

**DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE METANOGÊNICA DE LODOS GRANULADOS
ORIUNDOS DE BIODIGESTORES DE FLUXO ASCENDENTE E MANTA DE LODO,
FRENTE A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO METAL PESADO NÍQUEL.**



Biól. ANTONIO CARLOS SQUILACI JR

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Engenharia Civil. - Área de concentração - Hidráulica e Saneamento.

ORIENTADORA: Prof^a. Dr.^a Rosana Filomena Vazoller

São Carlos

1997

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca - EESC-USP

S773d Squilaci Jr, Antonio Carlos
Determinação da atividade metanogênica de
lodos granulados oriundos de biodigestores
de fluxo ascendente e manta de lodo, frente a
diferentes concentrações do metal pesado níquel /
Antonio Carlos Squilaci Jr. -- São Carlos, 1997.

Dissertação (Mestrado) -- Escola de Engenharia
de São Carlos-Universidade de São Paulo, 1997.
Área: Hidráulica e Saneamento
Orientador: Prof. Dr. Rosana Filomena Vazoller

1. Níquel (Ni). 2. Metais pesados.
3. Biodigestor anaeróbico. 4. Micronutriente.
I. Título

Class. T6.50 - 00.80
Cutt. 58.60
Tombo T 0016/98

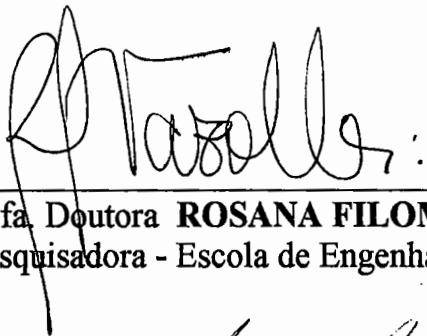
3 LL 00006932

S/S 943217

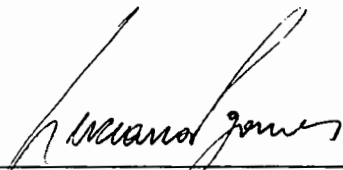
FOLHA DE APROVAÇÃO

Candidato: Licenciado **ANTONIO CARLOS SQUILACI JUNIOR**

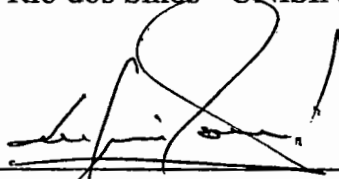
Dissertação defendida e aprovada em 27-10-1997
pela Comissão Julgadora:



Profa. Doutora **ROSANA FILOMENA VAZOLLER (Orientadora)**
(Pesquisadora - Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo)



Profa. Doutora **LUCIANA PAULO GOMES**
(Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS)



Prof. Titular **EUGÊNIO FORESTI**
(Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo)



Prof. Titular **FAZAL HUSSAIN CHAUDHRY**
Coordenadora da Área de Hidráulica e Saneamento



JOSÉ CARLOS A CINTRA
Presidente da Comissão de Pós-Graduação

Dedico esta Dissertação àqueles que me ajudaram a entender este mundo melhor, como Jesus Cristo, Mahatma Gandhi e Frei Betto e também a todos aqueles que lutam e lutaram para tornar este mundo melhor.

AGRADECIMENTOS

A meu pai e minha mãe, pelo dom da vida;

a meu avô e minha avó, pelas lições de vida;

a minha irmã e meu irmão, pela convivência;

aos meus professores, por tudo o que quiseram me ensinar e pelo o que aprendi;

a meus amigos de Ribeirão Preto, por me acompanharem no meu crescimento;

a meus amigos de São Carlos, pela alegria e bons momentos longe da família;

a Prof^a Dr^a Rosana Filomena Vazoller, pela paciência comigo e suas sugestões;

aos funcionários do Laboratório de Saneamento, pela ajuda essencial no trabalho;

as funcionárias da Secretária da Hidráulica, pela orientação nos meios burocráticos

e

ao CNPq, pela financiamento deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	vii
LISTA DE SÍMBOLOS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	8
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	9
3.1 Metais pesados na digestão anaeróbia.....	9
3.1.1 A importância do íon níquel para o metabolismo bacteriano.....	28
3.1.2 Determinação da atividade metanogênica de um lodo anaeróbio.....	34
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
4.1 Características dos inóculos estudados.....	40
4.1.1 Inóculo utilizado nos experimentos 01 e 03.....	40
4.1.2 Inóculo utilizado nos experimentos 04 e 09.....	41
4.2 Soluções empregadas nos experimentos.....	42
4.2.1 Solução mineral.....	42
4.2.1.1 Procedimentos para a adição da solução mineral aos lodos estudados.....	43
4.2.2 Preparação da solução estoque de Acetato de Sódio.....	43
4.2.3 Preparação da solução estoque de Bicarbonato de Sódio a 10%.....	44
4.2.4 Preparação da solução estoque de Etanol.....	45

4.2.5	Preparação da solução estoque de extrato de levedura a 2%.....	46
4.2.6	Preparação da solução estoque de Cloreto de Níquel Hidratado (NiCl ₂ .6H ₂ O).....	48
4.3	Procedimentos para a distribuição dos lodos nos frascos de reação.....	49
4.4	Procedimentos para a adição das soluções estoque nos frascos de reação.....	49
4.5	Procedimentos para a determinação dos valores de pH no meio.....	50
4.6	Procedimentos para a determinação dos Sólidos em Suspensão Voláteis.....	50
4.7	Procedimentos para as análises dos gases por cromatografia gasosa.....	51
4.7.1	Procedimentos para a preparação da curva de calibração do gás metano.....	51
4.7.2	Procedimentos para a determinação da atividade metanogênica	52
4.8	Análises do íon Níquel por espectrofotômetro de Absorção Atômica.....	55
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
6	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	113
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	116
	ANEXOS.....	124

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Crescimento em acetato de culturas mesofílicas cultivadas em sistemas descontínuos - <i>Methanosarcina sp</i> e <i>Methanotherix sp</i>	22
Figura 02 -Fator F_{430} presente nas bactérias metanogênicas.....	31
Figura 03 -Esquema geral das etapas envolvidas na produção de metano a partir do dióxido de carbono, hidrogênio, acetato, metanol e formiato.....	33
Figura 04 - Frasco de antibiótico (25 mL), sendo o volume deste frasco dividido entre o lodo (10 mL) e o " <u>headspace</u> " (15 mL), o lacre de alumínio e a tampa de borracha para a lacração dos frascos.....	39
Figura 05 - Esquema das soluções que foram adicionadas aos frascos-reatores com lodo durante os experimentos.....	52
Figura 06 - Microscopia de varredura do lodo utilizado nos experimentos 04 a 09, apresentando a presença e a estrutura da <i>Methanotherix sp</i>	62
Figura 07 - Morfologia predominante no lodo utilizado nos experimentos 04 a 09.....	63
Figura 08 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 01. Frascos controle e os com concentração de 6,25 mg Ni/L.....	97
Figura 09 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 01. Frascos controle e os com concentração de 93,75 mg Ni/L.	97
Figura 10 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 01. Frascos controle e os com concentração de 125,00 mg Ni/L.	98
Figura 11 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 01. Frascos controle e os com concentração de 250,00 mg Ni/L.....	98
Figura 12 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 02. Frascos controle e os com concentrações de 12,50; 18,75; 25,00 e 50,00 mg Ni/L.....	99
Figura 13 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 03. Frascos controle e os com concentrações de 12,50; 18,75; 25,00 e 50,00 mg Ni/L.....	99
Figura 14 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 04. Frascos controle e os com concentração de 50,00 mg Ni/L.....	100

