,06
Níquel	10	-9,99	89,7a	1,36	1,91
	25	-1,84	81,6a	2,11	2,20
	32,5	-2,47	104a	2,87	1,55
	40	1,99	101a	3,49	1,64
Zinco	10	-0,237	97,9a	1,70	2,94
	25	-2,24	97,4a	2,10	2,54
	32,5	-1,17	99,2a	2,64	2,36
	40	1,40	98,3a	3,64	2,14

* Para cada metal, valores de solubilização máxima seguidos de letras idênticas indica que não houve diferença estatística entre esses valores (Teste de Tukey, com nível de significância de 5 %).

Finalizando essa seção, a Figura 4.13 apresenta os valores obtidos para a solubilização dos metais em função do pH do lodo durante os ensaios de lixiviação bacteriana realizados. Os resultados obtidos são análogos àqueles observados para o conjunto de ensaios a diferentes temperaturas e valores de pH inicial (Figura 4.9), ou seja, os metais cromo, cobre e chumbo tiveram sua solubilização iniciada a partir de valores de pH entre 2,5 e 3,0, enquanto os metais níquel e zinco foram solubilizados a partir de valores de pH entre 5,0 e 6,0.

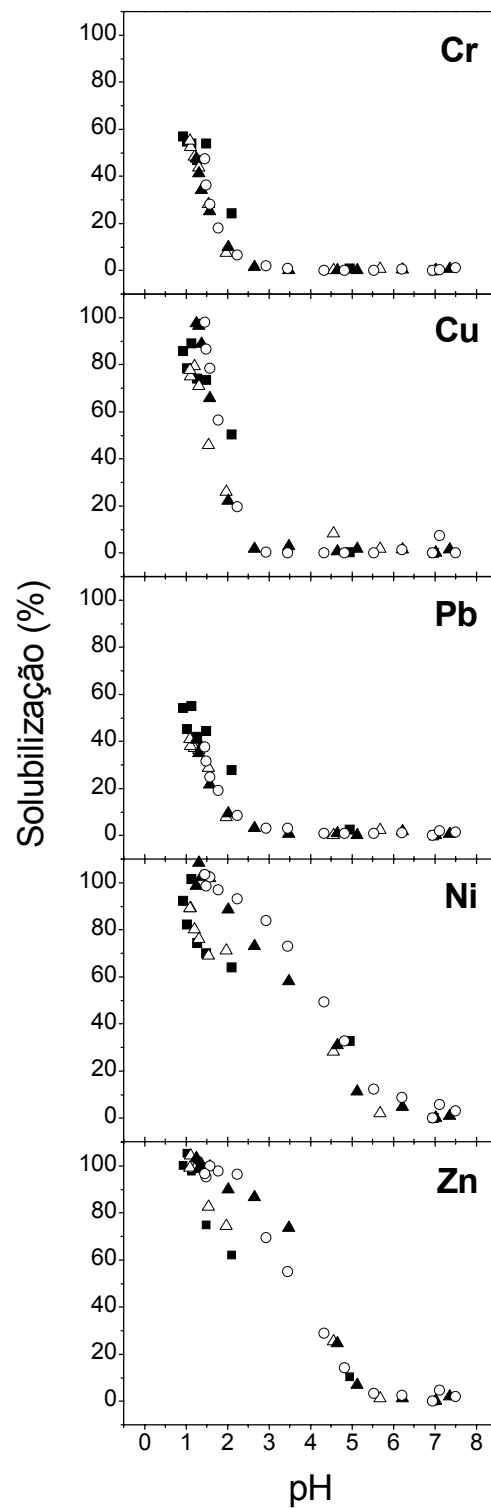


Figura 4.13 – Solubilização em função do pH para os metais Cr, Cu, Pb, Ni e Zn durante ensaio de lixiviação bacteriana para estudo do efeito da concentração de sólidos totais. Símbolos: Frascos inoculados, com concentração de sólidos totais de: (■) 10 g·L⁻¹; (△) 25 g·L⁻¹; (▲) 32,5 g·L⁻¹; (○) 40 g·L⁻¹.

4.2.5 Curvas de Crescimento de Thiobacilli Endógenos

A complementação dos ensaios de lixiviação realizados a pH inicial 7,0 e 4,0 foi realizada investigando-se o crescimento dos thiobacilli endógenos em ambas as condições de pH inicial. Para tanto, foram realizados dois ensaios adicionais, à temperatura de 30°C, para valores de pH inicial 7,0 e 4,0. Ao longo desses ensaios foram enumeradas as populações de thiobacilli acidofílicos e neutrofílicos.

Os resultados obtidos para a acidificação do lodo e aumento do potencial de óxido-redução (Figura 4.14) apresentaram-se semelhantes àqueles obtidos anteriormente para as mesmas condições de ensaio (Figura 4.5). Valores de pH próximos a 1,4 foram obtidos após 4 e 6 dias de incubação para os ensaios iniciados a pH 4,0 e 7,0, respectivamente. Os valores finais de E_h obtidos foram da ordem de 500 mV, para ambos os ensaios.

As curvas de crescimento obtidas para os dois grupos de thiobacilli estão apresentadas na Figura 4.15. Observa-se que as curvas de crescimento para thiobacilli acidofílicos apresentaram duas regiões de crescimento exponencial, sendo a primeira delas iniciada a pH 4,0 e a segunda região com início em pH próximo a 2,0, como pode ser obtido da Figura 4.14. Esse comportamento foi observado para os ensaios realizados em ambas as condições de pH inicial.

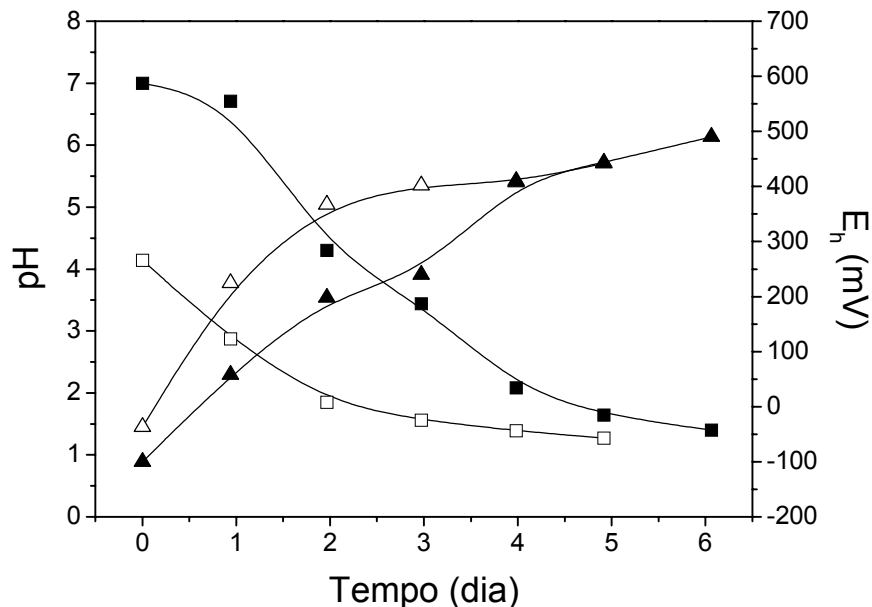


Figura 4.14 – Valores de pH e de E_h durante ensaio de enumeração de thiobacilli endógenos. Símbolos: (□) pH, para ensaio a pH inicial 4,0; (■) pH, para ensaio a pH inicial 7,0; (Δ) E_h , para ensaio a pH inicial 4,0; (▲) E_h , para ensaio a pH inicial 7,0.

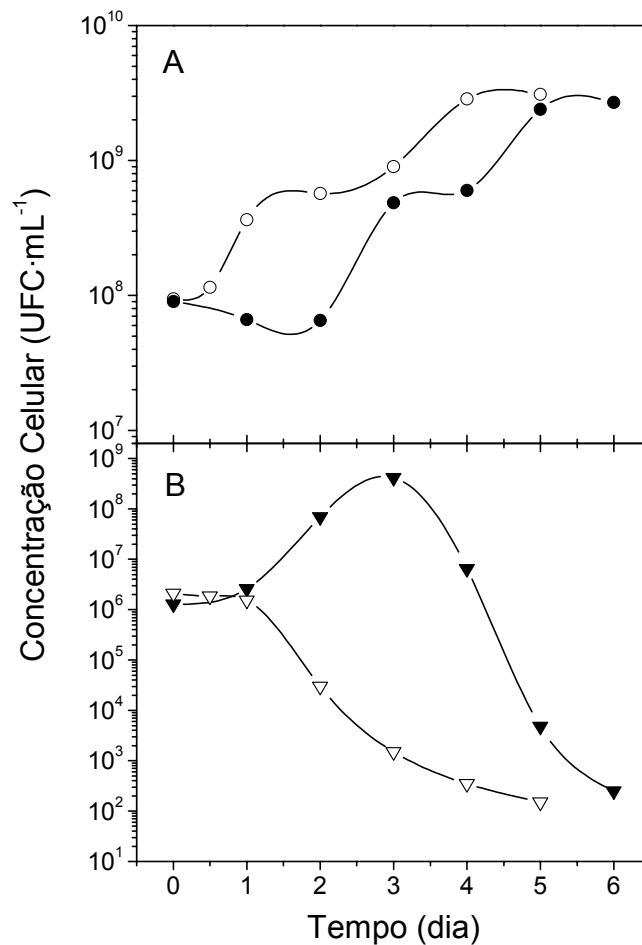


Figura 4.15 – Curvas de crescimento para thiobacilli acidofílicos (A) e neutrofílicos (B) durante ensaios de lixiviação bacteriana iniciados a pH 7,0 e 4,0. Símbolos: (●) thiobacilli acidofílicos, para ensaio a pH inicial 7,0; (○) thiobacilli acidofílicos, para ensaio a pH inicial 4,0; (▼) thiobacilli neutrofílicos, para ensaio a pH inicial 7,0; (▽) thiobacilli neutrofílicos, para ensaio a pH inicial 4,0.

O crescimento de thiobacilli neutrofílicos ocorreu apenas para o ensaio iniciado a pH 7,0, tendo sido verificado um declínio acentuado da população de thiobacilli neutrofílicos para valores de pH abaixo de 3,0, ocasionado pela perda de viabilidade dessa população.

4.2.6 Distribuição das Espécies Metálicas

Com base nos valores de solubilização máxima obtidos nos ensaios de lixiviação realizados neste projeto (Tabelas 4.4 e 4.6), verificou-se a seguinte ordem decrescente de eficiência de solubilização: $Zn \cong Ni > Cu > Cr \cong Pb$.

Com o objetivo de investigar esse resultado, foram determinadas as espécies metálicas presentes no lodo antes e após a realização do ensaio de lixiviação. Para essa investigação, foi conduzido um ensaio de lixiviação bacteriana utilizando lodo suplementado com esferas de S^0 ($0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), nas condições de pH inicial 7,0 e temperatura de 30°C . O tempo total de duração do ensaio foi de, aproximadamente, 13 dias, tendo-se obtido um pH final de 1,7 (dados não mostrados). Após o término do ensaio, o enxofre não consumido foi retirado, e o lodo acidificado foi analisado, após secagem até massa constante, quanto à distribuição das espécies metálicas.

Os resultados obtidos para o fracionamento das espécies metálicas presentes na fase sólida do lodo, antes e após a realização do ensaio de lixiviação bacteriana, estão apresentados na Figura 4.16. O método de fracionamento utilizado (OAKE et al., 1984) apresentou valores elevados de recuperação da concentração total de metais (acima de 95 %), exceto para cromo, cuja recuperação foi de 73 % (dados não apresentados).

Para o lodo *in natura*, obtiveram-se as seguintes frações preponderantes, calculadas em relação à concentração total recuperada: fração carbonato, para os metais cobre, chumbo e níquel, que apresentaram cerca de 50 % (m/m) de sua concentração total presente nessa fração e; fração orgânica, para cromo e zinco, atingindo quase 80 % (m/m) da concentração total desses metais. A fração sulfeto resultou abaixo de 10 % (m/m) para todos os metais, à exceção de cobre que atingiu 17 % (m/m). As frações de maior mobilidade, a saber, trocável e adsorvida, foram significativas apenas para níquel e chumbo, as quais totalizaram 32 e 24 % (m/m) da concentração total desses metais, respectivamente.

A distribuição das frações após o ensaio de lixiviação foi calculada em relação à concentração inicial de cada metal, de forma que é possível verificar na Figura 4.16 a diminuição, ou mesmo, o desaparecimento de algumas frações. Para os metais níquel e zinco, praticamente todas as frações foram totalmente solubilizadas, restando apenas uma parcela não solubilizada da fração carbonato, para níquel e, da fração orgânica, para zinco. Para cobre houve uma diminuição significativa de todas as frações presentes, sem, contudo, ocorrer o desaparecimento das frações orgânica, carbonato e sulfeto. Finalmente, os metais cromo e chumbo apresentaram apenas uma pequena diminuição de suas frações preponderantes (orgânica e carbonato, respectivamente), sendo que as frações trocável e adsorvida observadas para chumbo foram totalmente solubilizadas.

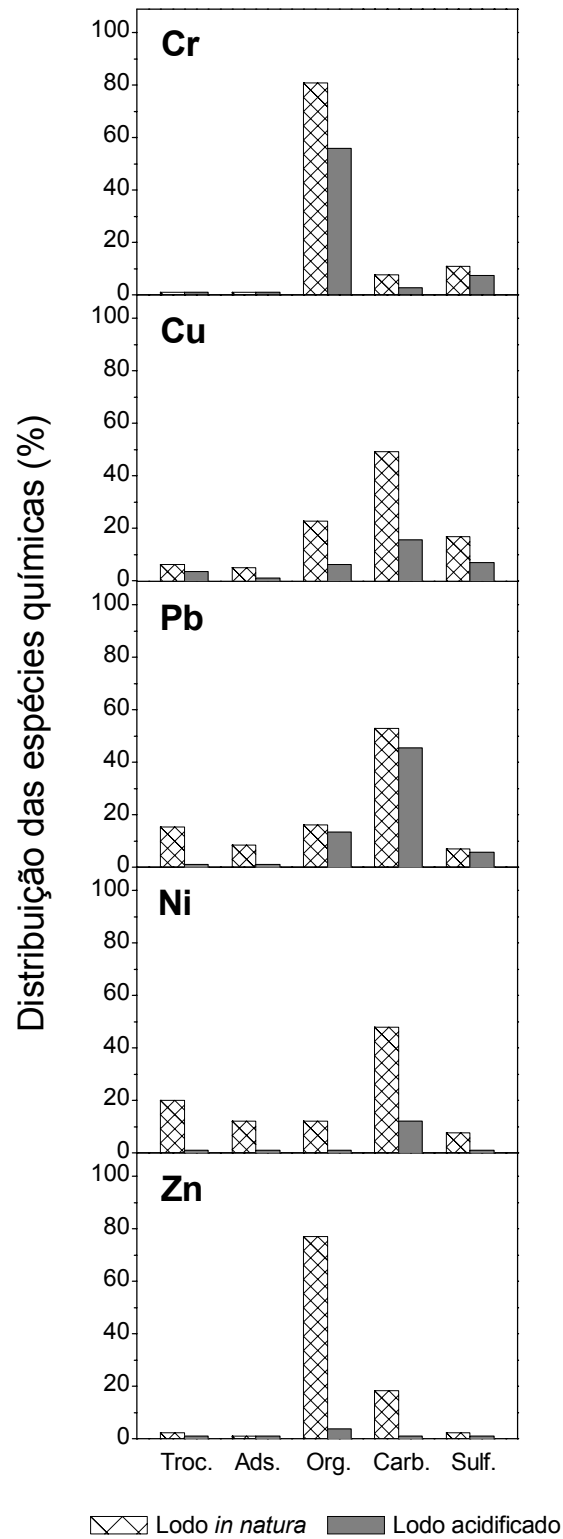


Figura 4.16 – Distribuição das espécies químicas para os metais Cr, Cu, Pb, Ni e Zn presentes no lodo *in natura* e no lodo acidificado, obtido após lixiviação bacteriana. Frações analisadas: Troc.: trocável; Ads.: adsorvida; Org.: orgânica; Carb.: carbonato; Sulf.: sulfeto.

4.3 Alterações no Lodo de Esgoto decorrentes da Lixiviação Bacteriana

Nesta seção serão avaliadas as alterações ocorridas no lodo, decorrentes do processo de lixiviação bacteriana, quanto à distribuição das frações nitrogênio e fósforo e quanto à variação do número de bactérias indicadoras de contaminação fecal.