Figura 15 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 04. Frascos controle e os com concentração de 75,00 mg Ni/L.....	100
Figura 16 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 04. Frascos controle e os com concentração de 100,00 mg Ni/L.....	101
Figura 17 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 04. Frascos controle e os com concentração de 200,00 mgNi/L.....	101
Figura 18 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 05. Frascos controle e os com concentração de 50,00 mg Ni/L.....	102
Figura 19 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 05. Frascos controle e os com concentração de 75,00 mg Ni/L.....	102
Figura 20 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 05. Frascos controle e os com concentração de 100,00 mgNi/L.....	103
Figura 21 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 05. Frascos controle e os com concentração de 200,00 mgNi/L.....	103
Figura 22 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 06. Frascos controle e os com concentração de 50,00 mg Ni/L.....	104
Figura 23 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 06. Frascos controle e os com concentração de 75,00 mg Ni/L.....	104
Figura 24 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 06. Frascos controle e os com concentração de 100,00 mgNi/L.....	105
Figura 25 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 06. Frascos controle e os com concentração de 200,00 mgNi/L.....	105
Figura 26 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 07. Frascos controle e os com concentração de 1,00 mg Ni/L.....	106
Figura 27 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 07. Frascos controle e os com concentração de 1,50 mg Ni/L.....	106
Figura 28 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 07. Frascos controle e os com concentração de 2,0 mg Ni/L.....	107
Figura 29 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 07. Frascos controle e os com concentração de 2,5 mg Ni/L.....	107

Figura 30 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 08. Frascos controle e os com concentração de 1,0 mg Ni/L.....	108
Figura 31 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 08. Frascos controle e os com concentração de 1,5 mg Ni/L.....	108
Figura 32 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 08. Frascos controle e os com concentração de 2,0 mg Ni/L.....	109
Figura 33 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 08. Frascos controle e os com concentração de 2,5 mg Ni/L.....	109
Figura 34 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 09. Frascos controle e os com concentração de 0,0001 mgNi/L.....	110
Figura 35 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 09. Frascos controle e os com concentração de 2,0 mgNi/L.	110
Figura 36 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 09. Frascos controle com 40 mmoles e os com concentração de 2,0 mgNi/L com 80 mmoles.	111
Figura 37 - Curva de calibração de metano, juntamente com a regressão linear dos dados obtidos a partir da Tabela 36.....	112

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Funções fisiológicas dos minerais às bactérias metanogênicas.....	24
Tabela 02 - Concentrações ótimas ou estimulatórias de compostos inorgânicos nas culturas de bactérias metanogênicas, cultivadas em sistemas descontínuos.....	25
Tabela 03 - Lista parcial que mostra os efeitos estimulatórios dos compostos inorgânicos em culturas enriquecidas com acetato em biodigestores anaeróbios.....	27
Tabela 04 - Composição, procedimentos e materiais para a preparação da solução mineral.....	42
Tabela 05 - Composição e materiais empregados na preparação da solução estoque de Acetato de Sódio.....	44
Tabela 06 - Composição, procedimentos e materiais empregados na preparação da solução estoque de bicarbonato de sódio a 10%.....	45
Tabela 07 - Composição e materiais empregados na preparação da solução estoque de etanol.....	46
Tabela 08 - Composição, procedimentos e materiais empregados na preparação da solução estoque de extrato de levedura 2%.....	47
Tabela 09 - Composição, procedimentos e materiais empregados na preparação da solução estoque de cloreto de níquel.....	48
Tabela 10 - Concentrações do Ni (mg/L) e o respectivo volume da solução de cloreto de níquel (mL) adicionados aos frascos de cada experimento.....	49
Tabela 11 - Vidrarias, equipamentos e procedimentos utilizados para a distribuição do lodo nos frascos.....	50
Tabela 12 - Vidrarias, equipamentos e procedimentos utilizados para a distribuição das soluções nos frascos.....	53
Tabela 13 - Concentrações da solução de acetato de sódio, em mmoles/L, e o volume de bicarbonato de sódio a 10%, em mg/L, para os frascos de cada experimento.....	53

Tabela 14 - Composição, vidrarias, equipamentos e procedimentos utilizados para a realização da digestão do lodo por ácido nítrico-ácido hidroclorídrico.....	56
Tabela 15 - Valores dos coeficientes angulares do experimento 04 - Frascos controles e com diferentes concentrações de Ni.....	67
Tabela 16 - Valores dos coeficientes angulares do experimento 05 - Frascos controles e com diferentes concentrações de Ni.....	68
Tabela 17 - Valores dos coeficientes angulares do experimento 06 - Frascos controles e com diferentes concentrações de Ni.....	68
Tabela 18 - Valores dos coeficientes angulares do experimento 07 - Frascos controles e com diferentes concentrações de Ni.....	69
Tabela 19 - Valores dos coeficientes angulares do experimento 08 - Frascos controles e com diferentes concentrações de Ni.....	69
Tabela 20 - Valores dos coeficientes angulares do experimento 09 - Frascos controles e com diferentes concentrações de Ni.....	70
Tabela 21 - Análises do lodo por espectrofotômetro de absorção atômica - Metais <i>Ni</i> e <i>Fe</i> nos experimentos 5, 7 e 8.....	70
Tabela 22 - Análises do lodo (sólido + líquido) por espectrofotômetro de absorção atômica - Metais <i>Ni</i> e <i>Fe</i> nos experimentos 09.....	71
Tabela 23 - Valores dos Sólidos em Suspensão Voláteis (S.S.V.) dos experimentos 04 a 09.....	71
Tabela 24 - Valores dos potenciais hidrogeniônicos (pH) dos experimentos 05 e 06.....	72
Tabela 25 - Valores dos potenciais hidrogeniônicos (pH) dos experimentos 07 e 08.....	72
Tabela 26 - Valores dos potenciais hidrogeniônicos (pH) do experimento 09.....	73
Tabela 27 - Resultados obtidos no experimento 01, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.....	74
Tabela 28 - Resultados obtidos no experimento 02, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.....	76

Tabela 29 - Resultados obtidos no experimento 03, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.....	77
Tabela 30 - Resultados obtidos no experimento 04, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.....	78
Tabela 31 - Resultados obtidos no experimento 05, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.....	80
Tabela 32 - Resultados obtidos no experimento 06, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.....	83
Tabela 33 - Resultados obtidos no experimento 07, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.....	85
Tabela 34 - Resultados obtidos no experimento 08, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.....	89
Tabela 35 - Resultados obtidos no experimento 09, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.....	93
Tabela 36 - Valores obtidos para a realização da curva de calibração de metano.....	111

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP - Trifosfato de Adenosina.

AGV - Ácidos Graxos Voláteis.

BAPH - Bactérias Acetogênicas Produtoras de Hidrogênio.

BRN - Bactérias Redutoras de Nitrato.

BRS - Bactérias Redutoras de Sulfato.

C₁ - Compostos orgânicos simples, com a presença de apenas um carbono.

C₂ - Compostos orgânicos com dois carbonos ou mais.

CG - 300 - Modelo de Integrador.

CNTP - Condições Normais de Temperatura e Pressão.

CoM - Coenzima M.

COT - Carbono Orgânico Total.

DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio.

DNA - Ácido Desoxirribonucléico.

DQO - Demanda Química de Oxigênio.