4.3.1 Distribuição das Frações de Nitrogênio e Fósforo

A acidificação do lodo durante o processo de lixiviação bacteriana pode alterar a distribuição das frações de nitrogênio e fósforo, particularmente pela mineralização do nitrogênio e solubilização do fósforo. A fim de determinar essas possíveis alterações, realizou-se um ensaio de lixiviação, para o qual foram determinadas as frações de nitrogênio e fósforo presentes no lodo no início e final do ensaio. Incluiu-se, ainda, um controle contendo lodo não-autoclavado, não-inoculado e sem adição de S^0 , para o qual foram também avaliadas as frações de nitrogênio e fósforo após o término do ensaio. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 4.7.

A fração mineral de nitrogênio, definida como a soma das concentrações de nitrogênio amoniacal, nitrato e nitrito em relação à concentração de nitrogênio total, resultou próxima a 6 % (m/m) para o lodo *in natura*, ou seja, para o lodo recém-coletado na Estação. Após o ensaio de lixiviação, essa fração foi pouco alterada, tendo resultado em 10 % (m/m) para o lodo acidificado e, em 12 % (m/m) para o lodo-controle.

Tabela 4.7 – Distribuição das frações de nitrogênio e fósforo para lodo digerido, antes e após o ensaio de lixiviação bacteriana, e para o frasco-controle.

Concentração	Lixiviação Bacteriana		Controle
	Antes	Após	
Nitrogênio (mg N·L ⁻¹)			
Total (N _T)	1.349	1.342	1.176
Orgânico (N _{org})	1.271	1.212	1.012
Amoniacal (N-NH ₃)	42	66	53
Nitrato e Nitrito (N-NO ₃ ⁻ /NO ₂ ⁻)	36	65	112
Fósforo (mg P·L ⁻¹)			
Total (P _T)	263	266	260
Solúvel (P _S)	39	79	55

Alterações ligeiramente mais significativas foram observadas na fração de fósforo solúvel (P_S/P_T), que foi modificada de 15 % (m/m), no lodo *in natura*, para 30 % (m/m) no lodo acidificado. No frasco-controle a fração de fósforo solúvel, ao final do ensaio, resultou em 21 % (m/m).

As concentrações totais de nitrogênio e fósforo no lodo *in natura*, da ordem de 5 e 1 % (m/m), respectivamente, foram mantidas no lodo acidificado. Para o frasco-controle, entretanto, foi registrada uma diminuição da concentração de nitrogênio total, resultando em uma concentração final de 4,4 % (m/m). Uma vez que todas as frações de nitrogênio foram quantificadas, essa perda pode ser resultado da volatilização de amônia.

4.3.2 Variação do Número de Bactérias Indicadoras

Finalizando as atividades deste projeto, foi realizado um ensaio de lixiviação bacteriana, conduzido à 30°C e iniciado a pH 7,0, durante o qual foi avaliado o efeito da acidificação do lodo (Figura 4.17) sobre o número de bactérias indicadoras de contaminação fecal.

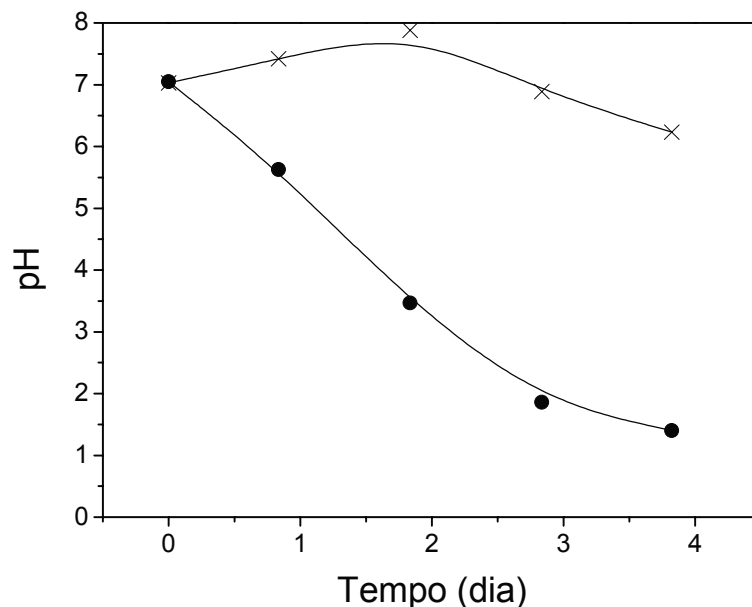


Figura 4.17 – Valores de pH em função do tempo para ensaio de lixiviação bacteriana para enumeração de organismos indicadores. Símbolos: (●) Frasco-ensaio, inoculado e com adição de S^0 ; (x) frasco-controle, não-inoculado e sem adição de S^0 .

Para tanto, foram enumerados os seguintes grupos de bactérias: coliformes totais, coliformes fecais e estreptococos fecais, tendo-se ainda enumerado as bactérias heterotróficas totais (aeróbias) para efeito de comparação com a população de bactérias indicadoras (Figura 4.18).

Um frasco-controle contendo lodo não-autoclavado, não-inoculado e sem adição de S^0 foi incluído. Os resultados obtidos foram semelhantes àqueles obtidos para os ensaios de lixiviação conduzidos em condições semelhantes. Assim, para o frasco-ensaio, o pH final de 1,5, aproximadamente, foi obtido após 4 dias de ensaio, enquanto, para o frasco-controle, o pH foi mantido em torno de 7,0 ao longo de todo o período de incubação.

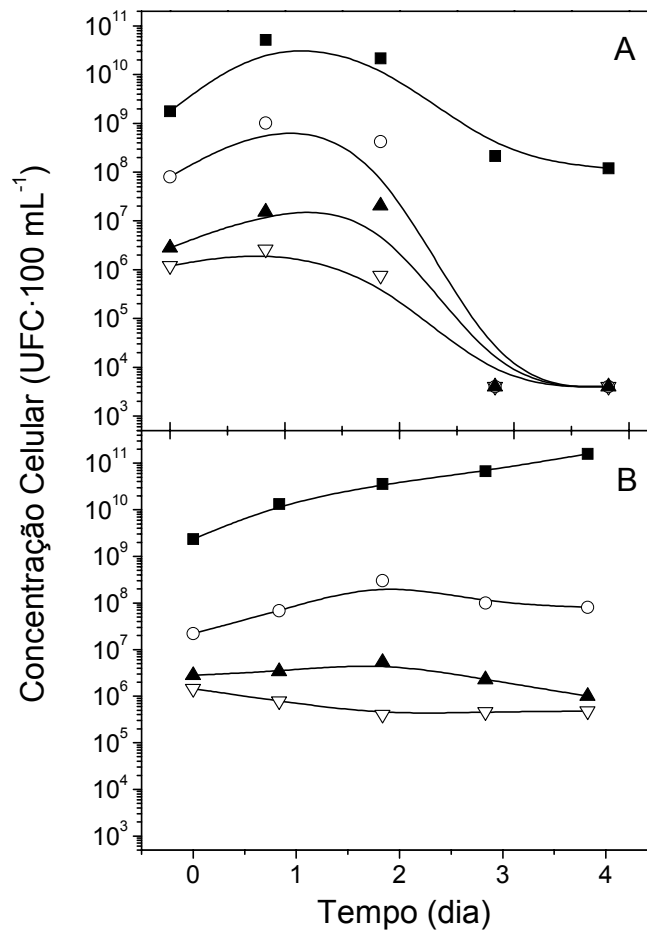


Figura 4.18 – Enumeração de bactérias indicadoras durante ensaio de lixiviação bacteriana. (A) Frasco-ensaio, inoculado e com adição de S^0 ; (B) frasco-controle, não-inoculado e sem adição de S^0 . Símbolos: (■) Bactérias heterotróficas totais (aeróbias); (○) Coliformes totais; (▲) Coliformes fecais; (▽) Estreptococos fecais.

A acidificação do lodo durante o processo de lixiviação promoveu uma diminuição da população de bactérias indicadoras, como pode ser verificado na Figura 4.18. Assim, a partir do terceiro dia de ensaio, quando o pH do lodo encontrava-se em 2,0 (Figura 4.17), as populações de coliformes totais, coliformes fecais e estreptococos fecais resultaram abaixo de 4×10^3 UFC·100 mL⁻¹.

Desta forma, o decaimento das populações de bactérias indicadoras atingiu: 99,99% para coliformes totais, a partir de uma população inicial de 8×10^7 UFC·100 mL⁻¹; 99,86% para coliformes fecais, de uma população inicial de $2,8 \times 10^6$ UFC·100 mL⁻¹ e; 99,67% para estreptococos fecais, de uma população inicial de $1,2 \times 10^6$ UFC·100 mL⁻¹. A população de bactérias heterotróficas também foi diminuída, embora mais modestamente, em 93,34% de uma população inicial de $1,8 \times 10^9$ UFC·100 mL⁻¹.

Para o frasco-controle, observa-se que praticamente não houve alteração na concentração de bactérias indicadoras. Adicionalmente, as condições aeróbias de incubação do controle permitiram um aumento significativo da população de bactérias heterotróficas, desde $2,4 \times 10^9$ UFC·100 mL⁻¹ até $1,6 \times 10^{11}$ UFC·100 mL⁻¹.

5 DISCUSSÃO

Embora não se constituísse em um dos objetivos iniciais deste projeto, a caracterização de diversas amostras de lodo, quanto à concentração de sólidos totais e de metais, permitiu que se obtivesse, ao final deste trabalho, um conjunto de dados bastante relevante sobre as condições de operação da ETE-Franca (SP) no período estudado.

A concentração de sólidos totais para o lodo digerido coletado na Estação apresentou valores compreendidos entre 16,2 e 26,8 g·L⁻¹ para as amostras coletadas no período de agosto de 1.999 a julho de 2.001 (Tabela 4.1), com valor médio de 21 g·L⁻¹. Lodos anaeróbios gerados por processo similar ao empregado pela ETE-Franca (SP), ou seja, pela digestão da mistura de lodo primário e lodo secundário, esse último oriundo de sistemas de lodos ativados, devem apresentar valores de concentração de sólidos totais entre 25 e 70 g·L⁻¹, com valores típicos de 35 g·L⁻¹ (TCHOBANOGLIOUS e BURTON, 1991).

Verifica-se, portanto, que o lodo anaeróbio gerado pela ETE-Franca (SP) apresentou teor de sólidos bastante inferior aos valores de referência. Tal observação deve ser atribuída às condições de operação do sistema de lodos ativados, que freqüentemente apresentou, durante o período, problemas operacionais relacionados à presença de lodo ascendente no decantador secundário (ETE-FRANCA, informação verbal).

Alterações ocorridas nas condições de operação da ETE-Franca (SP), em decorrência do recebimento do lodo gerado pela Estação de Tratamento de Água (ETA) do município, a partir de setembro de 2.001, provocaram a modificação de algumas das características do lodo digerido, entre elas, o teor de sólidos totais, que resultou em valores mais elevados, a exemplo da concentração obtida para a amostra coletada em outubro de 2.001 (Tabela 4.1).

A concentração total de metais no lodo digerido também foi significativamente alterada em função da diluição causada pelo recebimento de lodo da ETA. Em relação à amostra coletada em julho de 2.001, observou-se que as concentrações de chumbo, níquel e zinco foram, praticamente, decrescidas à metade na amostra de lodo coletada em outubro de 2.001 (Tabela 4.2), em correspondência à elevação da concentração de sólidos totais (Tabela 4.1). As concentrações totais de cromo e cobre, entretanto, foram diminuídas a 20 e 30 %, respectivamente, indicando que, possivelmente, aliado ao efeito da diluição, deve ter ocorrido uma diminuição da contribuição desses metais no esgoto sanitário afluente à Estação.

A prática de disposição dos lodos gerados em ETAs em sistemas de tratamento de esgotos sanitários apresenta-se como uma alternativa tecnicamente viável, uma vez que não compromete a eficiência de decantadores primários e de biodigestores anaeróbios

(BERNARDO et al., 1999), considerados como unidades críticas por receberem grande parte da carga inorgânica (sólidos sedimentáveis) e orgânica (DQO) presentes em lodos de ETAs.

Apesar disto, deve-se considerar que pela sua baixa concentração em sólidos voláteis, compreendida entre 10 e 25 % da concentração de sólidos totais (CORDEIRO, 1981), o lodo gerado em ETAs apresenta uma característica essencialmente inorgânica, fato esse que irá alterar a composição final do lodo de esgoto, caracterizada por apresentar elevado teor de matéria orgânica.

Apesar da importância do tema, uma discussão mais prolongada não é pertinente a este trabalho, devendo-se apenas salientar que os efeitos da aplicação de lodo de esgoto na produtividade agrônômica ainda estão em estudo no País e se, lodos oriundos de ETAs forem dispostos em sistemas de tratamento de esgoto sanitário, estudos adicionais serão necessários para verificar o efeito dessa prática na qualidade dos biossólidos gerados.

Ainda que se desconsidere a coleta efetuada após o início do recebimento de lodo da ETA, variações significativas nas concentrações totais dos metais cromo, cobre, níquel e chumbo foram observadas, no período estudado (Tabela 4.2). Dessas variações, apenas o declínio na concentração de cromo pôde ser atribuído a uma fonte específica, no caso, à detecção e o controle de despejos clandestinos efetuados por curtumes localizados no município de Franca-SP (ETE-FRANCA, informação verbal).

Variações na concentração total de metais presentes em lodo de esgoto sanitário foram relatadas por outros autores. França e Figueiredo (2000) determinaram a concentração total de cádmio, chumbo, cobre, cromo, níquel e zinco para amostras coletadas ao longo dos anos de 1.998 e 1.999, em um total de 10 amostras, para o lodo gerado na ETE-Barueri (SP). Dentre esses metais, apresentaram variações significativas, em base seca: cobre, desde 164 até 1.790 mg·kg⁻¹; cromo, desde 99 até 630 mg·kg⁻¹ e; chumbo, desde 72 até 535 mg·kg⁻¹.

Com base nessas observações, fica evidenciada a necessidade de determinação freqüente, ainda que laboriosa, da concentração total de metal em lodo de esgoto, especialmente se a destinação do lodo for a aplicação agrícola.

As concentrações totais obtidas para os metais investigados, nas diversas amostras analisadas, encontraram-se abaixo dos limites permitidos pela norma estadual P4.230 (CETESB, 1999); embora, para os padrões estabelecidos por alguns países, esse lodo não poderia ser aplicado em áreas agrícolas. Assim, por exemplo, segundo as normas holandesas (Tabela 2.2), o lodo gerado na ETE-Franca (SP) estaria com teores de cromo, cobre, níquel e zinco acima do permitido, para todas as amostras analisadas. As concentrações de cromo e

níquel também impossibilitariam seu uso na Dinamarca e, na Suécia, não seria utilizado devido à elevada concentração de cromo. Algumas amostras seriam ainda rejeitadas pelas normas vigentes na Áustria, Bélgica, Finlândia e Grécia.

Tais diferenças entre legislações devem encorajar a realização de estudos nacionais que estabeleçam limites seguros para a presença de metais no lodo e para seu acúmulo no solo, de acordo com as características pedológicas e climáticas existentes no País.

Os metais presentes nas amostras de lodo digerido e lodo não-digerido se apresentaram, majoritariamente, associados à fração sólida do lodo, com baixas concentrações de metais dissolvidos (Tabela 4.3). Níquel apresentou-se como o único metal cuja concentração na fase líquida do lodo apresentou valores elevados, desde 1,3 até 9 % da concentração total desse metal.

Hayes e Theis (1978), durante estudo para determinar a distribuição das espécies metálicas em lodo anaeróbio, verificaram que, dentre os metais cádmio, cobre, cromo, chumbo, níquel e zinco, apenas níquel apresentou-se dissolvido, em concentrações variando entre 1 e 3 % de sua concentração total. Du et al. (1994) apresentaram valores médios para metais dissolvidos em lodos anaeróbios gerados em diversas estações norte-americanas. As concentrações médias obtidas por esses autores foram: cromo, 0,6 %; cobre, 1,2 %; níquel, 2,4 %; chumbo, 1,4 % e, zinco, 2,9 %.

Observando-se os diagramas pH vs. E_h , elaborados por Theis e Hayes (1980), para os metais estudados (Figura 2.2 e Anexo A), verifica-se que o início da fase iônica solúvel de níquel (Ni^{2+}) situa-se em valores de E_h da ordem de -200 mV e, pH próximo a neutralidade, condições essas geralmente observadas em lodos anaeróbios. Para os demais metais, o início da fase solúvel é observado ou, para valores de pH abaixo de 6,0 ou, para valores de E_h positivos.

Apesar de pouco significativa, a concentração de metal dissolvido foi utilizada no cálculo da eficiência de solubilização (Equações 3.1 e 3.2), à semelhança do procedimento utilizado por outros autores (DU et al., 1994; COUILLARD e ZHU, 1992).

O estudo da aplicação da lixiviação bacteriana na solubilização de metais em lodo de esgoto foi iniciado pela realização de um ensaio preliminar, cujo objetivo consistia em verificar se a solubilização dos metais seria mais eficiente utilizando-se lodo digerido ou lodo não-digerido.