E.A.A. - Espectrofotômetro de Absorção Atômica

FAD - Adenina Dinucleotídeo Flavina.

$g(\text{CH}_4\text{-DQO}).g(\text{SSV})^{-1}.\text{dia}^{-1}$ - grama de metano por grama de sólidos em suspensão voláteis por dia.

HS-HTP - 7-mercaptoheptanoiltreonina fosfato

H₄MPT - Tetraidrometanopterinina.

MFR - Metanofurano.

N - amoniacal - nitrogênio amoniacal

pH - Potencial Hidrogeniônico.

RNA - Ácido Ribonucléico.

RNA_r - Ácido Ribonucléico Ribossômico.

RNA_t - Ácido Ribonucléico Transportador.

rpm - Rotações por Minuto.

RSB - Reatores Sequenciais em Batelada.

SST - Sólidos em Suspensão Totais.

SSV - Sólidos em Suspensão Voláteis.

TRH - Tempo de Retenção Hidráulico.

TUA - Taxa de Utilização de Acetato.

UASB Reactor - Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor= Reator de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo.

UNESP - Universidade Estadual Paulista

LISTA DE SÍMBOLOS

ΔG° - Variação de Energia Livre Padrão.

Å - Angstrom.

μ - micro

μmol - micromol.

$^{\circ}\text{C}$ - graus Celsius.

CH_4 - metano

atm - unidade de pressão.

kJ - Kilojoule.

K_s - Constante de saturação numericamente igual a concentração do substrato em

que $\mu = \mu_m / 2$. volume de massa⁻¹.

mA - Miliámpere.

mmHg - Milímetros de Mercúrio.

mmoles - milimoles.

RESUMO

SQUILACI Jr., A.C. *Determinação da atividade metanogênica de lodos granulados oriundos de um biodigestor anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, frente a diferentes concentrações do metal pesado Níquel*. São Carlos, 1997. 125 p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

O aprimoramento da eficiência do processo de tratamento anaeróbio de resíduos, biodigestão anaeróbia, pode ser alcançado através da otimização dos projetos de reatores, do adequado equilíbrio nutricional para o processo biológico e do conhecimento das rotas bioquímicas bacterianas. O objetivo do presente trabalho foi o de verificar a influência do metal pesado Níquel na metanogênese de lodos granulados oriundos de biodigestores de fluxo ascendente e manta de lodo, operados com efluentes líquidos contendo baixa carga orgânica (esgotos sanitários e esgotos de suinocultura). O Níquel é um micronutriente presente em sistemas enzimáticos, particularmente em uma coenzima das bactérias metanogênicas (F_{430}). Foram estudadas concentrações de Níquel na faixa de 0,0001 a 200,00 mg Ni/L, em meio de cultura contendo como única fonte de carbono o acetato. Os valores de produção de metano e dos cálculos das atividades metanogênicas, em nove experimentos realizados, não revelaram diferenças nas faixas de Níquel estudadas, em relação aos valores dos reatores controles alimentados somente com o substrato orgânico. A discrepância dos valores de atividade metanogênica calculados entre as réplicas experimentais sugere a necessidade de estabelecer uma metodologia mais adequada ao estudo da influência de micronutrientes no lodo biológico anaeróbio, uma vez que os procedimentos tradicionalmente empregados na determinação da atividade metanogênica não possibilitaram atingir resultados conclusivos no presente estudo.

Palavras chave: Níquel, metais pesados, micronutriente, biodigestão anaeróbia, acetato, resíduos suínos.

ABSTRACT

SQUILACI Jr., A.C. *Methanogenic activity measurements of granular sludge from up-flow anaerobic sludge blanket biodigester (UASB), testing various concentrations of the heavy metal nickel.* São Carlos, 1997. 125 p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

An increase in the performance of wastewater treatment anaerobic process could be obtained by the improvement of reactor design, adequate nutritional conditions of the biological process and indeed by the knowledge of the bacterial biochemistry. The objective of this work was to verify the nickel influence during the acetate methanogenesis of granular sludges from up-flow anaerobic sludge blanket biodigesters (UASB) fed with low organic matter wastewater (sewage and hog raising). Nickel is a micronutrient important to some enzymatic systems, as in a coenzyme of methanogenic bacteria (F_{430}). Nickel concentrations were studied in a range from 0,0001 to 200,00 mg Ni/L into a culture medium with acetate as the only carbon source. Methane production values and methanogenic activities calculations of nine tests running in small flasks at various nickel concentrations showed no differences in comparison to the results of control flasks fed with organic substrate only. An improved methodology must be established to the study of micronutrients influence in anaerobic sludge due the variation of the methanogenic activity values observed among the experimental repetitions. The classical procedures to measure methanogenic activities used in this work did not show consistent results.

Key-words: Nickel, heavy metals, micronutrient, anaerobic biodigestion, acetate, hog raising.

1 - INTRODUÇÃO

O desenvolvimento e o aprimoramento dos processos biológicos de tratamento de águas residuárias são resultantes da realização de diferentes trabalhos científicos, nos quais buscam-se soluções seguras e viáveis para os problemas ambientais gerados pelos lançamentos *in natura* nos corpos d'água, de esgotos sanitários e industriais.

Com os cursos d'água saturados pela presença dos resíduos, não ocorre a degradação total da matéria orgânica lançada. Conseqüentemente, surgem desequilíbrios nos ecossistemas aquáticos receptores, cujos prejuízos ao homem podem ser facilmente observados quando da poluição dos mananciais.

Infelizmente, além da matéria orgânica presente nos esgotos, o lançamento de efluentes industriais promove a eliminação de compostos inorgânicos tóxicos e o aumento de temperatura nos sistemas aquáticos, reduzindo ainda mais a sobrevivência dos organismos que compõem este ambiente, quer pela toxicidade do meio, ou pela diminuição severa do oxigênio.

A existência de sistemas de tratamento de dejetos em um município deverá, portanto, auxiliar e resolver a gama de problemas originada pela interferência das águas residuárias no meio ambiente, evitando com isso, os impactos de ordem social e ambiental ocasionados pela ausência de saneamento básico.

São vários os métodos de tratamento dos dejetos líquidos, dentre eles se encontram os biológicos que utilizam microrganismos para a estabilização da matéria orgânica. A atividade microbiana ocorre em decorrência da disponibilidade de requerimentos nutricionais presentes nas

águas residuárias, ou seja, pela presença de fontes de carbono e energia, bem como das várias formas dos elementos químicos: N, P, S, K, Ca, Mg e de alguns metais em quantidades traço (WASTEWATER ENGINEERING 1991).

Os processos biológicos podem ser aeróbios, anóxicos e anaeróbios, e ocorrem em reatores que se constituem em ecossistemas adequados para a atividade dos microrganismos responsáveis pela degradação das águas residuárias. Os reatores biológicos podem possuir diferentes desenhos, onde o objetivo principal é a retenção da massa celular microbiana nos sistemas. Particularmente, os processos anaeróbios de tratamento de resíduos parecem possuir vantagens sobre os demais, levando-se em conta o baixo consumo de energia, pois não necessitam da introdução forçada de oxigênio como nos sistemas aeróbios; a baixa produção de lodo biológico (células microbianas), cerca de 20% aos processos aeróbios convencionais, como nos lodos ativados; e a possibilidade de recuperação e utilização como combustível do gás metano, formado durante a biodegradação anaeróbia (FORESTI, 1994).