Os resultados obtidos demonstraram que a lixiviação bacteriana apresentou baixa sensibilidade quanto ao tipo de lodo utilizado (Figuras 4.2 e 4.3), tendo-se atingido valores similares de pH final (Figura 4.1). Resultados semelhantes foram reportados por Blais et al.

(1992b), que compararam a solubilização obtida em lodo secundário, oriundo do excesso de lodos ativados, e lodo anaeróbio, obtido por digestão do lodo secundário, em um sistema utilizando thiobacilli endógenos sulfo-oxidantes, a pH inicial 7,0.

Ainda que os objetivos iniciais desse ensaio preliminar tenham sido atingidos, a análise dos resultados mostrou que as condições de realização do ensaio poderiam ter sido otimizadas.

Assim, os perfis de acidificação, obtidos para os dois tipos de lodo (Figura 4.1), indicaram a presença de fases de adaptação relativamente elevadas (7 e 9 dias para o lodo digerido e não-digerido, respectivamente). Uma vez que a linhagem *A. thiooxidans* FG01 não foi previamente adaptada ao lodo, mas inoculada diretamente de um sub-cultivo em meio mineral “9K”, é bastante provável que as fases de adaptação observadas poderiam ter sido minimizadas. Alguns autores (HENRY et al., 1991; TYAGI e COUILLARD, 1987; WONG e HENRY, 1984), trabalhando com a espécie *A. ferrooxidans*, procederam à sua adaptação ao lodo, evitando, assim, o aparecimento de fases de adaptação durante o ensaio de lixiviação.

Lombardi e Garcia Júnior (2001) também observaram uma fase de adaptação de 7 dias, durante ensaio de lixiviação bacteriana utilizando a linhagem *A. thiooxidans* FG01, quando inoculada, sem prévia adaptação, em lodo adensado gerado em tanque séptico. Quando inoculada em meio mineral, essa linhagem não apresenta fase de adaptação (GARCIA JÚNIOR, 1991), sendo possível que a presença de compostos orgânicos responda pelos elevados tempos de adaptação observados quando inoculada em lodo.

Adicionalmente, pelas curvas obtidas nas Figuras 4.2 e 4.3, nota-se que a solubilização não atingiu valores finais estáveis, especialmente para cromo, cobre e chumbo, como foi observado nos ensaios de lixiviação que se seguiram (Figuras 4.6 e 4.11), indicando que o ensaio foi interrompido antes de atingir o estado de equilíbrio químico.

Dois outros aspectos desse ensaio que ainda merecem ser discutidos referem-se ao comportamento observado para os controles inclusos no ensaio e, à solubilização parcial de níquel e zinco devida ao ajuste inicial de pH.

Conforme mencionado no capítulo anterior, a ausência de acidificação do lodo nos controles biológicos (Figura 4.1) permitiu verificar a necessidade da adição de enxofre elementar para que ocorra a lixiviação bacteriana, uma vez que a espécie *A. thiooxidans* não oxida sulfetos metálicos (KELLY e HARRISON, 1989), presentes no lodo anaeróbio da ETE-Franca (SP), como demonstrou a análise de especiação (Figura 4.16).

Adicionalmente, os controles contendo lodo digerido tiveram uma forte tendência a retornar à condição de pH inicial, próxima à neutralidade. Tal comportamento deve-se à

característica tamponante do lodo digerido devido à presença de amônia e bicarbonatos que tendem a manter o pH do lodo digerido em 7,0 (LUDUVICE, 2001).

O segundo aspecto que merece ser destacado refere-se à solubilização parcial de níquel e zinco devida ao ajuste inicial de pH (Figura 4.3). Alguns autores (XIANG et al., 2000; BLAIS et al., 1993b), trabalhando com a espécie *A. ferrooxidans*, a pH inicial 4,0 ajustado com H₂SO₄, verificaram comportamento similar para esses metais. Em média, a solubilização inicial de níquel, nesses trabalhos, situou-se em 30 % e a de zinco em 40 %. A solubilização desses metais a partir de valores de pH entre 5,0 e 6,0 (Figuras 4.9 e 4.13) reforçam os resultados obtidos nesse ensaio preliminar.

Dando-se continuidade a este projeto, estudou-se o efeito dos parâmetros temperatura, pH inicial e concentração de sólidos totais sobre a eficiência e a cinética da lixiviação bacteriana, utilizando-se lodo digerido. Antes, porém, procedeu-se à geração de um inóculo contendo thiobacilli endógenos, que foi utilizado nesses ensaios.

Observando-se os perfis de acidificação obtidos durante os sub-cultivos realizados (Figura 4.4), nota-se que, durante a acidificação inicial, o decaimento do pH desde 7,0 até, aproximadamente, 3,5 ocorreu linearmente. A partir desse valor, o abaixamento do pH apresentou um decaimento lento, semelhante a uma curva assintótica decrescente. Esse mesmo comportamento foi observado por Blais et al. (1992b), durante a acidificação inicial para obtenção de inóculo contendo thiobacilli endógenos sulfo-oxidantes, utilizando lodo secundário, não-digerido.

Na medida em que os sub-cultivos se sucederam, houve uma tendência em diminuir a fase assintótica (Figura 4.4), de forma a acelerar o decaimento do pH do lodo, de modo semelhante ao observado por Blais et al. (1992b).

A análise dos controles inclusos durante a acidificação inicial demonstrou que não ocorreu abaixamento do pH devido à oxidação química do enxofre (controle químico), analogamente aos controles químicos inclusos no ensaio preliminar. Para o controle biológico, contendo lodo não-autoclavado, observou-se uma tendência de abaixamento do pH até valores próximos a 5,0 (Figura 4.4).

Algumas espécies neutrofilicas de thiobacilli são capazes de oxidar sulfetos metálicos (KELLY e HARRISON, 1989), promovendo, assim, a acidificação observada no controle biológico (Figura 4.4). Dentre essas espécies destacam-se a *T. thioparus*, que foi isolada de lodo de esgoto anaeróbico por Jain e Tyagi (1992) e, a *T. denitrificans*, que sendo anaeróbia facultativa (KELLY e HARRISON, 1989), pode manter uma população viável, relativamente elevada, mesmo durante a digestão anaeróbia do lodo.

A manutenção do inóculo contendo thiobacilli endógenos foi realizada periodicamente, sempre anteriormente à realização dos ensaios de lixiviação. De modo geral, os sub-cultivos para obtenção e manutenção do inóculo foram conduzidos até pH final abaixo de 1,5. Nessas condições, o inóculo foi enriquecido em thiobacilli acidofílicos, uma vez que a população de thiobacilli neutrofílicos não apresenta crescimento a valores de pH abaixo de 4,0 (KELLY e HARRISON, 1989), como confirmou o ensaio de enumeração de thiobacilli endógenos realizado neste trabalho (Figura 4.15).

Os resultados obtidos para os ensaios a diferentes temperaturas e valores de pH inicial demonstraram que, à temperatura de 30°C, obtiveram-se os menores tempos para acidificação do lodo e, para aumento do potencial de óxido-redução (E_h) do meio, para ambas as condições de pH inicial (Figura 4.5).

De fato, um grande número de espécies do gênero *Thiobacillus* (KELLY e HARRISON, 1989) e dos novos gêneros recém-estabelecidos (KELLY e WOOD, 2000) apresentam temperatura ótima entre 25 e 30°C (*T. thioparus*, *H. neapolitanus*, *T. denitrificans*, *T. novellus* e *A. thiooxidans*) ou, entre 30 e 35°C (*T. delicatus* e *A. ferrooxidans*), de modo que, a temperatura de 30°C é propícia ao desenvolvimento de diversas espécies, favorecendo, conseqüentemente, a cinética de acidificação do lodo, frente às outras temperaturas estudadas.

No estudo realizado por Blais et al. (1993b), o efeito da temperatura foi investigado para dois sistemas distintos de lixiviação bacteriana. O primeiro deles utilizando thiobacilli endógenos ferro-oxidantes e, portanto, com início a pH 4,0 e, o segundo sistema, utilizando thiobacilli endógenos sulfo-oxidantes, a pH inicial 7,0. Em ambos os casos, utilizou-se lodo digerido aeróbio, proveniente de um sistema de lodos ativados.

Os perfis de acidificação reportados por esses autores são semelhantes àqueles observados na Figura 4.5, de modo que, no trabalho de Blais et al. (1993b), observou-se que o declínio de pH ocorreu mais lentamente a 21°C e, mais rapidamente a 28 e 35°C, para ambos os sistemas de lixiviação estudados.

Ainda nesse trabalho (BLAIS et al., 1993b), para o sistema utilizando thiobacilli sulfo-oxidantes e à temperatura de 42°C, a acidificação do lodo ocorreu, inicialmente, segundo o mesmo perfil observado a 28 e a 35°C; entretanto, houve uma estabilização em pH 4,0, não se observando abaixamento adicional do pH. Resultado similar foi obtido no presente projeto, no qual o valor de pH foi estabilizado em 2,4 para o ensaio à pH inicial 7,0 e temperatura de 40°C (Figura 4.5).

Em outro estudo, Tyagi et al. (1994) apresentaram as curvas obtidas para a enumeração de thiobacilli neutrofílicos e acidofílicos em todas as temperaturas ensaiadas por

Blais et al. (1993b). Esse procedimento permitiu verificar a ausência de crescimento das espécies acidofílicas sulfo-oxidantes para o ensaio à temperatura de 42°C.

Com base nos resultados apresentados por Tyagi et al. (1994), pode-se inferir que a estabilização do pH em 2,4 (Figura 4.5) tenha ocorrido devido a condições desfavoráveis ao completo desenvolvimento das espécies acidofílicas presentes no lodo em estudo.

A presença da espécie *A. thiooxidans* no lodo anaeróbico gerado pela ETE-Franca (SP) foi confirmada por Barreira et al. (2001), sugerindo que essa espécie seja a principal responsável pela acidificação do lodo estudado a pH abaixo de 4,0. Entretanto, os resultados obtidos no presente trabalho são insuficientes para afirmar que essa espécie, em particular, tenha tido seu crescimento prejudicado durante o ensaio a 40°C e pH inicial 7,0.

A análise das curvas de variação de E_h ao longo dos ensaios realizados (Figura 4.5) permite verificar que valores finais mais elevados foram obtidos para os ensaios realizados à temperatura de 30°C. Blais et al. (1993b), no trabalho citado anteriormente, também observaram valores mais elevados de E_h para os ensaios realizados a 28 e 35°C, para o sistema em que utilizaram thiobacilli sulfo-oxidantes. Entretanto, os valores de E_h final reportados por esses autores, da ordem de 350 mV, encontram-se bastante inferiores aos valores obtidos na Figura 4.5, próximos a 550 mV. A interrupção do ensaio realizado por Blais et al. (1993b) a pH 2,0, deve explicar a diferença observada entre os valores finais de E_h .

Quanto à solubilização dos metais, observa-se que o efeito da temperatura na acidificação do lodo refletiu-se nos perfis de solubilização obtidos (Figuras 4.6 e 4.7), de modo que os valores de solubilização máxima (Tabela 4.4) foram mais rapidamente atingidos nos ensaios a 30°C. Comportamento semelhante foi reportado por Blais et al. (1993b), para os dois sistemas de lixiviação estudados, nos quais as solubilizações finais foram mais rapidamente atingidas para as temperaturas de 28 e 35°C.

O ajuste dos perfis de solubilização por uma curva do tipo sigmoidal (Equação 3.3) não foi realizado pelos trabalhos publicados anteriormente (TYAGI et al., 1994; BLAIS et al., 1993b). Nesses trabalhos, a interrupção dos ensaios a pH 2,0 não permitiu observar a estabilização dos valores finais de solubilização.

Sreekrishnan e Tyagi (1995), determinando a sensibilidade do processo de lixiviação a diversos parâmetros de processo, sumarizaram resultados obtidos em estudos anteriores e elaboraram curvas de solubilização típicas, com perfis bastante semelhantes ao ajuste sigmoidal utilizado no presente trabalho. Mais recentemente, uma equação sigmoidal, semelhante à utilizada neste projeto, foi proposta por Solisio et al. (2002) para ajuste dos

resultados obtidos em um sistema utilizando *A. ferrooxidans* aplicado à solubilização de metais presentes em lodo gerado no tratamento de efluentes da indústria metal-mecânica.

Embora o ajuste pela equação de Boltzmann tenha sido aplicado a todas as curvas de solubilização (Figuras 4.6 e 4.7), o perfil sigmoidal completo foi obtido somente para os ensaios a pH inicial 7,0 e, para o ensaio a pH inicial 4,0, à temperatura de 20°C. Nessas condições, observou-se que a solubilização de cromo, cobre e chumbo foi iniciada após um tempo de resposta, correspondente ao tempo necessário para atingir valores de pH entre 2,5 e 3,0, como demonstrou a Figura 4.9. Para níquel e zinco, os tempos de resposta foram significativamente menores, uma vez que coincidiram com o abaixamento do pH até valores entre 5,0 e 6,0 (Figura 4.9). Resultados semelhantes aos obtidos na Figura 4.9 foram apresentados por Tyagi et al. (1994), no trabalho citado anteriormente.

Por meio do ajuste das curvas de solubilização foi possível obter valores finais de solubilização comparáveis estatisticamente (Tabela 4.4). Desconsiderando as solubilizações obtidas para a condição de pH inicial 7,0 e temperatura de 40°C, as demais condições apresentaram solubilizações estatisticamente idênticas, cujos valores médios para níquel e zinco foram de 90 e 96 %, respectivamente, seguidos por cobre (79 %), cromo (54 %) e chumbo (49 %).

Solubilizações similares foram obtidas por Tyagi et al. (1994) para cobre (86 %), níquel (85 %) e zinco (92 %), para as diversas temperaturas estudadas, exceto para a temperatura de 42°C. As solubilizações de cromo e chumbo obtidas por esses autores, entretanto, mostraram-se próximas a 10 e 30 %, respectivamente, possivelmente devido ao valor final de pH ligeiramente mais elevado (pH 2,0) que os valores finais obtidos na Figura 4.5.

No trabalho desenvolvido por Blais et al. (1993b), o estudo do efeito da temperatura sobre a cinética de lixiviação foi conduzido assumindo-se uma cinética de primeira ordem, para a qual foram calculados os valores da constante da velocidade de solubilização (k). De modo análogo ao apresentado na Tabela 4.5, esses autores verificaram que, com o aumento da temperatura desde 21 até 35°C, houve um aumento dos valores de k , que resultaram, a 35°C, em 0,938 dia⁻¹; 0,690 dia⁻¹ e 1,299 dia⁻¹ para cobre, níquel e zinco, respectivamente. Os valores de k para cromo e chumbo não foram apresentados.

Quanto ao efeito do pH inicial sobre a cinética de lixiviação, não existem trabalhos que tenham calculado valores de k , que possam ser comparados com os valores apresentados na Tabela 4.5. Apenas o trabalho de Jain e Tyagi (1993) apresentou dados para as velocidades máximas de solubilização (v_{\max}), obtidos pela derivada da curva concentração de metal solubilizado ($[Me_{\text{lixiv}}]$) em função do tempo (t). Esses autores trabalharam com lodo

anaeróbio, em ensaios de lixiviação utilizando thiobacilli endógenos sulfo-oxidantes, a 25°C e com concentração de S^0 de 2 g·L⁻¹ e, observaram valores mais elevados de v_{\max} para cobre e zinco quando o ensaio foi iniciado a pH 4,0.

No presente trabalho, o efeito do pH inicial sobre a cinética de solubilização mostrou-se dependente do metal considerado. Assim, observou-se uma tendência de valores mais elevados de k_B e k a pH inicial 7,0, para os metais cromo, cobre e chumbo; enquanto para níquel e zinco, essa tendência ocorreu para os ensaios a pH inicial 4,0.

A comparação entre os valores de solubilização calculados a partir do modelo de Boltzmann e da equação de primeira ordem com os valores de solubilização obtidos experimentalmente (Figura 4.8) permitiu verificar que o modelo sigmoidal melhor representa os resultados experimentais obtidos, sendo possível que possa ser aplicado para previsão da eficiência do processo. Entretanto, os valores negativos obtidos para os parâmetros q_i e t_0 indicam que outros modelos sigmoidais devam ser estudados, uma vez que tais valores negativos não apresentam significado físico. A direta correlação do fenômeno de solubilização com o decaimento do pH (Figuras 4.9 e 4.13) sugere que modelos mais apropriados devam correlacionar solubilização e pH, uma vez que esse parâmetro mostrou-se como a força motriz do processo de lixiviação no lodo, como foi revelado pelo ensaio de distribuição das espécies metálicas (Figura 4.16).

Com a finalidade de complementar os ensaios realizados, decidiu-se investigar o efeito do pH inicial 7,0 e 4,0 sobre o crescimento das espécies neutrofilicas e acidofilicas de thiobacilli, à temperatura de 30°C.

De modo inédito, obteve-se para o crescimento de thiobacilli acidofilicos, em ambas as condições de pH inicial, duas regiões de crescimento exponencial; resultado que não foi reportado por outros autores em estudos de enumeração de thiobacilli endógenos sulfo-oxidantes (TYAGI et al., 1994; BLAIS et al., 1993b). Nesses trabalhos, mais uma vez, a interrupção do ensaio a pH final 2,0, possivelmente, tenha sido responsável pela ausência dessa segunda região, uma vez que seu aparecimento ocorreu em valores de pH próximos a 2,2 e a 1,8, para as condições de pH inicial 7,0 e 4,0, respectivamente (Figuras 4.13 e 4.14).

Embora não existam estudos que demonstrem a ocorrência de diauxia para espécies de thiobacilli, os resultados obtidos sugerem esse comportamento para o grupo de thiobacilli acidofilicos presente no lodo em estudo. Em um trabalho da década de 70, Kelly e Tuovinen (1975) reportaram a ocorrência de acúmulo de tetrionato ($S_4O_6^{2-}$) durante a oxidação de tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) pela espécie *A. ferrooxidans*. A ocorrência de acúmulo de sulfito (SO_3^{2-}) durante a oxidação de S^0 por *A. ferrooxidans* também foi relatada, mais recentemente

(PRONK et al., 1990 apud BARBOSA-JEFFERSON et al., 1998). Apesar disto, esses trabalhos não levantam a hipótese de ocorrência de diauxia para essa espécie.

De toda sorte, a enumeração dos thiobacilli acidofílicos permitiu verificar que, embora ocorra uma fase de adaptação para o crescimento desses thiobacilli a pH inicial 7,0, o desenvolvimento desses organismos ocorre de modo muito semelhante para ambas as condições de pH inicial, representando uma vantagem para operação do processo de lixiviação nas condições de pH do lodo geralmente encontradas na Estação.

Dando-se continuidade a este trabalho, investigou-se o efeito da concentração de sólidos totais, tendo-se observado que o decaimento do pH e aumento do potencial de óxido-redução ocorreram mais rapidamente para valores mais baixos de concentração de sólidos.

O decaimento mais rápido do pH para menores valores de concentração de sólidos totais também foi observado por outros autores (JAIN e TYAGI, 1993; SREEKRISHNAN et al., 1993), que trabalharam com lodo anaeróbio e aeróbio, respectivamente, em ensaios de lixiviação iniciados a pH 7,0, nos quais foram utilizados thiobacilli endógenos sulfo-oxidantes. No trabalho de Jain e Tyagi (1993) foram utilizadas as concentrações de sólidos totais de 5; 10; 20; 30; 40 e 50 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; enquanto Sreekrishnan et al. (1993) utilizaram as concentrações de 7; 22,8; 51,8 e 70 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Esses autores também observaram valores finais de pH ligeiramente mais elevados para maiores concentrações de sólidos, à semelhança do observado na Figura 4.10. Segundo esses autores, a maior concentração de sólidos aumenta as características tamponantes do lodo, além de dificultar a transferência de massa, ocasionando, assim, um decaimento mais lento do pH, além de valores finais de pH levemente mais elevados.

Os valores de E_h finais apresentados na Figura 4.10 resultaram praticamente idênticos, independente da concentração de sólidos totais estudada, indicando que o parâmetro pH, possivelmente, seja mais indicado para o monitoramento do ensaio de lixiviação. De fato, com base em resultados similares aos obtidos nas Figuras 4.9 e 4.13, alguns autores (LABERGE et al., 2000; DU et al., 1995; DU et al., 1994) têm proposto rotinas de cálculo, baseadas em medidas de pH, que permitam a previsão da solubilização a ser obtida em um processo de lixiviação em lodo de esgoto.

De modo análogo aos ensaios realizados a diferentes temperaturas e pH inicial, os perfis de solubilização (Figuras 4.11 e 4.12) apresentaram-se como um reflexo das curvas de acidificação do lodo, de modo que a solubilização final foi mais rapidamente atingida para concentrações de sólidos totais mais baixas (10 e 25 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Resultados semelhantes foram apresentados por Jain e Tyagi (1993) e Sreekrishnan et al. (1993).

No presente trabalho, a ligeira diferença entre os valores de pH final, para as diferentes concentrações de sólidos totais (Figura 4.10), ocasionou uma solubilização um pouco mais elevada para chumbo para a concentração de $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Tabela 4.6). Para os demais metais, as solubilizações máximas obtidas não apresentaram diferença estatística (Tabela 4.6).

Sreekrishnan et al. (1993) obtiveram menores eficiências de solubilização de cromo e cobre para as concentrações de sólidos totais de $52,8$ e $70 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; enquanto Cho et al. (2002) não observaram solubilização de cobre quando utilizaram lodo com teor de sólidos de $90 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ em um sistema utilizando *A. ferrooxidans*.

Com relação ao efeito da concentração de sólidos sobre a cinética de solubilização, os valores de k_B apresentados na Tabela 4.6 mostraram que o aumento no teor de sólidos ocasionou uma velocidade de solubilização mais lenta, especialmente para os metais cromo, cobre e chumbo. A velocidade de solubilização de níquel e zinco mostrou-se menos sensível à variação da concentração de sólidos. Esses resultados devem ser interpretados em função da Figura 4.13, na qual a solubilização de níquel e zinco apresentou menor incremento, para um mesmo gradiente de abaixamento de pH, que os metais cromo, cobre e chumbo.

Nos trabalhos disponíveis na literatura, não existem valores de constantes de velocidade que possam ser comparados com os valores apresentados na Tabela 4.6. Ainda assim, valores mais elevados de v_{\max} , obtidos pela derivada da curva $[Me_{\text{lixiv}}]$ vs. t , para os metais cobre e zinco, foram apresentados por Jain e Tyagi (1993), para concentrações de sólidos inferiores a $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Os comportamentos observados para os controles biológicos e químicos incluídos nos ensaios de lixiviação discutidos até o momento apresentaram-se muito semelhantes àqueles observados para os controles utilizados no ensaio preliminar e no ensaio de enriquecimento de thiobacilli endógenos, de modo que não serão novamente abordados.

Analisando-se conjuntamente os resultados obtidos nos diferentes ensaios realizados, observou-se um padrão de solubilização diferenciado para os metais estudados. De modo que, os metais níquel e zinco apresentaram-se facilmente solubilizáveis, ou seja, com início de solubilização a valores de pH elevados, entre $5,0$ e $6,0$; e com elevados índices de solubilização, acima de 90% . Por outro lado, os metais cromo, cobre e chumbo mostraram-se de mais difícil solubilização, necessitando de valores de pH abaixo de $3,0$ para iniciarem sua solubilização, além de índices de solubilização mais baixos, especialmente para cromo e chumbo, de cerca de 50% , com cobre apresentando índices mais elevados, da ordem de 80% .

Com a finalidade de investigar as possíveis razões dessa solubilização diferencial, procedeu-se ao ensaio de determinação da distribuição das espécies metálicas no lodo, antes e após a realização de um ensaio de lixiviação bacteriana.

A utilização de esferas de S^0 nesse ensaio ocasionou um tempo bem mais elevado (13 dias) para o abaixamento do pH até 1,7 (dados não mostrados). Resultados semelhantes foram apresentados por Ravishankar et al. (1994), quando utilizaram esferas de S^0 para lixiviação de lodo aeróbio, visando a recuperação do substrato não reagido ao final do processo. Esses autores atribuíram o resultado obtido à menor disponibilidade do enxofre à oxidação biológica, ocasionada pelo fenômeno de transporte de massa.

Analisando-se a distribuição das espécies metálicas para o lodo digerido *in natura* (Figura 4.16), verifica-se que, ao contrário das afirmações de Theis e Hayes (1980), a fração sulfeto no lodo anaeróbio resultou pouco significativa, em geral menor que 10 % (m/m), sendo que os metais cromo e zinco encontraram-se concentrados na fração orgânica, enquanto cobre, chumbo e níquel apresentaram-se, de modo preponderante, na fração carbonato.

Esses resultados encontram-se em concordância com os dados apresentados por Stover et al. (1976) para amostras de lodo de esgoto anaeróbio provenientes de diferentes ETEs norte-americanas. Esses autores verificaram uma predominância de zinco na fração orgânica (50 % m/m), enquanto chumbo e cobre estiveram presentes, majoritariamente, nas frações carbonato e sulfeto, respectivamente. Níquel apresentou uma distribuição mais homogênea (32 % como carbonato, 14 % na fração orgânica e 13 % na fração trocável). Desta forma, à exceção de cobre, as frações de sulfeto observadas por esses autores foram também pouco significativas: 9 % para zinco, 7 % para níquel e 4 % para chumbo.

Oake et al. (1984) incluíram ainda cromo entre os metais analisados, obtendo a seguinte distribuição média desse metal em amostras de lodo anaeróbio: 45 % na fase orgânica, 25 % como carbonato e 22 % como sulfeto.

Nos estudos conduzidos por Jain e Tyagi (1993), Tyagi (1992) e Tyagi e Couillard (1987), para diferentes sistemas de lixiviação bacteriana, reportou-se a seguinte ordem decrescente de solubilização máxima, semelhante à obtida no presente trabalho (Tabelas 4.4 e 4.6): $Zn \approx Ni > Cu > Pb$.

Para explicar essa ordem relativa de solubilização, esses autores, baseados no trabalho de Theis e Hayes (1980), trabalharam com a hipótese de que os metais presentes em lodo anaeróbio estavam distribuídos, principalmente, como sulfetos (cerca de 70 % m/m), sendo o restante complexado à matéria orgânica.

Desta forma, segundo esses autores, os sulfetos metálicos presentes no lodo anaeróbio seriam solubilizados, quase integralmente, pela ação das bactérias do gênero *Thiobacillus*, e dos novos gêneros estabelecidos, especialmente pela espécie *A. ferrooxidans*; enquanto a solubilização dos metais presentes na fração orgânica seria controlada pela ordem de estabilidade dos complexos organo-metálicos, estabelecida por Irving e Williams (1948). Essa ordem de estabilidade foi confirmada por Scott e Horlings (1975) para complexos organo-metálicos presentes em lodo de esgoto, sendo dada por: $Pb > Cu > Ni > Co > Zn > Cd$.

No presente trabalho, a ordem de solubilização máxima obtida, excluindo-se cromo, corresponde exatamente à ordem inversa de estabilidade de complexos organo-metálicos da série de Irving-Williams. De fato, a análise da distribuição de metais após o ensaio de lixiviação demonstrou que as frações orgânicas de níquel e zinco foram quase totalmente solubilizadas, enquanto as frações orgânicas de cromo e cobre foram solubilizadas parcialmente e, a de chumbo apresentou-se quase sem alteração (Figura 4.16).

Entretanto, as frações carbonato também apresentaram uma influência bastante significativa na solubilização máxima obtida neste trabalho, uma vez que os metais níquel, zinco e cobre, cujos produtos de solubilidade de seus carbonatos são da ordem de $10^{-6,8}$; 10^{-10} e $10^{-9,6}$ (CHARTIER et al., 2001), apresentaram solubilizações elevadas dessas frações (acima de 68 %), enquanto chumbo, com produto de solubilidade para carbonatos da ordem de 10^{-13} (CHARTIER et al., 2001), apresentou apenas 14 % de solubilização dessa fração (Figura 4.16).

Os resultados discutidos acima demonstram que, de modo um pouco diverso do que acreditava os autores citados anteriormente (JAIN e TYAGI, 1993; TYAGI, 1992; TYAGI e COUILLARD, 1987), a eficiência de solubilização dos metais, para o lodo estudado, mostrou-se controlada, principalmente, pela estabilidade dos complexos organo-metálicos formados e pelo produto de solubilidade dos carbonatos desses metais. Sendo que, a contribuição da fração sulfeto resultou pouco expressiva para a lixiviação bacteriana de metais nesse lodo.

A constatação de que a fração sulfeto pouco contribuiu para a solubilização dos metais presentes no lodo estudado confirma a dependência da solubilização em função do pH, observada nas Figuras 4.9 e 4.13, indicando que a solubilização dos metais nos ensaios realizados ocorreu, principalmente, pelo mecanismo indireto (Equação 2.5). Chen e Lin (2001), em um trabalho sobre a lixiviação bacteriana de metais presentes em sedimentos fluviais, afirmaram, com base na forte dependência da solubilização em função do pH, que o processo de lixiviação de sedimentos é controlado pelo mecanismo indireto.

A baixa solubilização de cromo e sua preponderância na fração orgânica sugerem que esse metal apresente estabilidade elevada para seus complexos organo-metálicos presentes no lodo. Sua não inclusão na série de Irving-Williams e nos estudos de Scott e Horlings (1975), entretanto, não permite confirmar essa hipótese. Estudos sobre a estabilidade de complexos organo-metálicos contendo cromo não são comuns na literatura. Takahashi et al. (1997) determinaram constantes de estabilidade para complexos húmicos formados com diversos metais, entre eles cromo. Dos metais estudados, cromo apresentou valores para a constante de estabilidade cerca de duas vezes mais elevados que o metal zinco.

Finalizando este projeto, avaliou-se o efeito da acidificação do lodo sobre a distribuição das frações de nitrogênio e fósforo e, sobre o número de bactérias indicadoras.

Os nutrientes nitrogênio e fósforo estão presentes no lodo de esgoto na forma de compostos orgânicos e, portanto, não prontamente disponíveis à nutrição das plantas. Tal característica, entretanto, é, em geral, benéfica à disposição do lodo como fertilizante de liberação lenta, minimizando a perda desses nutrientes (KORENTAJER, 1991).

Alguns autores (SHANABLEH e GINIGE, 1999; COUILLARD e MERCIER, 1993) manifestaram a preocupação de que a acidificação do lodo durante o processo de lixiviação pudesse alterar a distribuição desses nutrientes, de forma a aumentar a fração mineral de nitrogênio e a fração solúvel de fósforo, modificando, assim, sua disponibilidade.

Os resultados obtidos (Tabela 4.7) indicaram que a contribuição da lixiviação bacteriana na alteração da fração mineral de nitrogênio resultou relativamente pequena, especialmente quando considerada as alterações ocorridas no frasco-controle. Além disso, foi possível verificar uma diminuição da concentração de nitrogênio total no frasco-controle, possivelmente devida à volatilização de amônia.

No trabalho apresentado por Shanableh e Ginige (1999), foram quantificadas as frações nitrogênio-Kjeldahl e nitrogênio amoniacal, para um ensaio de lixiviação utilizando thiobacilli endógenos sulfo-oxidantes, nas mesmas condições de incubação do presente trabalho. Esses autores verificaram que, após a lixiviação do lodo anaeróbio, a concentração de nitrogênio Kjeldahl foi diminuída de $1750 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para $950 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, o que foi explicado pela conversão de parte do nitrogênio orgânico em nitrito-nitrato. As perdas de nitrogênio Kjeldahl para o frasco-controle (lodo não-inoculado e sem adição de S^0) foram ainda mais acentuadas, resultando em uma concentração final de $705 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Couillard e Mercier (1993), trabalhando com um sistema de lixiviação contínua, utilizando lodo aeróbio inoculado com a espécie *A. ferrooxidans*, não observaram variação na concentração de nitrogênio orgânico, para o lodo acidificado a pH final 2,7.

Quanto à solubilização de fósforo, os resultados apresentados na Tabela 4.7 indicam que houve um aumento mais significativo na fração solúvel desse nutriente, embora a variação no frasco-controle também tenha sido significativa.

No estudo citado anteriormente, Shanableh e Ginige (1999) observaram um aumento da fração solúvel de fósforo de 33 %, no lodo anaeróbio antes da lixiviação, para 83 % no lodo após a lixiviação e, para 49 % no frasco-controle. Couillard e Mercier (1993), por sua vez, não observaram alterações na distribuição das frações de fósforo.

Considerando-se a mineralização de nitrogênio e solubilização de fósforo observadas no frasco-controle (Tabela 4.7), pode-se concluir que o efeito da acidificação do lodo na alteração da distribuição desses nutrientes não pode ser considerado significativo.

Por fim, a enumeração de bactérias indicadoras ao longo de um ensaio de lixiviação, utilizando lodo digerido com concentração de $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, permitiu verificar que a acidificação do lodo, a valores de pH menores que 2,0, mostrou-se eficiente no decaimento de coliformes totais, coliformes fecais e estreptococos fecais (Figura 4.18). Resultados similares foram observados por Blais et al. (1992c) para lodo aeróbio com concentração de sólidos de $17 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, em um sistema utilizando thiobacilli endógenos sulfo-oxidantes, com pH final de 1,5.

No trabalho realizado por Henry et al. (1991), utilizou-se um sistema contínuo de lixiviação de lodo anaeróbio, inoculado com a espécie *A. ferrooxidans*, para o qual foram estudadas as seguintes concentrações de sólidos totais: 1,3; 12,7 e 28,8 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. A enumeração das populações de bactérias indicadoras foi realizada pelo método presuntivo-confirmativo.