É certo que todas as vantagens de um processo biológico de tratamento estão relacionadas às bactérias ou ao lodo biológico que se desenvolve no sistema. As bactérias atuantes nos reatores denominados anaeróbios não convencionais podem ser retidas nestes sistemas, devido à formação de uma estrutura granular. A estreita interação das mesmas no meio, em conjunto com as condições de operação do reator, promove o desenvolvimento dos grânulos, que facilitam o sinergismo necessário para a sobrevivência de cada espécie bacteriana (MacLEOD et al., 1990).

O consórcio granular bacteriano facilita a interação dos microrganismos, conduzindo a um processo mais estável (MOSEY apud FORESTI, 1994). A digestão anaeróbia é um processo complexo, que ocorre na ausência de oxigênio molecular, em que as populações bacterianas interagem na oxidação da matéria orgânica, através de uma fermentação estável e auto-regulada, cujo o produto final é o biogás. A

atuação bacteriana sobre a matéria orgânica a ser degradada sob condições anaeróbias é freqüentemente descrita como uma ação em etapas, a saber: [1] hidrólise de polímeros orgânicos complexos a monômeros, como açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos, pela ação das bactérias fermentativas hidrolíticas; [2] fermentação dos monômeros a ácidos orgânicos, álcoois, hidrogênio e bicarbonato, pela ação das bactérias fermentativas hidrolíticas; [3] oxidação de compostos orgânicos a hidrogênio, bicarbonato e ácido acético, pela ação das bactérias acetogênicas produtoras de hidrogênio - BAPH; [4] respiração homoacetogênica do bicarbonato, pela ação de bactérias acetogênicas; [5] oxidação de compostos a ácido acético pelas bactérias redutoras do nitrato - BRN - e redutoras do íon sulfato - BRS; [6] oxidação do ácido acético a bicarbonato pelas BRN e BRS; [7] oxidação do hidrogênio pelas BRN e BRS; [8] conversão do acetato a metano, pela ação de bactérias metanogênicas acetoclásticas; [9] redução do dióxido de carbono a metano, pela ação das bactérias metanogênicas hidrogenotróficas (HARPER & POHLAND apud FORESTI, 1994).

Foram várias as pesquisas realizadas afim de aumentar a eficiência do processo de digestão anaeróbia, destacando-se aquelas relacionadas ao esclarecimento dos principais fatores de crescimento (compostos orgânicos) e/ou requerimentos nutricionais (compostos inorgânicos) dos microrganismos anaeróbios atuantes no sistema (HAYES & THEIS, 1976; HICKEY et al., 1989; MUELLER & STEINER, 1992; LIN, 1992; LIN, 1993; FORESTI, 1994; SPEECE, 1994).

O tempo de geração das bactérias é dependente dos nutrientes disponíveis no meio de crescimento. A presença de concentrações ideais de nutrientes não é essencial, mas sob baixas concentrações de nutrientes o processo suporta somente a aplicação de cargas orgânicas muito baixas, com conseqüente diminuição de eficiência no tratamento (SPEECE, 1994). Os fatores de crescimento microbiano nos sistemas anaeróbios podem ser exemplificados pelos substratos orgânicos necessários ao desenvolvimento

das células, geralmente ácidos orgânicos voláteis e álcoois. Alguns nutrientes essenciais são relatados como: Ni, Fe, Co, Ca, compostos nitrogenados como o íon amônio e vitaminas (SPEECE, 1994).

Para que o processo de biodigestão anaeróbia atinja o máximo de eficiência deve-se operar os reatores com o objetivo de promover o equilíbrio entre as populações bacterianas, como descrito a seguir: - controlar a carga orgânica de entrada nos reatores; - controlar a quantidade de hidrogênio no processo; - controlar a temperatura dos reatores, pois esta afeta a velocidade das reações químicas e bioquímicas; o pH e a alcalinidade. O hidrogênio em excesso deve ser continuamente removido do meio para não afetar a formação de ácidos orgânicos voláteis, principalmente a do ácido acético, que é responsável por aproximadamente 70% do gás metano gerado nos biodigestores, sendo o metano restante originado pelo hidrogênio e dióxido de carbono (FORESTI, 1994).

As reações acetogênicas (1), (2) e (3), são reações termodinamicamente desfavoráveis ($\Delta G^0 > 0$). Por isso, a remoção do hidrogênio é fundamental, pois como a metanogênese depende da disponibilidade de acetato, é importante que o equilíbrio das reações acetogênicas seja deslocado para a direita, através da remoção contínua de hidrogênio.

Exemplos de reações de oxidação anaeróbia de compostos orgânicos		ΔG^0 (kJ/reação)
Propionato \Rightarrow Acetato		
(1)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3 \text{H}_2\text{O} \Rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + \text{HCO}_3^- + 3\text{H}_2$	+76,1
Butirato \Rightarrow Acetato		
(2)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + 2 \text{H}_2\text{O} \Rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+48,1
Etanol \Rightarrow Acetato		
(3)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \Rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+9,6

Fonte: FORESTI (1994).

A eliminação do hidrogênio no meio é realizada pelo grupo de bactérias metanogênicas hidrogenotróficas, que utiliza o hidrogênio e o dióxido de carbono para produzir metano e água. Com o consumo de hidrogênio por estas bactérias, o metabolismo das bactérias formadoras de ácidos é controlado, dirigindo-se à formação de ácido acético (FORESTI, 1994).

Estudos sobre a influência de alguns micronutrientes inorgânicos como N, P, S, Ca, Mg, Fe, Co, Cd e Ni, na biodigestão anaeróbia, foram realizados por TAKASHIMA & SPEECE (1989). Nestes trabalhos, a influência dos micronutrientes dependeu de suas concentrações, do tipo do reator e das condições ambientais estabelecidas no processo. Segundo os autores (TAKASHIMA & SPEECE, 1989), uma determinada concentração dos micronutrientes pode ser bastante estimulatória à produção de metano, ou tóxica a um nível que provoca o colapso do sistema. Segundo SPEECE (1994), a ausência de apenas um nutriente essencial pode limitar o crescimento bacteriano, e conseqüentemente a produção de metano.

McCARTY apud SPEECE (1994) observou a influência de determinados cátions no aumento da taxa de produção de metano. Dentre os metais estudados, o Ni foi essencial na alteração da taxa de metano. A influência do Ni sobre a metanogênese foi melhor compreendida através de estudos posteriores sobre os componentes enzimáticos das células produtoras de metano, nos quais foi determinada a estrutura tetrapirrólica do Fator 430 (F_{430}). Nestes estudos, observou-se que o Ni era o componente central deste fator enzimático (WHITMAN & WOLFE, 1980; DIEKERT et al., 1980-a; DIEKERT et al., 1980-b; DIEKERT et al., 1981).

O presente trabalho procurou analisar a influência da adição de diferentes concentrações de Ni na conversão biológica do acetato a metano. Para isto, foi utilizado o monitoramento cromatográfico da produção do metano de um lodo granulado anaeróbio, ou seja, a determinação da atividade metanogênica do lodo submetido a adições de acetato e Ni. O

lodo granulado anaeróbio foi oriundo de um biodigestor de fluxo ascendente e manta de lodo, operado com resíduos suínos (OLIVEIRA et al., 1995).

O teste que determina a atividade metanogênica foi utilizado, uma vez que se constitui em uma técnica adequada para realizar o monitoramento da digestão anaeróbia (ARAÚJO, 1995). A atividade metanogênica pode ser utilizada para determinar a carga orgânica ótima para a partida de um reator, pois é verificado o potencial do lodo em converter o substrato orgânico a metano e dióxido de carbono. O teste pode ser usado também para identificar a presença da população bacteriana no lodo (ARAÚJO, 1995). A vantagem de utilizar o ácido individualmente é o de estimar, através de sua degradação, a taxa máxima de sua conversão a metano, e assim obter valores que indiquem inibição ou limitação no processo em função de concentrações elevadas ou insuficientes de um micronutriente, por exemplo, o Ni. A análise de metano através da cromatografia gasosa, realizada por meio de amostragens no volume livre dos frascos-reatores ("headspace") tem sido um método comum nos testes de atividade metanogênica. O gás pode ser amostrado com uma seringa com trava, de modo a manter a amostra a ser injetada no cromatógrafo na mesma pressão interna do frasco-reator (DOLFING & BLOEMEN apud ARAÚJO, 1995)

Assim, como os vários trabalhos anteriormente citados foram realizados para auxiliar o processo de digestão anaeróbia, a presente pesquisa, descrita nessa Dissertação de Mestrado, procurou obter subsídios que possam esclarecer o grau de influência do metal *Ni* na eficiência do lodo granulado produzindo metano durante a metanogênese de resíduos de suínos.

O conhecimento dos aspectos fundamentais do processo biológico anaeróbio aplicado ao saneamento ambiental, e sua conseqüente otimização, é de inegável importância para a disseminação da tecnologia anaeróbia adequada a países tropicais e em desenvolvimento, como o Brasil. Portanto, a compreensão do comportamento das bactérias

responsáveis pela metanogênese, que em um primeiro momento parece consistir em uma pequena parte de um grande sistema, poderá auxiliar profundamente na qualidade operacional e no controle de biodigestores anaeróbios.

2 - OBJETIVOS

Avaliar a influência da adição de diferentes concentrações do metal pesado Níquel (0,0001 a 200,00 mg/L) na metanogênese acetoclástica de dois lodos anaeróbios granulados, através do teste para a determinação da atividade metanogênica específica, que emprega pequenos volumes de meio e analisa a produção de metano por métodos cromatográficos.

3 - REVISÃO DE LITERATURA

3.1 - METAIS PESADOS NA DIGESTÃO ANAERÓBIA

As células são compostas de inúmeras moléculas como água, íons inorgânicos e substâncias orgânicas, mas consiste, principalmente, de grandes moléculas, os polímeros celulares, como as proteínas e os ácidos nucléicos. Os nutrientes presentes no meio e utilizados pelos organismos para o seu catabolismo e anabolismo podem ser divididos em dois grupos: macronutrientes e micronutrientes, em função das quantidades requeridas pelas células. Os macronutrientes são componentes requeridos em maiores quantidades; como C, N, P, S, K, Mg, Ca, Na e Fe (BROCK & MADIGAN, 1988).

Os micronutrientes são requeridos em muito baixas concentrações, porém, podem ser fatores limitantes ao crescimento de um microrganismo. São exemplos de micronutrientes: - Co, necessário para a formação da vitamina B₁₂; - Zn, que possui importância na estrutura de muitas enzimas, como as RNA e DNA polimerases; - Mo, presente em certas enzimas chamadas de molibdoflavoproteínas, envolvidas na redução assimilatória do nitrato, e também presente na nitrogenase, uma enzima envolvida na redução do nitrogênio gasoso; - Cu, relacionado com a respiração, está envolvido com certas enzimas em que atua como um sítio para a reação com o oxigênio; - Mn, um ativador de enzimas que age em compostos contendo fosfato e em plantas verdes fotossintetizantes; - Ni, presente em enzimas chamadas hidrogenases, que atuam sobre o hidrogênio; - W e Se, requeridos pelas bactérias capazes de metabolizar formiato. O Se

está presente como parte da enzima formiato desidrogenase (BROCK & MADIGAN, 1988).

Os metais podem ser requeridos em quantidades muito pequenas (traço) para a ativação de muitas enzimas e coenzimas, e acredita-se que a toxicidade dos metais pesados, sob quantidades excessivas, seja devido a alteração na função e estrutura da enzima. Por exemplo, pela ligação com grupos tióis ou outros grupos das moléculas protéicas, ou pela substituição natural de metais nos grupos prostéticos das enzimas (VALLEE & ULMER apud HICKEY et al., 1989).

Vários trabalhos, sobre a influência dos metais pesados, mostraram a distribuição destes componentes nas águas residuárias e nos lodos anaeróbios, e também seus efeitos nos tratamentos convencionais, sendo que a digestão anaeróbia parece ser particularmente vulnerável a cargas excessivamente altas de metais pesados (HAYES & THEIS, 1976; FLETCHER & BECKETT, 1987; MacNICOL & BECKETT, 1989; TIJERO et al., 1990; KIDA et al., 1991; LIN, 1992).

HAYES & THEIS (1976) apresentaram uma revisão sobre os metais dissociados em íons (cátions), e sua ação em processos anaeróbios, como por exemplo, efeitos tóxicos, estimulatórios e antagônicos. Quanto aos efeitos tóxicos, todos os cátions podem ser tóxicos para alguns organismos, dependendo da concentração. O efeito antagônico seria a variação da toxicidade de um cátion em função da presença de outros cátions no meio. Concentrações altas de cátions podem proporcionar toxicidade, mas baixas concentrações de cátions podem apresentar efeitos estimulatórios. Por exemplo, cátions extremamente tóxicos como Hg e Pb, podem produzir um efeito estimulatório na digestão anaeróbia sob concentrações muito baixas (HOTCHKISS apud HAYES & THEIS, 1976).

Trabalhos realizados por BARTH et al. apud HAYES & THEIS (1976), sobre alimentação contendo metais pesados, contínua e descontínua, de um sistema de digestão anaeróbia de mistura completa, resultaram na remoção de metais do meio, como Zn, Cr(VI), Ni e Cu. Porém, nem os

mecanismos dessa remoção e nem as formas químicas assumidas por estes metais foram determinados. No entanto os metais Cu, Ni e Hg, apresentaram efeitos tóxicos para a digestão anaeróbia. A presença do Fe pareceu auxiliar ou retardar a digestão, dependendo de sua concentração e forma adicionada ao biodigestor.

GHOSH apud HAYES & THEIS (1976) demonstrou que alguns metais pesados, mesmo em concentrações baixas, possuem uma toxicidade relativamente alta para o sistema biológico. Mas estes mesmos metais, sob concentrações elevadas, poderão ser tolerados na presença de sulfetos, que age na precipitação dos metais.

LAWRENCE & McCARTY apud HAYES & THEIS (1976) demonstraram que quando sulfatos de cobre, zinco, níquel e ferro (em concentrações de 0,083 M e 0,167 M) eram adicionados na alimentação de biodigestores operados em escala de laboratório a 35°C, e a um tempo de retenção hidráulico de 20 dias, pouca influência ocorria na produção de gás. Mas, quando os metais eram adicionados na forma de sais de cloretos, estes provocavam redução na produção de metano. A ausência de sulfato impossibilitaria a ocorrência da formação de sulfeto, e conseqüentemente da precipitação dos metais pesados. Esta situação foi observada na mistura de metais como : Cu e Zn; Zn e Ni; Cu, Zn e Ni; e Fe e Zn. Outro composto que pôde agir na precipitação dos metais pesados foi o íon carbonato (GHOSH; GOULD & GENNETELLI apud HAYES & THEIS, 1976). Os metais pesados quando estão precipitados apresentam pouca influência para o sistema biológico anaeróbio em termos de toxicidade, pois a toxicidade dos metais irá depender de sua forma química sob condições anaeróbias, ou a pH próximo da neutralidade (HAYES & THEIS, 1976).