Esses autores verificaram que o decaimento de bactérias indicadoras ocorreu apenas para as concentrações de 1,3 e 12,7 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Assim, concluíram que é necessário manter uma concentração de sólidos abaixo de $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, para que ocorra um decaimento efetivo das bactérias indicadoras, uma vez que, segundo esses autores, até essa concentração, as bactérias não conseguem se beneficiar da barreira de proteção formada pelos sólidos presentes no lodo. Entretanto, a manutenção do pH em valores próximos a 3,0 pode ter sido responsável pelo baixo decaimento observado pelos autores.

6 CONCLUSÕES

1. As concentrações totais dos metais cromo, cobre, chumbo, níquel e zinco no lodo digerido (anaeróbio) gerado pela ETE-Franca (SP) apresentaram variações significativas, no período analisado (agosto de 1.999 a outubro de 2.001). Dentre as fontes dessas variações, foram identificadas: o recebimento do lodo gerado pela ETA-Franca (SP) e, a detecção de despejos clandestinos realizados por curtumes localizados no município.
2. O ensaio preliminar de lixiviação bacteriana, utilizando a linhagem *A. thiooxidans* FG01, demonstrou que eficiências similares de solubilização dos metais podem ser obtidas utilizando-se lodo digerido ou não-digerido, desde que sejam atingidos os mesmos valores de pH final. A inclusão de controles químico e biológico confirmou a ocorrência de oxidação biológica do enxofre elementar e, a necessidade de adição desse substrato para que ocorra a solubilização dos metais.
3. O procedimento de enriquecimento utilizado para obtenção de um inóculo contendo thiobacilli endógenos permitiu a diminuição do tempo necessário para abaixamento do pH, desde 7,0 até cerca de 1,5, de 8 para 6 dias.
4. A presença de thiobacilli endógenos no lodo digerido foi confirmada, tendo-se verificado uma sucessão de populações entre os thiobacilli neutrofilicos e os acidofilicos, quando o ensaio foi iniciado a pH 7,0. Duas fases exponenciais de crescimento foram observadas para o desenvolvimento dos thiobacilli acidofilicos, para ambas as condições de pH inicial empregadas (7,0 e 4,0).
5. O efeito da temperatura e do pH inicial sobre a eficiência de solubilização dos metais foi significativo para a condição de pH inicial 7,0 e temperatura de 40°C. Nessa condição ocorreu a estabilização do pH em 2,4; resultando em eficiências de solubilização mais baixas que nas demais condições ensaiadas, para as quais os valores finais de pH resultaram próximos a 1,5.
6. O modelo sigmoidal de Boltzmann resultou em um melhor ajuste dos dados experimentais quando comparado ao modelo de cinética de primeira ordem. Os parâmetros da equação de Boltzmann permitiram determinar a solubilização máxima do processo, bem como a constante da velocidade de solubilização (k_B) para o ponto de inflexão da curva de solubilização, que pode ser associada a uma constante de velocidade máxima de solubilização;

7. Os valores de k_B resultaram mais elevados para a condição de temperatura de 30°C; sendo que, a pH inicial 7,0 obtiveram-se os valores mais elevados de k_B para cromo, cobre e chumbo e, a pH inicial 4,0, para níquel e zinco.
8. O efeito da concentração de sólidos totais, para a faixa de concentração estudada (10 a 40 g·L⁻¹) mostrou-se pouco significativo sobre a eficiência de solubilização dos metais.
9. O aumento na concentração de sólidos totais, desde 10 até 40 g·L⁻¹, resultou em valores mais baixos para a constante de velocidade de solubilização (k_B), especialmente para os metais cromo, cobre e chumbo. Os valores de k_B para os metais níquel e zinco mostraram-se menos sensíveis à variação da concentração de sólidos totais, para a faixa de concentrações estudadas.
10. A análise das solubilizações obtidas durante os diversos ensaios de lixiviação bacteriana realizados permitiu verificar a existência de dois padrões diferenciados de solubilização. No primeiro padrão, encontram-se os metais níquel e zinco, cuja solubilização foi iniciada a valores de pH elevados (entre 5,0 e 6,0), tendo apresentado elevados índices de solubilização, acima de 90%. No segundo padrão, encontram-se os metais cromo, cobre e chumbo, os quais tiveram sua solubilização iniciada a valores de pH bastante baixos (entre 2,5 e 3,0), com índices de solubilização da ordem de 50 % para cromo e chumbo e, de 80 % para cobre.
11. A determinação da distribuição das espécies metálicas presentes no lodo, antes e após a lixiviação, permitiu verificar que a eficiência de solubilização dos metais, para o lodo estudado, foi controlada pela estabilidade dos compostos organo-metálicos presentes nesse lodo e, pelo produto de solubilidade dos carbonatos desses metais. A contribuição da fração sulfeto resultou pouco significativa para a lixiviação bacteriana do lodo estudado, confirmando que a solubilização de metais ocorreu por mecanismo indireto (Equação 2.5).
12. A contribuição da lixiviação bacteriana na alteração da fração mineral de nitrogênio e na fração solúvel de fósforo mostrou-se pouco significativa frente às variações observadas no frasco-controle.
13. A acidificação do lodo até valores de pH abaixo de 2,0 mostrou-se eficiente no decaimento da população de bactérias indicadoras (coliformes totais, coliformes fecais e estreptococos fecais), tendo-se obtido concentrações finais desses organismos menores que 4x10³ UFC·100 mL⁻¹.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Estudos complementares visando elucidar alguns dos resultados obtidos neste projeto deveriam contemplar: (i) investigação do fenômeno observado quanto à ocorrência de duas regiões de crescimento exponencial para a enumeração de thiobacilli acidofílicos durante ensaio de lixiviação bacteriana. Essa investigação deveria incluir ainda estudos com a linhagem *A. thiooxidans* SWFr, isolada do lodo gerado na ETE-Franca (SP) e; (ii) identificação de complexos organo-metálicos presentes no lodo anaeróbico e determinação dos correspondentes coeficientes de estabilidade.

Com a finalidade de aumentar o conhecimento sobre o acúmulo de metais no lodo, a execução de um balanço de massa em relação aos metais ao longo dos processos envolvidos na Estação seria de grande interesse, inclusive pela falta de dados dessa natureza.

O desenvolvimento do processo de lixiviação bacteriana de metais em lodo de esgoto ainda requer estudos sobre diferentes substratos, devendo-se incluir entre eles, rejeitos industriais contendo compostos de enxofre reduzido; além de estudos sobre uma possível recuperação do enxofre elementar não reagido.

A aplicação de modelos cinéticos que melhor representassem os perfis de solubilização obtidos permitiria a geração de modelos para previsão da eficiência de solubilização, em função das condições de operação do processo; bem como o desenvolvimento do controle desse processo por meio de funções de transferência de massa.

Finalmente, a implementação do processo de lixiviação de metais em lodo requer ainda estudos sobre processos de separação dos metais solubilizados, sem os quais os benefícios da lixiviação estariam comprometidos.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um dos resultados mais importantes deste estudo refere-se à solubilização diferencial observada para os metais investigados. Assim, verificou-se que a solubilização de 70 a 80 % da concentração total de níquel e zinco presente no lodo pode ser facilmente conseguida, a valores de pH próximos a 3,0. Entretanto, para a solubilização de cromo, chumbo e cobre, são necessários valores de pH próximos a 1,0, para que sejam atingidas solubilizações da ordem de 50 % para os dois primeiros metais. Portanto, a contaminação de lodo de esgoto com cromo ou chumbo pode significar uma grande dificuldade técnica de remoção desses metais, enquanto lodos contaminados com os demais metais, especialmente níquel e zinco, podem ser mais facilmente tratados pelo processo de lixiviação bacteriana.

Disto resulta que os metais cromo e chumbo devem ter suas possíveis fontes geradoras melhor identificadas e, se possível, controladas, para evitar sua entrada na rede coletora de esgoto, uma vez que sua retirada do lodo não consegue, mesmo em estudos em escala de laboratório, atingir eficiências de 100 %.

Encerrando este trabalho, pode-se afirmar que, de modo geral, o processo de lixiviação bacteriana aplicado a lodo de esgoto mostrou-se viável tecnicamente, em condições de temperatura, pH inicial e concentração de sólidos totais que facilitam sua operacionalização, apresentando ainda a característica de não alterar significativamente a distribuição das frações de nitrogênio e fósforo, e proporcionando uma higienização adicional do lodo pelo decaimento de bactérias indicadoras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 9800/NB 1032**: Critérios para lançamento de efluentes líquidos industriais no sistema coletor público de esgoto sanitário. São Paulo, 1987.

ABREGO, J. Removal of heavy metals from samples of residual sludge. **International Journal of Environment and Pollution**, v. 6, n. 2-3, p. 295-299, 1996.

ALEM SOBRINHO, P. Tratamento de esgoto e geração de lodo. In: TSUTIYA et al. (Eds.). **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001. cap. 2, p. 7-40.

ANDRADE NETO, C. O. de; CAMPOS, J. R. Introdução. In: CAMPOS, J. R. (Ed.). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. Rio de Janeiro: ABES, 1999. cap. 1, p. 1-28. (Projeto PROSAB).

ANDREOLI, C. V. (Ed.). **Resíduos sólidos do saneamento**: processamento, reciclagem e disposição final. Rio de Janeiro: RiMa, ABES, 2001. 282 p. (Projeto PROSAB).

ANDREOLI, C. V.; FERREIRA, A. C.; CHERUBINI, C.; TELES, C. R.; CARNEIRO, C.; FERNANDES, F. Higienização do lodo de esgoto. In: ANDREOLI et al. (Eds.). **Lodo de esgotos**: tratamento e disposição final. Belo Horizonte: UFMG, Sanepar, 2001b. v. 6, cap. 4, p. 87-117. (Série Princípios do tratamento biológico de águas residuárias).

ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E. S. Gestão pública do uso agrícola do lodo de esgoto. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Eds.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2000. cap. 18, p. 281-312.

ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E. S.; FERNANDES, F. Disposição do lodo no solo. In: ANDREOLI et al. (Eds.). **Lodo de esgotos**: tratamento e disposição final. Belo Horizonte: UFMG, Sanepar, 2001c. v. 6, cap. 8, p. 319-397. (Série Princípios do tratamento biológico de águas residuárias).

ANDREOLI, C. V.; SPERLING, M. von; FERNANDES, F. (Eds.). **Lodo de esgotos**: tratamento e disposição final. Belo Horizonte: UFMG, Sanepar, 2001a. v. 6. 484 p. (Série Princípios do tratamento biológico de águas residuárias).

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AWWA – AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WEF – WATER ENVIRONMENT FEDERATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 18 th ed. Washington, 1992.

ATKINS, E. D.; HAWLEY, J. R. **Sources of metals and metal levels in municipal waste waters** (Research Report 80). Ottawa: Environment Canada, 1978. (apud STEPHENSON, 1987).

BARBOSA-JEFFERSON, V. L.; ZHAO, F. J.; McGRATH, S. P.; MAGAN, N. Thiosulphate and tetrathionate oxidation in arable soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 30, n. 5, p. 553-559, 1998.

BARLAZ, M. A.; HAM, R. K.; SCHAEFER, D. M. Methane production from municipal refuse – a review of enhancement techniques and microbial dynamics. **Critical Reviews in Environmental Control**, v. 19, n. 6, p. 557-584, 1990.

BARREIRA, R. P. R.; VILLAR, L. D.; GARCIA JÚNIOR, O. Isolamento e purificação de *Thiobacillus thiooxidans* a partir de lodo de esgoto municipal. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 13, 2001, Bauru. **Resumos ... UNESP**, 2001. p.105.

BARTON, L. L.; SHIVELY, J. M. Thiosulfate utilization by *Thiobacillus thiooxidans* ATCC 8085. **Journal of Bacteriology**, v. 95, n. 2, p. 720, 1968.

BASTIAN, R. K. The biosolids (sludge) treatment, beneficial use, and disposal situation in the USA. **European Water Pollution Control**, v. 7, n. 2, p. 62-79, 1997.

BAYER, E.; KUTUBUDDIN, M. Oil from sewage sludge. **Korrespondenz Abwasser**, v. 29, n. 6, p. 377, 1982. (apud LUTZ et al., 2000).

BERNARDO, L. di; CARVALHO, E. H. de; SCALIZE, P. S. Disposição de resíduos líquidos de ETAs em ETEs. In: REALI, M. A. P. (Ed.). **Noções gerais de tratamento e disposição final de lodos de estações de tratamento de água**. Rio de Janeiro: ABES, 1999. cap. 8. p. 169-202.

BERTON, R.; CAMARGO, O. A.; ABREU, C. A.; ABREU, M. F. Pesquisas realizadas no Instituto Agrônômico com biossólidos. In: WORKSHOP SOBRE DINÂMICA DE BIOSSÓLIDOS NO SOLO, 2000, Piracicaba. **Resumos ... Piracicaba: ESALQ**, 2000. p. 9-11.

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Eds.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2000. 312 p.

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. Reciclagem de lodo de esgoto na agricultura. In: MELO et al. (Eds.). **Biodegradação**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2001. p. 93-106.

BETTIOL, W.; CARVALHO, P. C. T.; FRANCO, B. J. D. C. Utilização de lodo de esgoto como fertilizante. **O Solo**, v. 75, n. 1, p. 44-54, 1983.

BETTIOL, W.; SANTOS, I. dos **Efeito do lodo de esgoto sobre fitopatógenos veiculados pelo solo**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2001. 30p.

BEVILAQUA-MASCARIM, D. **Dissolução oxidativa da calcopirita (CuFeS₂) e da bornita (Cu₅FeS₄) por *Thiobacillus ferrooxidans***. 1999. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

BHOGAL, A.; NICHOLSON, F. A.; CHAMBERS, B. J.; SHEPHERD, M. A. Effects of past sewage sludge additions on heavy metal availability in light textured soils: implications for crop yields and metal uptakes. **Environmental Pollution**, v. 121, p. 413-423, 2003.

BIDONE, F. R. Alternativas de disposição final de biossólidos: aterros, landfarming e incineração. In: SEMINÁRIO SOBRE GERENCIAMENTO DE BIOSSÓLIDOS DO MERCOSUL, 1998, Curitiba. **Anais ... Sanepar, ABES**, 1998. p. 131-135. (apud TSUTIYA, 2001b).

BLAIS, J. F.; AUCLAIR, J. C.; TYAGI, R. D. Cooperation between two *Thiobacillus* strains for heavy-metal removal from municipal sludge. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 3, p. 181-187, 1992a.

BLAIS, J. F.; TYAGI, R. D.; AUCLAIR, J. C. Bioleaching of metals from sewage sludge by sulfur-oxidizing bacteria. **Journal of Environmental Engineering - ASCE**, v. 118, n. 5, p. 690-707, 1992b.

BLAIS, J. F.; TYAGI, R. D.; AUCLAIR, J. C. Bioleaching of metals from sewage sludge: microorganisms and growth kinetics. **Water Research**, v. 27, n. 1, p. 101-110, 1993a.

BLAIS, J. F.; TYAGI, R. D.; AUCLAIR, J. C. Bioleaching of metals from sewage sludge: effects of temperature. **Water Research**, v. 27, n. 1, p. 111-120, 1993b.

BLAIS, J. F.; TYAGI, R. D.; AUCLAIR, J. C.; LAVOIE, M. C. Indicator bacteria reduction in sewage sludge by a metal bioleaching process. **Water Research**, v. 26, n. 4, p. 487-495, 1992c.

BOSECKER, K. Microbial leaching in environmental clean-up programmes. **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 245-248, 2001.

BROOCK, T. D.; MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Biology of Microorganisms**. 8th ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997. 986 p.

BUENO, R. C. R. Dados de operação da ETE-Franca [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <ldvillar@iae.cta.br> em 7 mai. 2003.

BURTON, E. D.; HAWKER, D. W.; REDDING, M. R. Estimating sludge loadings to land based on trace metal sorption in soil: effect of dissolved organo-metallic complexes. **Water Research**, v. 37, p. 1394-1400, 2003.

CAESB – COMPANHIA DE SANEAMENTO DO DISTRITO FEDERAL. Disponível em: <<http://www.caesb.df.org.br/scripts/sisesg.asp>>. Acesso em: 19 fev. 2.003.

CAMPBELL, C. D.; WARREN, A.; CAMERON, C. M.; HOPE, S. J. Direct toxicity assessment of two soils amended with sewage sludge contaminated with heavy metals using a protozoan (*Colpoda steinii*) bioassay. **Chemosphere**, v. 34, n. 3, p. 501-514, 1997.

CAMPOS, J. R. **Alternativas para tratamento de esgotos – Pré-tratamento de águas para abastecimento**. Americana: Consórcio Intermunicipal das Bacias dos Rios Piracicaba e Capivari, 1994. 112 p.

CARVALHO, P. C. T. de; BARRAL, M. F. Aplicação de lodo de esgoto como fertilizante. **Fertilizantes**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 1-4, 1981.

CARVALHO, P. C. T. de; CARVALHO, F. J. P. C. Legislação sobre biossólidos. In: TSUTIYA et al. (Eds.). **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001. cap. 7, p. 209-226.

CEC – COUNCIL OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. Council Directive 86/278/EEC of 12 June 1986 on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. **Official Journal**, v. L 181, p. 6-18, 1986. Disponível

em: <http://www.europa.eu.int/eur-lex/en/consleg/pdf/1986/en_1986L0278_do_001.pdf>. Acesso em: 02 abr. 2003.

CERRUTI, C.; CURUTCHET, G.; DONATI, E. Bio-dissolution of spent nickel-cadmium batteries using *Thiobacillus ferrooxidans*. **Journal of Biotechnology**, v. 62, p. 209-219, 1998.

CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **P 4.230**: aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas - critérios para projeto e operação (Manual Técnico). São Paulo, 1999. 32 p.

CHANEY, R. L.; BRUINS, R. J. F.; BAKER, D. E.; KORCAK, R. F.; SMITH, J. E.; COLE, D. Transfer of sludge-applied trace elements to the food chain. In: WORKSHOP IN LAND APPLICATION OF SLUDGE, 1985, Las Vegas. PAGE et al. (Eds.). **Land application of sludge**: food chain implications. Michigan: Lewis Publishers, 1987. cap. 5, p. 67-99.

CHANG, A. C.; GRANATO, T. C.; PAGE, A. L. A methodology for establishing phytotoxicity criteria for chromium, copper, nickel, and zinc in agricultural land application of municipal sewage sludges. **Journal of Environmental Quality**, v. 21, p. 521-536, 1992.

CHARTIER, M.; MERCIER, G.; BLAIS, J. F. Partitioning of trace metals before and after biological removal of metals from sediments. **Water Research**, v. 35, n. 6, p. 1435-1444, 2001.

CHEN, S. Y.; LIN, J. G. Bioleaching of heavy metals from sediment: significance of pH. **Chemosphere**, v. 44, p. 1093-1102, 2001.

CHO, K. S.; RYU, H. W.; LEE, I. S.; CHOI, H. M. Effect of solids concentration on bacterial leaching of heavy metals from sewage sludge. **Journal of the Air and Waste Management Association**, v. 52, n. 2, p. 237-243, 2002.

COMPARINI, J. B. **Estudo do decaimento de patógenos em biossólidos estocados em valas e em biossólidos submetidos à secagem em estufa agrícola**. 2001. 308 f. Tese (Doutorado em Engenharia) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CORDEIRO, J. S. **Disposição, tratabilidade e reuso de lodos de estações de tratamento de água**. 1981. 155 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

CORNU, S.; NEAL, C.; AMBROSI, J. P.; WHITEHEAD, P.; NEAL, M.; SIGOLO, J.; VACHIER, P. The environmental impact of heavy metals from sewage sludge in ferralsols (São Paulo, Brazil). **The Science of the Total Environment**, v. 271, p. 27-48, 2001.

COSTA, A. N. da; COSTA, A. F. S. da; MARQUES, M. O.; SANTANA, R. C. Estudo de caso – utilização de lodo de estações de tratamento de esgoto (ETEs) na cultura do mamoeiro no norte do Estado do Espírito Santo. In: ANDREOLI, C. V. (Ed.). **Resíduos sólidos do saneamento**: processamento, reciclagem e disposição final. Rio de Janeiro: RiMa, ABES, 2001. cap. 8, p. 189-214. (Projeto PROSAB).

COUILLARD, D.; CHARTIER, M. Influence des caractéristiques des boues digérées en aérobose sur la solubilisation biologique des métaux. **Canadian Journal of Civil Engineering**, v. 20, p. 509-517, 1993.

COUILLARD, D.; CHARTIER, M.; MERCIER, G. Bacterial leaching of heavy metals from aerobic sludge. **Bioresource Technology**, v. 36, p. 293-302, 1991.

COUILLARD, D.; MERCIER, G. Removal of metals and fate of N and P in the bacterial leaching of aerobically digested sewage sludge. **Water Research**, v. 27, n. 7, p. 1227-1235, 1993.

COUILLARD, D.; MERCIER, G. An economic evaluation of biological removal of heavy metals from wastewater sludge. **Water Environment Research**, v. 66, n. 1, p. 32-39, 1994.

COUILLARD, D.; ZHU, S. Bacterial leaching of heavy metals from sewage sludge for agricultural application. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 63, n. 1-2, p. 67-80, 1992.

CRESPO, P. G. **Sistemas de Esgotos**. Belo Horizonte: UFMG, 1997. 131 p.

CUNHA, R. C. A.; AQUINO NETO, V. de Fundamentos teóricos do processo de avaliação de risco. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Eds.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2000. cap. 14, p. 227-243.

DAAE – DEPARTAMENTO AUTÔNOMO DE ÁGUA E ESGOTOS DE ARARAQUARA. Disponível em: <<http://www.daaearaquara.com.br>>. Acesso em: 19 fev. 2.003.

DAE-BAURU – DEPARTAMENTO DE ÁGUA E ESGOTO DE BAURU. Disponível em: <<http://www.daebauru.com.br>>. Acesso em: 19 fev. 2.003.

DAE-JUNDIAÍ – DEPARTAMENTO DE ÁGUA E ESGOTO DE JUNDIAÍ. Disponível em: <http://www.daejundiaí.com.br/obras_ete.htm>. Acesso em: 19 fev. 2.003.

DAVIS, R. D.; HALL, J. E. Production, treatment and disposal of wastewater sludge in Europe from a UK perspective. **European Water Pollution Control**, v. 7, n. 2, p. 9-17, 1997.

DELFINO, J. J.; ENDERSON, R. E. Comparative study outlines methods of analysis of total metal in sludge. **Water and Sewage Works**, v. 125, p. R-32-R48, 1978.

DU, Y. G.; SREEKRISHNAN, T. R.; TYAGI, R. D.; CAMPBELL, P. G. C. Effect of pH on metal solubilization from sewage sludge: a neural-net-based approach. **Canadian Journal of Civil Engineering**, v. 21, p. 728-735, 1994.

DU, Y. G.; TYAGI, R. D.; SREEKRISHNAN, T. R. Operational strategy for metal bioleaching based on pH measurements. **Journal of Environmental Engineering - ASCE**, v. 121, n. 7, p. 527-535, 1995.

DUDLEY, D. J.; GUENTZEL, M. N.; IBARRA, M. J.; MOORE, B. E.; SAGIK, B. P. Enumeration of potentially pathogenic bacteria from sewage sludges. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 39, n. 1, p. 118-126, 1980.

EUROPEAN COMMUNITIES. **Disposal and recycle routes for sewage sludge. Part 2: regulatory report**. Luxembourg, 2001. 63 p. Disponível em: <http://www.europa.eu.int/comm/environment/waste/sludge/sludge_disposal2.pdf>. Acesso em: 02 abr. 2003.

EUROPEAN UNION. **Working document on sludge**: 3rd. draft. (ENV.E.3/LM). Brussels, 2000. 19 p. Disponível em: <http://www.europa.eu.int/comm/environment/waste/sludge/sludge_en.pdf>. Acesso em: 02 abr. 2003.

FAVARETTO, N.; DESCHAMPS, C.; DAROS, E.; PISSAIA, A. Efeito do lodo de esgoto na fertilidade do solo e no crescimento e produtividade de milho (*Zea mays* L.). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 40, n. 4, p. 837-848, 1997.

FERNANDES, F. Estabilização e higienização de biossólidos. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Eds.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2000. cap. 3, p. 45-68.

FERNANDES, F.; LOPES, D. D.; ANDREOLI, C. V.; SILVA, S. M. C. P. da Avaliação de alternativas e gerenciamento do lodo na ETE. In: ANDREOLI et al. (Eds.). **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: UFMG, Sanepar, 2001. v. 6, cap. 7, p. 299-317. (Série Princípios do tratamento biológico de águas residuárias).

FILCHEVA, E.; CHESHIRE, M. V.; CAMPBELL, C. D.; McPHAIL, D. B. Effect of heavy metal contamination on the rate of decomposition of sewage sludge and microbial activity. **Applied Geochemistry**, v. 11, p. 331-333, 1996.

FRANÇA, R. G. **Remoção de metais pesados em lodo de esgoto por meio de biolixiviação visando à produção agrícola**. 2003. Tese (Doutorado em Saneamento e Ambiente) - Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

FRANÇA, R. G.; FIGUEIREDO, R. F. de Quantificação do teor de metais pesados nos lodos gerados em estações de tratamento de esgotos (ETE's). In: SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 9, 2000, Porto Seguro. **Anais ... ABES**, 2000. p. 1704-1710.

GANTZER, C.; GASPARD, P. G.; GALVEZ, L.; HUYARD, A. DUMOUTHIER, N.; SCHWARTZBROD, J. Monitoring of bacterial and parasitological contamination during various treatments of sludge. **Water Resource**, v. 35, n. 16, p. 3763-3770, 2001.

GARCIA JÚNIOR, O. **Estudo da biolixiviação de urânio por *Thiobacillus ferrooxidans***. 1989. 261 f. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

GARCIA JÚNIOR, O. Isolation and purification of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans* from some coal and uranium mines of Brazil. **Revista de Microbiologia**, v. 22, n. 1, p. 1-6, 1991.

GARCIA JÚNIOR, O. Microrganismos e metais. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Eds.). **Microbiologia ambiental**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 1997. cap. 1, p. 11- 41.

GARCIA JÚNIOR, O.; URENHA, L. C. Lixiviação bacteriana de minérios. In: BORZANI et al. (Eds.). **Biotechnology industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 3, cap. 22, p. 485-512.

GASPARD, P. G.; WIART, J.; SCHWARTZBROD, J. Urban sludge reuse in agriculture: waste treatment and parasitological risk. **Bioresource Technology**, v. 52, p. 37-40, 1995.

GILLER, K. E.; WITTER, E.; McGRATH, S. P. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 30, n. 10/11, p. 1389-1414, 1998.

GONÇALVES, J. L. M.; VAZ, L. M. S.; AMARAL, T. M.; POGGIANI, F. Aplicabilidade de biossólido em plantações florestais: II – efeito na fertilidade do solo, nutrição e crescimento das árvores. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Eds.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2000. cap. 9, p. 179-195.

GONÇALVES, R. F.; LUDUVICE, M. Alternativas de minimização da produção e desaguamento de lodo de esgoto. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Eds.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2000. cap. 2, p. 25-44.

GOULD, M. S.; GENETELLI, E. J. Heavy metal complexation behavior in anaerobically digested sludges. **Water Research**, v. 12. p. 505-512, 1978.

HAMZAWI, N.; KENNEDY, K. J.; McLEAN, D. D. Technical feasibility of anaerobic co-digestion of sewage sludge and municipal solid waste. **Environmental Technology**, v. 19, n. 10, p. 993-1003, 1998.

HAYES, T. D.; JEWELL, W. J.; KABRICK, R. M. Heavy metal removal from sludges using combined biological/chemical treatment. In: INDUSTRIAL WASTE CONFERENCE, 34, 1980, Lafayette. **Proceedings ...** Ann Arbor: Ann Arbor Science, 1981, p. 529-543.

HAYES, T. D.; THEIS, T. L. The distribution of heavy metals in anaerobic digestion. **Journal of the Water Pollution Control Federation**, v. 50, p. 61-72, 1978.

HEDBERG, F. L. Biotechnology materials and processes. In: PRZEMIENIECKI, J. S. (Ed.). **Critical technologies for national defense**. Washington: AIAA, 1991. cap. 17, p. 257-274.

HENRY, J. G.; PRASAD, D.; LOHAZA, W. B. Fate of indicator organisms in sludge during bacterial leaching of metals. **Canadian Journal of Civil Engineering**, v. 18, p. 237-243, 1991.

HILL, R. T.; STRAUBE, W. L.; PALMISANO, A. C.; GIBSON, S. L.; COLWELL, R. R. Distribution of sewage indicated by *Clostridium perfringens* at a deep-water disposal site after cessation of sewage disposal. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 5, p. 1741-1746, 1996.

HILL, S. J.; PALLANCA, J.; TRIER, C.; JURY, S. A study of the uptake of heavy metals by fodder maize grown with municipal solid waste/sewage sludge derived compost. **Toxicological and Environmental Chemistry**, v. 55, p. 215-233, 1996.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9 th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.

HU, C. J.; GIBBS, R. A.; MORT, N. R.; HOFSTEDE, H. T.; HO, G. E.; UNKOVICH, I. *Giardia* and its implications for sludge disposal. **Water Science and Technology**, v. 34, n. 7, p. 179-186, 1996.

HUE, N. V.; RANJITH, S. A. Sewage sludges in Hawaii: chemical composition and reactions with soils and plants. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 72, p. 265-283, 1994.

HUTCHINS, S. R. DAVIDSON, M. S.; BRIERLEY, J. A.; CRIERLEY, C. L. Microorganisms in reclamation of metals. **Annual Review of Microbiology**, v. 40, p. 311, 1986.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa nacional de saneamento básico: o saneamento no Brasil no ano 2000. **Revista Brasileira de Saneamento e Meio-Ambiente**, v. 11, n. 22, p. 20-32, 2002.

IRVING, H.; WILLIAMS, R. J. P. Order of stability of metal complexes. **Nature**, v. 162, p. 746-747, 1948.

ISC – INDEPENDENT SCIENTIFIC COMMITTEE. **Review of the rules for sewage sludge application to agricultural land**: soil fertility aspects and potentially toxic elements. London: Department of the Environment, 1993. (apud RENNERT, 2000).

ITO, A.; UMITA, T.; AIZAWA, J.; KITADA, K. Effect of inoculation of iron oxidizing bacteria on elution of copper from anaerobically digested sewage sludge. **Water Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 63-70, 1998.

ITO, A.; UMITA, T.; AIZAWA, J.; TAKACHI, T.; MORINAGA, K. Removal of heavy metals from anaerobically digested sewage sludge by a new chemical method using ferric sulfate. **Water Research**, v. 34, n. 3, p. 751-758, 2000.

JAIN, D. K.; TYAGI, R. D. Leaching of heavy metals from anaerobic sewage sludge by sulfur-oxidizing bacteria. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 14, p. 376-383, 1992.

JAIN, D. K.; TYAGI, R. D. Factors affecting toxic metals removal from digested sewage sludge by enriched sulphur-oxidizing microorganisms. **Bioresource Technology**, v. 45, p. 33-41, 1993.

JORDAN, M. A.; MCGINNESS, S.; PHILLIPS, C. V. Acidophilic bacteria - their potential mining and environmental applications. **Minerals Engineering**, v. 9, n. 2, p. 169-181, 1996.

JOSHUA, W. D.; MICHALK, D. L.; CURTIS, I. H.; SALT, M.; OSBORNE, G. J. The potential for contamination of soil and surface waters from sewage sludge (biosolids) in a sheep grazing study, Australia. **Geoderma**, v. 84, p. 135-156, 1998.

KASTANEK, F.; BAZEC, V.; MATEJKA, M. Elimination of heavy metals from microbial cultures by chemical and biological leaching under decreased values of pH. **Journal of Hazardous Materials**, v. 37, p. 49-67, 1994.

KEEFER, R. F.; SINGH, R. N.; HORVATH, D. J.; KHAWAJA, A. R. Heavy metal availability to plants from sludge application. **Compost Science / Land Utilization**, v. 20, n. 3, p. 31-34, 1979.

KELLING, K. A.; KEENEY, D. R.; WALSH, L. M.; RYAN, J. A. A field study of the agricultural use of sewage sludge: III. Effect on uptake and extractability of sludge-borne metals. **Journal of Environmental Quality**, v. 6, n. 4, p. 352-358, 1977.

KELLY, D. P.; HARRISON, A. H. Genus *Thiobacillus*. In: STALEY, J. T. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1989. v. 3, p. 1842-1858.

KELLY, D. P.; TUOVINEN, O. H. Metabolism of inorganic sulphur compounds by *Thiobacillus ferrooxidans* and some comparative studies on *Thiobacillus A2* and *T. neapolitanus*. **Plant and Soil**, v. 43, p. 77-93, 1975.

KELLY, D. P.; WOOD, A. P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, p. 511-516, 2000.

KELLY, J. J.; HÄGGBLÖM, M.; TATE III, R. L. Effects of the land application of sewage sludge on soil heavy metal concentrations and soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31, p. 1467-1470, 1999.

KNIGHT, B. P.; CHAUDRI, A. M.; McGRATH, S. P.; GILLER, K. E. Determination of chemical availability of cadmium and zinc in soils using inert soil moisture samplers. **Environmental Pollution**, v. 99, p. 293-298, 1998.