GOULD & GENNETELLI apud HAYES & THEIS (1976) relataram que a distribuição dos metais pesados dentro de um digestor anaeróbio estava associada aos diferentes tamanhos das partículas do lodo, encontradas em quatro frações. As frações foram de: >100µm (particulado); 0,6µm - 100µm (supracoloidal); 20Å - 0,6µm (coloidal),- < 20Å (solúvel). Estas frações foram

analisadas, e os metais pesados determinados foram Fe, Mn, Cu, Cr, Cd, Zn, Pb, Co e Ni. As frações particuladas ($>100\mu$) apresentaram o maior índice na presença destes metais, 90 %.

HAYES & THEIS (1976) concluíram que altas concentrações de metais pesados podem causar toxicidade nos digestores anaeróbios, sendo que estes metais podem assumir formas diferenciadas que se associam a determinados tamanhos de partículas. Quanto aos efeitos e a distribuição destes metais nos digestores anaeróbios, os autores muito pouco informaram. Porém suas conclusões indicaram que os efeitos dos metais pesados em digestores operados em escala de laboratório variavam muito de um estudo para outro. As variações poderiam ser decorrentes de alguns fatores, tais como: a) variação no nível de sulfeto e carbonato de um digestor para outro, influenciando a precipitação dos metais; b) variação da população bacteriana entre os digestores, influenciando a concentração dos diferentes metais traços, através dos diferentes níveis de consumo; c) diferenças em certas variáveis operacionais dos digestores, como temperatura, concentração de alimento, forma da alimentação e dosagem da concentração dos metais pesados. Portanto, estes fatores poderiam afetar a tolerância dos microrganismos nos digestores anaeróbios às concentrações dos metais traços.

HAYES & THEIS (1976) estudaram ainda os efeitos das dosagens de metais pesados (Cr(VI) e Cr(III), Cu e Ni) em digestores de laboratório, considerando os valores indicados como adequados em outros trabalhos, e examinaram o mecanismo de remoção e de distribuição geral dos metais. Os biodigestores anaeróbios foram operados com um tempo de retenção de 10 dias, a $35\pm 1^\circ\text{C}$. Os biodigestores eram continuamente agitados para permitir a mistura completa, e foram inoculados com um lodo anaeróbio de uma estação de tratamento de água residuária. A alimentação era realizada com uma mistura de lodo primário e secundário, mantidos congelados antes de serem adicionados. Após a estabilização do processo, o metal era adicionado em forma de pulso ou por etapas. Encontrou-se que a toxicidade

dos metais testados variava de um metal para outro, e uma ordem de toxicidade foi estabelecida na alimentação descontínua, em mg/L, a saber, 30 (Ni) > 70 (Cu) >> 260 (Cr(III)) \cong 420 (Cr(VI)). Esta mesma ordem foi encontrada para concentrações de metais que causavam um leve distúrbio operacional, ou inibição, que também variou de metal para metal em mg/L, igual a, 10 (Ni), 40 (Cu), 110 (Cr(III)), 130 (Cr(VI)). Quanto a remoção dos metais, estes eram consumidos pela biomassa e se associavam à membrana celular. O Cr e o Cu foram basicamente distribuídos nas frações precipitadas e intracelulares do lodo. O Ni, contudo, foi altamente solúvel no ambiente anaeróbio, apresentando a quantidade de 1 a 3% na concentração total do Ni no biodigestor. O consumo intracelular dos metais pesados aumentou durante sua adição ao sistema em digestão, até o momento em que a concentração atingiu níveis inibitórios ou tóxicos.

ASHLEY et al.(1982), apresentou que organismos produtores de ácidos no digestor apresentavam números populacionais maiores sob baixas concentrações de Ni, principalmente a 50 mg Ni/L. Alguma toxicidade foi verificada nesta população a níveis iniciais de 100, 150 e 250 mg Ni/L, mas era seguido de um aumento populacional, principalmente a 150 mg Ni/L. Parece ter havido um efeito inibitório seguido por um efeito estimulatório de crescimento, sendo que a população parece ter se adaptado ao aumento das concentrações do metal estudado. Para a concentração de 250 mg Ni/L, nenhuma recuperação foi verificada.

Quanto a produção de metano, o Ni diminuiu a produção quando comparado aos controles livres deste metal, embora uma inexplicável estimulação tenha sido verificada a 50 mg Ni/L. Verificou-se que a metanogênese era seriamente inibida a níveis de Ni dissolvido acima de 1 mg/L, conseguidos com adições superiores a 75 mg Ni/L.

A presença de ácidos graxos voláteis indicaram uma queda na performance do digestor que pode ter contribuído para o decréscimo na produção de metano pela intoxicação dos organismos metanogênicos. A metanogênese era seriamente inibida acima de 1 mg/L de Ni dissolvido,

enquanto que a toxicidade generalizada tornava-se aparente na população degradativa acima de 12 mg/L de Ni dissolvido, conseguido a partir de adições de 150 mg Ni/L, aproximadamente. ASHLEY et al.(1982) utilizou um lodo de esgoto primário sedimentado, operado a 37°C.

Em outro trabalho, PARKIN et al.(1983), utilizaram uma cultura enriquecida em acetato, desenvolvida a partir de lodo digerido de uma estação de tratamento de esgoto municipal e incluindo 10 mg/L de cisteína. O estudo foi conduzido a uma temperatura de 35°C. Neste trabalho, o Ni era adicionado como cloreto de níquel, nas concentrações de 50 a 500 mg Ni/L e as metanogênicas não estavam aclimatadas ao Ni. Os sistemas operados sob condições descontínuas de alimentação orgânica receberam progressivamente as concentrações de Ni. Altas concentrações retardaram a taxa de geração de metano e reduziram a quantidade final do gás produzido. Para os sistemas semi-contínuos, sob concentrações abaixo de 70 mg Ni/L, não era verificada diminuição na produção de gás, agora sob concentrações de 80, 90 e 100 mg Ni/L, a produção de metano era inibida, sendo que somente se manifestava após 4 dias o níquel ter sido adicionado. Após 10 dias do início da inibição, todos os sistemas se recuperaram.

No trabalho de HICKEY et al. (1989), procurou-se verificar o efeito da adição descontínua de três metais pesados (Cu, Zn e Cd) na produção dos gases hidrogênio e monóxido de carbono em biodigestores alimentados diariamente com uma mistura de resíduos de lodo ativado. Os experimentos eram realizados, geralmente, durante 24 horas, em frascos de soro, com um tempo de retenção hidráulico (TRH) de 10 e 20 dias, e a 35°C. A concentração dos metais foi estudada até atingir os valores previamente estabelecidos de 300 mg Cu/L, 900 mg Zn/L, 100 mg Cd/L. O trabalho mostrou que a toxicidade do metal na biodigestão anaeróbia estava relacionada à quantidade de sólidos no sistema. Níveis elevados de sólidos totais ou voláteis pareceram anular a inibição dos metais, através da ligação destes com alguns sítios de troca iônica encontrados nas membranas celulares e na matriz polimérica extracelular das bactérias anaeróbias. A

forma utilizada para analisar a inibição dos metais pesados, baseou-se em sua expressão em *mg* de metais tóxicos por *g* de sólidos voláteis, o que proporcionou uma maior consistência às análises dos gases hidrogênio e monóxido de carbono.

HICKEY et al.(1989) observaram também nos experimentos, que as amostras com adição descontínua do acetato, cuja população degradadora de acetato foi inibida pelos metais pesados, como é o caso daquelas que recebiam 75 mg Cu/L (15,9 mgCu/g S.S.V.), demonstraram um grau de produção de metano muito alto, quando comparado com o grau de produção das amostras intoxicadas por Cu e sem a suplementação de acetato. Porém, esta produção alta de metano era consideravelmente mais baixa do que a apresentada pelos controles, que eram somente alimentados com resíduos de lodo ativado. O aumento na produção de metano observado nas amostras inibidas e suplementadas com o acetato, deveu-se à presença desse substrato orgânico, ou à existência de uma ligação parcial não conhecida do Cu com o acetato.

Em relação as metanogênicas utilizadoras de hidrogênio, o trabalho realizado por HOBSON e SHAWN apud HICKEY et al. (1989), mostrou que a dose de 300 mg Cu/L inibiu por completo a ação da bactéria *Methanobacterium formicicum*, e que dosagens de 100 e 200 mg Cu/L causaram retardo no consumo de hidrogênio.

HICKEY et al., (1989) verificaram que outros organismos não produtores de metano dentro de um consórcio microbiano anaeróbio e envolvidos na formação dos precursores do metano, foram severamente inibidos. Isto foi observado, quando havia uma completa inibição na produção de metano, e nenhum hidrogênio foi medido, no mesmo período, dentro dos frascos. Uma alternativa para explicar esta resposta seria que os metais pesados estariam agindo como aceptores temporários de elétrons, reduzindo o nível de hidrogênio. O eventual aumento do hidrogênio ocorreria, presumivelmente, quando decrescesse o grupo destes aceptores de elétrons. Esta inibição em organismos não-metanogênicos indica que

outros organismos ou grupos tróficos dentro do consórcio anaeróbico podem ser tão severamente inibidos quanto as metanogênicas. Outra evidência, indicando a inibição de grupos não-metanogênicos, está baseada na produção dos ácidos graxos voláteis, onde mesmo quando a produção de metano diminuiu, nenhum acetato, ou qualquer outro ácido, ficou acumulado, indicando que se algum acetato foi produzido era simultaneamente consumido ou então nenhum acetato foi produzido.

Quanto a relação do monóxido de carbono e metais pesados, esta parece ser muito complexa e não é totalmente clara. A resposta sugere uma relação entre inibição da produção de metano com a resposta do monóxido de carbono, pois, amostras em que a produção de metano era inibida em 20% ou mais, em comparação ao controle, geralmente ocorria um gradual aumento no monóxido de carbono. A concentração do gás monóxido de carbono em biodigestores não inibidos, tem mostrado ser dependente dos níveis de acetato, hidrogênio, metano e dióxido de carbono. Encontrou-se que a adição descontínua de Cu, a um sistema contínuo, causava uma queda na concentração de hidrogênio em relação à operação normal e que as concentrações de monóxido de carbono aumentavam rapidamente, no mesmo período de tempo de operação. Nesse estudo, o Cu foi adicionado em pulso, como cloreto de cobre (CuCl_2) aos sólidos utilizados como alimentação (HICKEY apud HICKEY et al., 1989).

MacNICOL & BECKETT (1989) apresentaram dados em que a fração particulada de 2% do peso total de um lodo, continha concentrações elevadas de metais, principalmente como precipitados de sulfeto de ferro. Precipitados similares parecem ser as formas principais de combinação de Cu, Zn, Pb e Cd no bioflocos (formado principalmente por bactérias floculadas e fragmentos orgânicos). Quanto ao Ni, não ficou claro como este metal esteve associado ao bioflocos. Os autores apresentaram dados em que o lodo contendo proporções adequadas de S e P, os metais traços, Cu, Zn, Pb e Cd, iriam formar precipitados, com exceção do Ni; e somente frações muito pequenas dos metais iriam permanecer nos sítios ligantes do bioflocos.

Em um trabalho de TAKASHIMA & SPEECE (1989), buscou-se verificar a resposta de uma cultura enriquecida com ácido acético em relação a concentrações mínimas de oito nutrientes inorgânicos minerais (concentrações em mg/L do volume do reator.dia), N (100), P (4), S (10), Ca (5), Mg (1), Fe (1), Co (0,1) e Ni (0,2). Estes nutrientes eram requeridos para suportar uma alta taxa de utilização de acetato para metanogênese, de 30 a 40 g / L.d, e um tempo de retenção de sólidos de 5 dias. Os autores, nos estágios iniciais do estudo, suplementaram diretamente o reator, em que predominava o gênero *Methanothrix sp*, com Fe e Ni solúveis, em vez de pré misturá-los ao meio, evitando-se com isso precipitação dos metais. O resultado foi verificado após um mês de operação, e as culturas enriquecidas pertencentes inicialmente ao gênero *Methanothrix sp* foram substituídas pelo gênero *Methanosarcina sp*. A partir disso, todos os outros reatores deste estudo foram inoculados com a cultura de *Methanosarcina sp*, afim de reduzir o tempo requerido para atingir o regime do sistema.

TIJERO et al. (1990) realizaram um trabalho em que foram avaliadas as concentrações de três metais pesados, Cu, Ni e Zn dentro do processo anaeróbico, e verificou-se a porcentagem do metal retido pelo lodo. Quando o cobre foi testado, a sua retenção no lodo foi muito alta, entre 96 - 98%, onde aumentava conforme sua concentração no efluente também aumentava. Um aumento na concentração de Ni no efluente produzia uma diminuição no metal associado com o efluente sólido, como quando a concentração de 5 mg Ni/L apresentava 92% de Ni associado ao efluente sólido. Quando passou a 30 mg Ni/L, o Ni associado baixou para 81%. Os resultados observados para o Zn foi a observação de uma concentração muito baixa no afluente, resultando em uma grande retenção do metal no lodo, de 92% (TIJERO et al, 1990). HAYES & THEIS (1976) apresentaram um trabalho com resultados parecidos em relação ao metal retido e à toxicidade para o sistema.

KIDA et al. (1991), com o intuito de melhorar o desempenho dos processos anaeróbios de tratamento em relação as águas residuárias de alta carga orgânica oriundas de indústrias de cerveja no Japão, realizaram um trabalho com o processo de produção de metano em um reator de leito fluidificado anaeróbio termofílico. A este reator foram adicionados Ni, Co e Fe e a água residuária, e encontraram a influência destes elementos na eficiência da remoção do carbono orgânico total (COT), observando o efluente deste processo de tratamento. Quando atingiu-se a estabilidade do sistema na presença dos metais, estes passaram a ser omitidos. Inicialmente, com a omissão do Fe, nenhuma mudança foi observada no reator. Posteriormente, a interrupção na adição do Ni e do Co, provocou uma alteração no sistema, em que a concentração dos ácidos graxos voláteis aumentou e a eficiência de remoção do COT diminuiu. Verificou-se que após a adição do Ni e do Co ao reator, ambos eram consumidos durante o tratamento, e que complexos enzima-metal, como F_{430} , eram ativados no caminho da conversão do acetato a metano (NAGAI & NISHIO apud KIDA et al., 1991), assim como na redução de dióxido de carbono a metano (ROUVIERE & WOLFE apud KIDA et al, 1991). Concluiu-se que estes complexos enzima-metal eram ativados pela adição destes micronutrientes, acelerando a produção de metano. Com isso, os autores consideraram viáveis a utilização do tratamento mediante somente a adição de nutrientes como Ni e Co.