KORENTAJER, L. A review of the agricultural use of sewage sludge: benefits and potential hazards. **Water SA**, v. 17, n. 3, p. 189-196, 1991.

LABERGE, C.; CLUIS, D.; MERCIER, G. Metal bioleaching prediction in continuous processing of municipal sewage with *Thiobacillus ferrooxidans* using neural networks. **Water Research**, v. 34, n. 4, p. 1145-1156, 2000.

LAISHLEY, E. J.; BRYANT, R. D.; KOBRYN, B. W.; HYNE, J. B. Microcrystalline structure and surface area of elemental sulphur as factors influencing its oxidation by *Thiobacillus albertis*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 32, p. 237-242, 1986.

LAKE, D. L. Chemical speciation of heavy metals in sewage sludge and related matrices. In: LESTER, J. N. (Ed.). **Heavy metals in wastewater and sludge treatment processes**, 1987. v. 1, cap. 5, p. 125-153.

LOMBARDI, A. T.; GARCIA JÚNIOR, O. An evaluation into the potential of biological processes for the removal of metals from sewage sludge. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 25, n. 4, p. 309-322, 1999.

LOMBARDI, A. T.; GARCIA JÚNIOR, O. Bioleaching of metals from anaerobic sewage sludge: effects of total solids, leaching microorganisms, and energy source. **Journal of Environmental Science and Health A: toxic/hazardous substances and environmental engineering**, v. 36, n. 5, p. 793-806, 2001.

LUDUVICE, M. Experiência da Companhia de Saneamento do Distrito Federal na reciclagem agrícola do biossólido. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Eds.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2000. cap. 7, p. 153-162.

LUDUVICE, M. Processos de estabilização de lodos. In: ANDREOLI et al. (Eds.). **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: UFMG, Sanepar, 2001. v. 6, cap. 4, p. 123-157. (Série Princípios do tratamento biológico de águas residuárias).

LUDUVICE, M.; FERNANDES, F. Principais tipos de transformação e descarte do lodo. In: ANDREOLI et al. (Eds.). **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: UFMG, Sanepar, 2001. v. 6, cap. 9, p. 399-423. (Série Princípios do tratamento biológico de águas residuárias).

LUTZ, H.; ROMEIRO, G. A.; DAMASCENO, R. N.; KUTUBUDDIN, M.; BAYER, E. Low temperature conversion of some Brazilian municipal and industrial sludges. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 103-107, 2000.

MAIA, G. D.; SILVA, E. L. Remoção de H₂S por *Thiobacillus thioparus* em filtro biológico. In: I FÓRUM DAS UNIVERSIDADES PÚBLICAS PAULISTAS EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM RESÍDUOS, 2003, São Pedro. **Resumos ...** Ribeirão Preto: USP/UNICAMP/UNESP/UFSCar/IPT/IPEN, 2003. p. 144.

MANAHAN, S. E. **Fundamentals of environmental chemistry**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1993. 844 p.

MATTHEWS, P. (Ed.) **A global atlas of wastewater sludge and biosolids use and disposal**. London: IAWA, 1997. 197 p.

McLAUGHLIN, M. J.; CHAMPION, L. Sewage sludge as a phosphorous amendment for sesquioxenic soils. **Soil Science**, v. 143, n. 2, p. 113-119, 1987.

McNULTY, K. J.; MALARKEY, A. T.; GOLDSMITH, R. L.; FREMONT, H. A. Development of a new process for sludge conditioning. In: NATIONAL CONFERENCE ON COMPOSTING OF MUNICIPAL RESIDUES AND SLUDGES, 1977, Rockville. **Proceedings ...** Rockville: Information Transfer, 1978, p. 61-67.

MELO, W. J. de; MARQUES, M. O. Potencial do lodo de esgoto como fonte de nutrientes para as plantas. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Eds.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2000. cap. 5, p. 109-141.

MIKI, M. K. **Utilização de polímeros para condicionamento de lodo de ETE para desidratação em filtro prensa de placas**. 1998. Dissertação - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MIKI, M. K.; ANDRIGUETI, E. J.; ALEM SOBRINHO, P. Tratamento da fase sólida em estações de tratamento de esgotos. In: TSUTIYA et al. (Eds.). **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001. cap. 3, p. 41-87.

MORALES, G. Aproveitamento do lodo de esgoto sanitário como matéria prima para a produção de material pozolânico. **Semina: Ciências Exatas e Tecnologia**, v. 18, n. 4, p. 39-45, 1997.

MORENO, J. L.; GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T.; PASCUAL, J. A. Transference of heavy metals from a calcareous soil amended with sewage-sludge compost barley plants. **Bioresource Technology**, v. 55, p. 251-258, 1996.

MORITA, D. M. **Tratabilidade de águas residuárias contendo poluentes perigosos: estudo de caso**. 1993. 885 f. Tese - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo. (apud SILVA et al., 2001).

MORTVEDT, J. J.; GIORDANO, P. M. Response of corn to zinc and chromium in municipal wastes applied to soil. **Journal of Environmental Quality**, v. 4, n. 2, p. 170-174, 1975.

MULCHI, C. L.; BELL, P. F.; ADAMU, C.; CHANEY, R. Long term availability of metals in sludge amended acid soils. **Journal of Plant Nutrition**, v. 10, p. 1149-1161, 1987.

NAOUM, C.; FATTA, D.; HARALAMBOUS, K. J.; LOIZIDOU, M. Removal of heavy metals from sewage sludge by acid treatment. **Journal of Environmental Science and Health A: toxic/hazardous substances and environmental engineering**, v. 36, n. 5, p. 873-881, 2001.

NOGUCHI, H.; ITO, H. Long-term experiment of applying sludge fertilizer to agricultural land. **Journal of the Institution of Water and Environmental Management**, v. 6, p. 576-582, 1992.

OAKE, R. J.; BOOKER, C. S.; DAVIS, R. D. Fractionation of heavy metals in sewage sludges. **Water Science and Technology**, v. 17, p. 587-598, 1984.

OBBARD, J. P. Ecotoxicological assessment of heavy metals in sewage sludge amended soils. **Applied Geochemistry**, v. 16, p. 1405-1411, 2001.

OPRIME, M. E. A. G. **Processo combinado químico-bacteriano para remoção de H₂S de gases**. 2001. 107 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

PAGE, A. L.; LOGAN, T. J.; RYAN, J. A. Introduction. In: WORKSHOP IN LAND APPLICATION OF SLUDGE, 1985, Las Vegas. PAGE et al. (Eds.). **Land application of sludge: food chain implications**. Michigan: Lewis Publishers, 1987. p. 1-4.

PAULSRUD, B.; NEDLAND, K. T. Strategy for land application of sewage sludge in Norway. **Water Science and Technology**, v. 36, n. 11, p. 283-290, 1997.

PEDREÑO, J. N.; GÓMEZ, I.; MORAL, R.; MATAIX, J. Improving the agricultural value of a semi-arid soil by addition of sewage sludge and almond residue. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 58, p. 115-119, 1996.

PLANQUART, P.; BONIN, G.; PRONE, A.; MASSIANI, C. Distribution, movement and plant availability of trace metals in soils amended with sewage sludge composts: application to low metal loadings. **The Science of the Total Environment**, v. 241, p. 161-179, 1999.

POGGIANI, F.; GUEDES, M. C.; BENEDETTI, V. Aplicabilidade de biossólido em plantações florestais: I – reflexo no ciclo dos nutrientes. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Eds.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2000. cap. 8, p. 163-178.

POGGIVARALDO, H. M.; OLESZKIEWICZ, J. A. Anaerobic co-composting of municipal solid-waste and waste sludge at high total solids levels. **Environmental Technology**, v. 13, n. 5, p. 409-421, 1992.

PRONK, J. T.; MEULENBERG, R.; HAZEU, W.; BOS, P.; KUENEN, J. G. Oxidation of reduced inorganic sulphur compounds by acidophilic thiobacilli. **FEMS Microbiology Review**, v. 75, p. 293-306, 1990. (apud BARBOSA-JEFFERSON et al., 1998).

PROSAB – PROGRAMA DE PESQUISA EM SANEAMENTO BÁSICO. **Manual prático para compostagem de bio sólidos**. Rio de Janeiro: ABES, 1999. 84 p.

QIAO, L.; HO, G. The effect of clay amendment on speciation of heavy metals in sewage sludge. **Water Science and Technology**, v. 34, n. 7-8, p. 413-420, 1996.

RAVISHANKAR, B. R.; BLAIS, J. F.; BENMOUSSA, H.; TYAGI, R. D. Bioleaching of metals from sewage sludge: elemental sulfur recovery. **Journal of Environmental Engineering - ASCE**, v. 120, n. 2, p. 462-470, 1994.

RENNER, R. Sewage sludge: Pros & Cons. **Environmental Science and Technology**, v. 34, p. 430A-435A, 2000.

ROANE, T. M.; PEPPER, I. L.; MILLER, R. M. Microbial remediation of metals. In: CRAWFORD, R. L.; CRAWFORD, D. L. (Eds.). **Bioremediation: principles and applications**. Biotechnology Research Studies, 1996. cap. 10, p. 312-340.

ROSSI, G. **Biohydrometallurgy**. Hamburg: McGraw Hill, 1990. 609 p.

SABESP – COMPANHIA DE SANEAMENTO BÁSICO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Sabesfértil: manual de utilização do produto. In: TSUTIYA et al. (Eds.). **Bio sólidos na agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001. Anexo, p. 433-468.

SABESP – COMPANHIA DE SANEAMENTO BÁSICO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Disponível em: <http://www.sabesp.com.br/o_que_fazemos/coleta_e_tratamento/tratamento_metropolitano_disposicao.htm>. Acesso em 18 fev. 2003.

SABEY, B. R.; AGBIM, N. N.; MARKSTROM, D. C. Land application of sewage sludge: IV. Wheat growth, N content, N fertilizer value, and N use efficiency as influenced by sewage sludge and wood waste mixtures. **Journal of Environmental Quality**, v. 6, n. 1, p. 52-58, 1977.

SANEPAR – COMPANHIA DE SANEAMENTO DO PARANÁ. Disponível em: <<http://www.sanepar.com.br/sanepar/calandra/calandra.nsf>>. Acesso em: 19 fev. 2003.

SANTOS, H. F. dos Aplicação do lodo de estações de tratamento de esgotos em solos agrícolas. **Revista DAE**, São Paulo, v. 39, n. 122, p. 31-48, 1979.

SANTOS, H. F. dos **Uso agrícola do lodo das estações de tratamento de esgotos sanitários (ETEs)**: subsídios para elaboração de uma norma brasileira. 1996. 74 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento Ambiental) - Universidade Mackenzie, São Paulo. (apud TSUTIYA, 2001b).

SANTOS, H. F. dos. Normatização para uso agrícola dos biossólidos no exterior e no Brasil. In: ANDREOLI et al. (Eds.). **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: UFMG, Sanepar, 2001. v. 6, cap. 10, p. 425-464. (Série Princípios do tratamento biológico de águas residuárias).

SCANCAR, J.; MILACIC, R.; STRAZAR, M.; BURICA, O. Total metal concentrations and partitioning of Cd, Cr, Cu, Fe, Ni and Zn in sewage sludge. **The Science of the Total Environment**, v. 250, p. 9-19, 2000.

SCHÖNBORN, W.; HARTMANN, H. Bacterial leaching of metals from sewage sludge. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 5, p. 305-313, 1978.

SCOTT, D. S.; HORLINGS, H. Removal of phosphates and metals from sewage sludges. **Environmental Science and Technology**, v. 9, n. 9, p. 849-855, 1975.

SEMAE – SERVIÇO MUNICIPAL DE ÁGUA E ESGOTO. Disponível em: <<http://www.semaepiracicaba.org.br>>. Acesso em: 19 fev. 2003.

SHABAN, A. M. Bacteriological evaluation of composting systems in sludge treatment. **Water Science and Technology**, v. 40, n. 7, p. 165-170, 1999.

SHANABLEH, A.; GINIGE, P. Acidic bioleaching of nitrogen and phosphorous from sewage sludge. **Environmental Technology**, v. 20, p. 459-468, 1999.

SHEN, S. B.; VIDYARTHI, A. S.; TYAGI, R. D.; BLAIS, J. F.; SURAMPALLI, R. Y. Effect of sulphur concentration on bioleaching of Cr (III) and other metals from tannery sludge by indigenous sulphur-oxidizing bacteria. **Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management**, v. 6, n. 4, p. 244-249, 2002.

SILVA, F. C. da. **Uso agrônômico de lodo de esgoto: efeitos em fertilidade do solo e qualidade da cana-de-açúcar**. 1995. Tese - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SILVA, J. E. da; RESCK, D. V. S.; SHARMA, R. D. Alternativa agrônômica para o biossólido: a experiência de Brasília. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Eds.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2000. cap. 6, p. 143-151.

SILVA, S. M. C. P. da. **Desenvolvimento de uma nova concepção de tratamento de águas residuárias pela associação de processos anaeróbios e aeróbios**. 1993. Tese – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo. (apud ALEM SOBRINHO, 2001).

SILVA, S. M. C. P. da; FERNANDES, F.; THOMAZ-SOCCOL, V.; MORITA, D. M. Principais contaminantes do lodo. In: ANDREOLI et al. (Eds.). **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: UFMG, Sanepar, 2001. v. 6, cap. 3, p. 69-121. (Série Princípios do tratamento biológico de águas residuárias).

SILVERMAN, M. P.; LUNDGREN, D. G. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. I. An improved medium and the harvesting procedure for securing high cell yields. **Journal of Bacteriology**, v. 77, p. 642-647, 1959.

SNYMAN, H. G.; JONG, J. M. de; AVELING, T. A. S. The stabilization of sewage sludge applied to agricultural land and the effects on maize seedlings. **Water Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 87-95, 1998.

SOLISIO, C.; LODI, A.; VEGLIO, F. Bioleaching of zinc and aluminium from industrial waste sludges by means of *Thiobacillus ferrooxidans*. **Waste Management**, v. 22, p. 667-675, 2002.

SOMMERS, L. E. Chemical composition of sewage sludges and analysis of their potential use as fertilizers. **Journal of Environmental Quality**, v. 6, n. 2, p. 225-232, 1977.

SPECTOR, W. S. **Handbook of biological data**. London: W. B. Saunders, 1956. (apud STEPHENSON, 1987).

SPERANDIO, M.; MOREAU-LeGOLVAN, Y.; POUX, D.; LEFEBVRE, X.; PAUL, E. Role of wastewater sludges in stabilisation of municipal solid waste following co-disposal in landfill. **Environmental Technology**, v. 21, n. 11, p. 1205-1214, 2000.

SPERLING, M. von Características das águas residuárias. In: _____. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: UFMG, 1996a. v. 1, cap. 2, p. 51-91. (Série Princípios do tratamento biológico de águas residuárias).

SPERLING, M. von Níveis, processos e sistemas de tratamento. In: _____. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: UFMG, 1996b. v. 1, cap. 4, p. 169-226. (Série Princípios do tratamento biológico de águas residuárias).

SPERLING, M. von Sistema de lagoas aeradas de mistura completa seguidas de lagoas de sedimentação. In: _____. **Lagoas de estabilização**. Belo Horizonte: UFMG, 1996c. v. 3, cap. 5, p. 73-86. (Série Princípios do tratamento biológico de águas residuárias).

SPERLING, M. von; GONÇALVES, R. F. Lodo de esgotos: características e produção. In: ANDREOLI et al. (Eds.) **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: UFMG, Sanepar, 2001. v. 6, cap. 2, p. 17-67. (Série Princípios do tratamento biológico de águas residuárias).

SREEKRISHNAN, T. R.; TYAGI, R. D. Heavy metal leaching from sewage sludges: a techno-economic evaluation of the process options. **Environmental Technology**, v. 15, p. 531-543, 1994.

SREEKRISHNAN, T. R.; TYAGI, R. D. Sensitivity of metal-bioleaching operation to process variables. **Process Biochemistry**, v. 30, n. 1, p. 69-80, 1995.

SREEKRISHNAN, T. R.; TYAGI, R. D. A comparative study of the cost of leaching out heavy metals from sewage sludges. **Process Biochemistry**, v. 31, n. 1, p. 31-41, 1996.

SREEKRISHNAN, T. R.; TYAGI, R. D.; BLAIS, J. F.; CAMPBELL, P. G. C. Kinetics of heavy metal bioleaching from sewage sludge - I. Effects of process parameters. **Water Research**, v. 27, n. 11, p. 1641-1651, 1993.

STEPHENSON, T. Sources of heavy metals in wastewater. In: LESTER, J. N. (Ed.). **Heavy metals in wastewater and sludge treatment processes**, 1987. v. 1, cap. 2, p. 31-63.

STOVER, R. C.; SOMMERS, L. E.; SILVIERA, D. J. Evaluation of metals in wastewater sludge. **Journal of the Water Pollution Control Federation**, v. 48, n. 9, p. 2165-2175, 1976.

STRASSER, H.; BRUNNER, H.; SCHINNER, F. Leaching of iron and toxic heavy metals from anaerobically-digested sewage sludge. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 14, p. 281-287, 1995.

SUZUKI, I.; CHAN, C. W.; TAKEUCHI, T. L. Oxidation of elemental sulfur to sulfite by *Thiobacillus thiooxidans* cells. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 11, p. 3767-3769, 1992.

TAKAHASHI, Y.; MINAI, Y.; AMBE, S.; MAKIDE, Y.; AMBE, F.; TOMINAGA, T. Simultaneous determination of stability constants of humate complexes with various metal ions using multitracer technique. **The Science of the Total Environment**, v. 198, p. 61-71, 1997.

TAKAMATSU, A. K. **Avaliação da biolixiviação de metais pesados por bactérias do gênero *Thiobacillus* em lodos biológicos para utilização agrícola como fertilizante**. 1995. 95 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

TAY, J. H.; SHOW, K. Y. Resource recovery of sludge as a building and construction material – a future trend in sludge management. **Water Science and Technology**, v. 36, n. 11, p. 259-266, 1997.

TCHOBANOGLIOUS, G.; BURTON, F. L. **Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse**. Metcalf & Eddy, Inc. 3rd ed. New York: McGraw Hill, 1991. 1334 p.

THEIS, T. L.; HAYES, T. D. Chemistry of heavy metals in anaerobic digestion. In: RUBIN, A. J. (Ed.). **Chemistry of wastewater technology**. Ann Arbor: Ann Arbor Science Publishers, 1980. cap. 23, p. 403-419.

THOMAZ-SOCCOL, V.; PAULINO, R. C. Riscos de contaminação do agroecossistema com parasitos pelo uso do lodo de esgoto. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Eds.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio-Ambiente, 2000. cap. 15, p. 245-258.

THOMAZ-SOCCOL, V.; PAULINO, R. C.; CASTRO, E. A.; ANDREOLI, C. V. Helminth eggs viability in sewage and biosolids sludge in Curitiba, Paraná, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 40, n. 4, p. 829-836, 1997.

TSUTIYA, M. T. Características de biossólidos gerados em estações de tratamento de esgotos. In: TSUTIYA et al. (Eds.). **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001a. cap. 4, p. 89-131.

TSUTIYA, M. T. Alternativas de disposição final de biossólidos. In: TSUTIYA et al. (Eds.). **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001b. cap. 5, p. 133-180.

TSUTIYA, M. T.; COMPARINI, J. B.; ALEM SOBRINHO, P.; HESPANHOL, I.; CARVALHO, P. C. T. de; MELFI, A. J.; MELO, W. J. de; MARQUES, M. O. (Eds.). **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001. 468 p.

TYAGI, R. D. Microbial leaching of metals from municipal sludge: effects of sludge solids concentration. **Process Biochemistry**, v. 27, p. 89-96, 1992.

TYAGI, R. D.; BLAIS, J. F.; AUCLAIR, J. C. Bacterial leaching of metals from sewage sludge by indigenous iron-oxidizing bacteria. **Environmental Pollution**, v. 82, p. 9-12, 1993a.

TYAGI, R. D.; BLAIS, J. F.; AUCLAIR, J. C.; MEUNIER, N. Bacterial leaching of toxic metals from municipal sludge: influence of sludge characteristics. **Water Environment Research**, v. 65, n. 3, p. 196-204, 1993b.

TYAGI, R. D.; COUILLARD, D. Bacterial leaching of metals from digested sewage sludge. **Process Biochemistry**, v. 22, p. 114-117, 1987.

TYAGI, R. D.; COUILLARD, D. An innovative biological process for heavy metals removal from municipal sludge. In: MARTIN, A. M. (Ed.). **Biological degradation of wastes**. Amsterdam: Elsevier Science, 1991. cap. 14, p. 307-322.

TYAGI, R. D.; COUILLARD, D.; TRAN, F. T. Heavy metals removal from anaerobically digested sludge by chemical and microbiological methods. **Environmental Pollution**, v. 50, p. 295-316, 1988.

TYAGI, R. D.; COUILLARD, D.; TRAN, F. T. Studies on microbial leaching of heavy metals from municipal sludge. **Water Science and Technology**, v. 22, n. 12, p. 229-238, 1990.

TYAGI, R. D.; COUILLARD, D.; TRAN, F. T. Comparative study of bacterial leaching of metals from sewage sludge in continuous stirred tank and air-lift reactors. **Process Biochemistry**, v. 26, p. 47-54, 1991.

TYAGI, R. D.; SREEKRISHNAN, T. R.; BLAIS, J. F.; CAMPBELL, P. G. C. Kinetics of heavy metal bioleaching from sewage sludge - III. Temperature effects. **Water Research**, v. 28, n. 11, p. 2367-2375, 1994.

USDA – UNITED STATE DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Report and recommendation on organic farming**. Washington, 1980. 94 p. (apud MELO e MARQUES, 2000).

US EPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Standards for the disposal of sewage sludge**: proposed rules 40 CFR parts 257 and 503. Washington: Federal Register, 1989. (apud CHANG et al., 1992).

US EPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **The standards for the use or disposal of sewage sludge**: 40 CFR Parts 257, 403, and 503. Washington: Federal Register, 1993. (apud US EPA, 2002).

US EPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Biosolids generation, use and disposal in the United States**. Washington: Office of Solid Waste and Emergency Response, 1999. 74 p. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epaoswer/non-hw/compost/biosolid.pdf>>. Acesso em: 27 ago. 2002.

US EPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Biosolids applied to land**: advancing standards and practices. Washington: National Academy Press, 2002. 266 p. Disponível em: <<http://www.epa.gov/ost/biosolids>>. Acesso em: 27 fev. 2003.

VALDARES, J. M. A. S.; GAL, M.; MINGELGRIN, U.; PAGE, A. L. Some heavy metals in soils treated with sewage sludge, their effects on yield, and their uptake by plants. **Journal of Environmental Quality**, v. 12, n. 1, p. 49-57, 1983.

VanDEMARK, P. J.; BATZING, B. L. (Eds.). **The microbes**: an introduction to their nature and importance. Benjamin & Cummings Publishing, 1987. 991 p.

VANZO, J. E.; MACEDO, L. S.; TSUTIYA, M. T. Registros da produção de biossólidos: o caso da ETE-Franca. In: TSUTIYA, M. T. et al. (Eds.). **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001. cap. 8, p. 227-242.

VEEKEN, A. H. M.; HAMELERS, H. V. M. Removal of heavy metals from sewage sludge by extraction with organic acids. **Water Science and Technology**, v. 40, n. 1, p. 129-136, 1999.

VESILIND, P. A. Sludge sources and quantities. In: _____. **Treatment and disposal of wastewater sludges**. Ann Arbor: Ann Arbor Science, 1974. cap. 1, p. 1-10.

WALKER, J. M. Sewage sludges – management aspects for land application. **Compost Science**, v. 16, n. 2, p. 12-21, 1975.

WALTER, I.; CUEVAS, G. Chemical fractionation of heavy metals in a soil amended with repeated sewage sludge application. **The Science of the Total Environment**, v. 226, p. 113-119, 1999.

WONG, J. W. C.; XIANG, L.; CHAN, L. C. pH requirement for the bioleaching of heavy metals from anaerobically digested wastewater sludge. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 138, p. 25-35, 2002.

WONG, L.; HENRY, J. G. Decontaminating biological sludge for agricultural use. **Water Science and Technology**, v. 17, p. 575-586, 1984.

WOZNIAK, D. J.; HUANG, J. Y. C. Variables affecting metal removal from sludge. **Journal of the Water Pollution Control Federation**, v. 54, n. 12, p. 1574-1580, 1982.

XIANG, L.; CHAN, L. C.; WONG, J. W. C. Removal of heavy metals from anaerobically digested sewage sludge by isolated indigenous iron-oxidizing bacteria. **Chemosphere**, v. 41, p. 283-287, 2000.

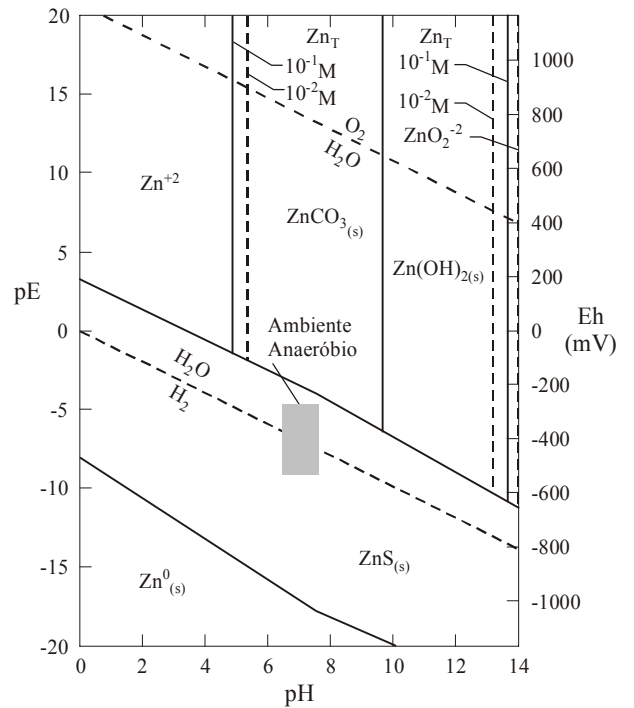
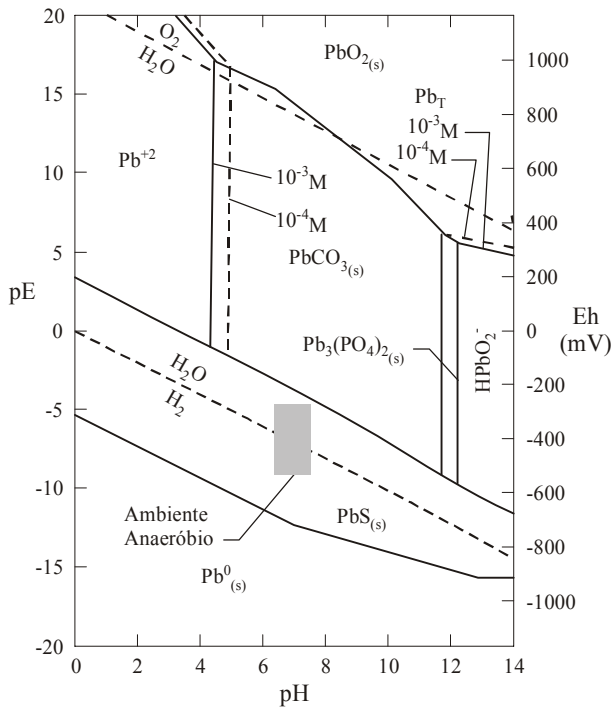
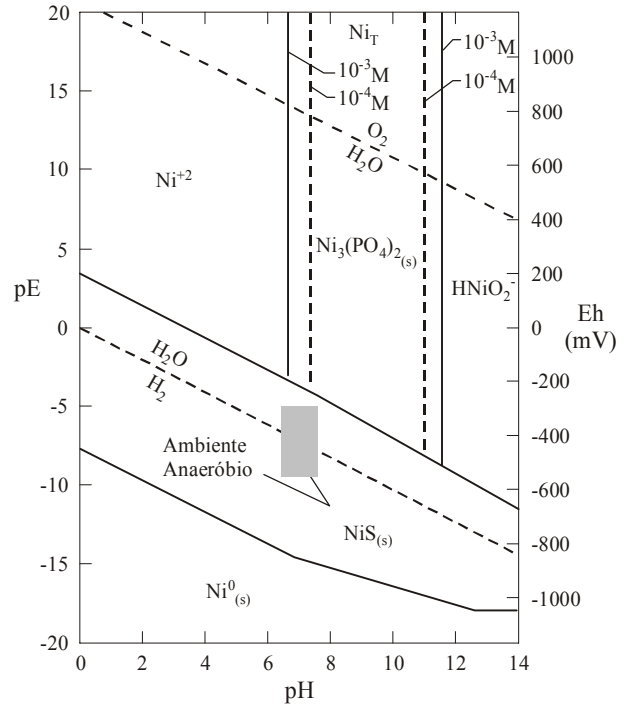
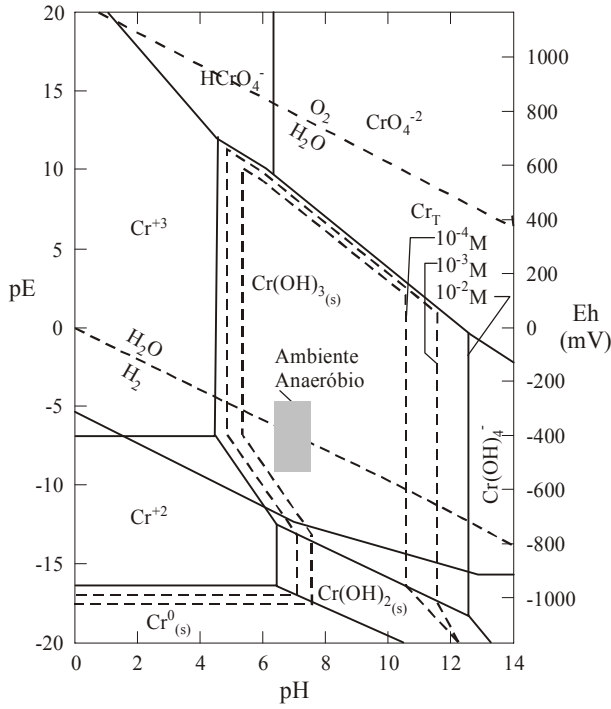
ZHANG, F. S.; YAMASAKI, S. I.; NANZYU, M.; KIMURA, K. Evaluation of cadmium and other metal losses from various municipal wastes during incineration disposal. **Environmental Pollution**, v. 115, n. 2, p. 253-260, 2001.

ZUFIAURRE, R.; OLIVAR, A.; CHAMORRO, P.; NERÍN, C.; CALLIZO, A. Speciation of metals in sewage sludge for agricultural uses. **Analyst**, v. 123, p. 255-259, 1998.

ANEXO A

Diagrama de formas químicas predominantes para os metais cromo, chumbo, níquel e zinco em função das condições de pH e de potencial de óxido-redução (E_h).

(Fonte: THEIS e HAYES, 1980).



ANEXO B

Composição do meio “9K” descrito por Silverman e Lundgren (1959), utilizado para manutenção da linhagem *A. thiooxidans* FG01.

Tabela B – Composição do meio “9K” descrito por Silverman e Lundgren (1959).

Componentes	Quantidade
(NH ₄) ₂ SO ₄	3,0 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5 g
KCl	0,1 g
Ca(NO ₃) ₂	0,01 g
H ₂ O destilada	qsp 1000 mL
pH	2,8 (H ₂ SO ₄ 1 M)

Como fonte de energia, foi utilizado enxofre elementar (S⁰), na forma de pó, a uma concentração de 10 g·L⁻¹ (GARCIA JÚNIOR, 1989). A solução de sais foi esterilizada, em autoclave, a 120°C por 20 min. Para a esterilização do enxofre, foi utilizada a condição de 110°C por 1 h (GARCIA JÚNIOR, 1989), a fim de evitar sua sublimação. O enxofre foi adicionado à solução de sais apenas no momento do uso.

ANEXO C

Composição do meio contendo tiosulfato de sódio descrito por Barton e Shively (1968), utilizado na preparação de meio sólido para enumeração de thiobacilli endógenos.

Tabela C – Composição do meio de cultura descrito por Barton e Shively (1968).

Componentes	Quantidade
Na ₂ S ₂ O ₃	5,0 g
KH ₂ PO ₄	3,0 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,4 g
CaCl ₂ ·7H ₂ O	0,25 g
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,01 g
H ₂ O destilada	qsp 1000 mL
pH	7,0 (NaOH 2 M) ou 4,0 (H ₂ SO ₄ 1 M)

A solução de sais foi preparada de forma a se obter uma solução 2 vezes mais concentrada que aquela apresentada acima. O pH da solução foi ajustado para 4,0 (crescimento de thiobacilli acidofílicos) ou 7,0 (crescimento de thiobacilli neutrofílicos). Um volume idêntico ao da solução de sais foi preparado contendo 4% (m/v) de ágar. Ambas as soluções foram esterilizadas separadamente, em autoclave, a 120°C por 20 min. Após resfriamento até 50°C, as soluções foram misturadas (1:1 v/v) e dispensadas em placas de Petri esterilizadas.

A alteração feita em relação ao meio original refere-se à diminuição da concentração de CaCl₂·7H₂O de 0,25 g para 0,10 g, a fim de evitar a precipitação de Ca(OH)₂, quando do ajuste do pH da solução de sais para 7,0.