LIN (1992) avaliou os metais pesados na digestão anaeróbia pela degradação dos ácidos graxos voláteis, reafirmando que a inibição da produção de metano não é necessariamente sinônimo de inibição da metanogênese bacteriana. Neste estudo, os metais pesados em questão foram o Cr, o Ni, o Zn, o Cu, o Pb e o Cd. Foram utilizados três indicadores para se observar uma possível toxicidade no processo de digestão: produção de gás total, produção de metano e degradação dos ácidos graxos voláteis. A temperatura era mantida a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ e o pH permaneceu na faixa de 6,9 a 7,4. Como fonte de carbono, o ácido acético

20.000 mgDQO/L, era fornecido ao lodo, previamente adaptado a este ácido. Observou-se que a toxicidade relativa dos metais pesados e suas concentrações (em mg/L) na degradação do ácido acético foram, em ordem crescente igual a Cd (7,7) > Cu (12,5) > Cr (14,7) > Zn (16) > Pb (67,2) > Ni (>400). Então o Cd e o Cu eram os mais tóxicos, e o Pb e o Ni, os menos tóxicos.

No trabalho de MUELLER & STEINER (1992) foram utilizados reatores de 1.3L, digestores de mistura completa operados com um tempo de retenção de 10 dias, a 35°C. Com a adição de 300 mg Ni/L, a taxa de produção de gás decresceu, e após 14 dias de adaptação, o lodo fermentado continha 245 mg Ni/L e a produção de metano cessou completamente, e através de exames microscópicos, foram constatadas que as bactérias produtoras de metano foram severamente inibidas.

Ao mesmo tempo, outros fermentadores eram submetidos a cargas de choque, passando de 6 mg Ni/L para 300, 150 e 75 mg Ni/L, por digestor. Para a carga de choque de 300 mg Ni/L, o fermentador parou de produzir metano e não se recuperou. Quanto as cargas de choque de 150 e 75 mg Ni/L, a taxa de produção de gás reduziu por um período curto de tempo, pois a inibição foi reversível.

MUELLER & STEINER (1992) consideraram que a toxicidade dos metais pesados depende das concentrações dos metais na forma solúvel, iônica e não simplesmente na concentração total do metal no digestor juntamente com o tempo exposto, como defendia PARKIN et al.(1983). Dos metais testados pelos autores (Ni, Cu, Cd, Cr e Pb), o Ni apresentou o efeito mais dramático na digestão anaeróbia, onde sob a concentração de 250 e 300 mg Ni/L, a produção de metano parou por completo e não ocorreu nenhuma recuperação. Isto foi observado para adições contínuas de Ni, onde o alimento diário do lodo continha 300 mg Ni/L.

LIN (1993) realizou outro trabalho com a intenção de verificar os efeitos dos metais na acidogênese da digestão anaeróbia, em que o lodo utilizado era previamente adaptado a glicose. Geralmente, as bactérias

responsáveis pela acidogênese são menos sensíveis às condições ambientais e concentrações tóxicas do que as metanogênicas. Neste trabalho, o autor (LIN, 1993) procurou estudar os efeitos dos metais pesados individualmente na produção dos ácidos graxos voláteis. Neste caso, como o substrato utilizado era a glicose (20.000 mg DQO/L), e os ácidos acético e n-butírico foram os principais produtos desta acidogênese, os efeitos foram observados através destes dois ácidos. Quanto a velocidade de produção destes ácidos, cada metal pesado agiu diferentemente. Com exceção do Cd e do Ni, a produção do ácido acético geralmente diminuía com o aumento da dose dos metais. Concentrações de ≤ 300 mg Ni/L aumentaram a produção do ácido acético. Apesar do Ni ser um componente do fator F_{430} , específico às metanogênicas, as acetogênicas também o utilizam para o seu crescimento celular (THAUER apud LIN, 1993). Como resultado final, em relação a todos os metais pesados estudados, a toxicidade relativa para a produção do ácido acético e do ácido n-butírico e suas concentrações (em mg/L) foram, respectivamente, Cu (1,8)>Zn (4,2)>Cr (20)>Cd (30) >Ni (600)>Pb (920) e Cu (0,7)>Zn (3,4)>Cr (14,5)>Cd (18)>Ni (100)>Pb (930). Quando o Ni foi misturado a outros metais, como na mistura de 1 mg Cu/L e 100 mg Ni/L, alguns efeitos foram observados na produção dos ácidos graxos voláteis, como a existência de antagonismo na produção do ácido acético, e de sinergismo na produção do ácido n-butírico. Quando a mistura foi de 5 mg Zn/L e 100 mg Ni/L, observou-se um pequeno sinergismo para ambas as produções dos ácidos.

SPEECE (1994) apresentou uma revisão sobre resultados do papel de alguns nutrientes dentro do processo de tratamento anaeróbio, como N, P, S, Na, K, Ca, Mg, Fe, Ni, Co, Zn, Se, Mo, W, Cu e Mn. McCARTY apud SPEECE (1994) realizou um experimento em 1959 sobre a influência do metal traço Fe no aumento da produção de gás metano, sendo um trabalho pioneiro sobre a importância dos metais pesados. A partir disto, tentou-se definir os "fatores de crescimento" que viessem a fornecer as condições

físicas e os metais traços específicos requeridos para se obter as mesmas altas produções de gás metano apresentadas por McCARTY apud SPEECE (1994). SPEECE (1994), fez uma breve apresentação de três significantes resultados encontrados, sendo: 1) observou-se o requerimento obrigatório das metanogênicas pelo Ni como o trabalho de WHITMAN & WOLFE apud SPEECE (1994), que encontraram no fator F_{430} , exclusivo das metanogênicas, quantidades significativas deste metal. Resultados semelhantes foram observados por DICKERT et al. (a) apud SPEECE (1994) os quais concluíram que a pouca importância inicial dada ao elemento Ni para a digestão anaeróbia, poderia ser explicada pela sua alta contaminação no meio; 2) encontrou-se que os metais traços Fe, Co e Ni, quando pré-misturados com os componentes que formavam o meio, influenciavam as taxas de utilização do acetato, decrescendo-as, e mantendo-as na ordem de 4 a 8 g/L.d, com 20 dias no tempo de retenção de sólidos, isto devido talvez à precipitação destes metais. Estes resultados eram bem diferentes quando estes metais eram injetados diretamente nos reatores como sais de cloreto, e a utilização do acetato era maior, 40 g/L.d, com 5 dias no tempo de retenção de sólidos. Na presença de Fe e Ni, na proporção de 10:1 (1 mg Fe/L : 0,1 mg Ni/L), injetados diretamente no reator, ocorreu aumento na utilização de acetato; 3) o estudo da cinética bacteriana dos gêneros *Methanotherix sp* e *Methanosarcina sp* em relação a utilização do acetato, revelou que o gênero *Methanotherix sp* predomina sobre o gênero *Methanosarcina sp* até a concentração de acetato de 75 mg/L, quando então, a *Methanosarcina sp* passa a prevalecer. Para a *Methanosarcina sp*, a presença dos metais traços Fe, Co e Ni, é um fator importante, pois estes metais, pré-misturados com o alimento do digestor, promovem o crescimento do gênero *Methanotherix sp*, mas os mesmos metais adicionados como sais de cloreto diretamente no reator, com a concentração de acetato de 75 mg/L, permitem que o gênero *Methanosarcina sp* predomine sobre a *Methanotherix sp*.

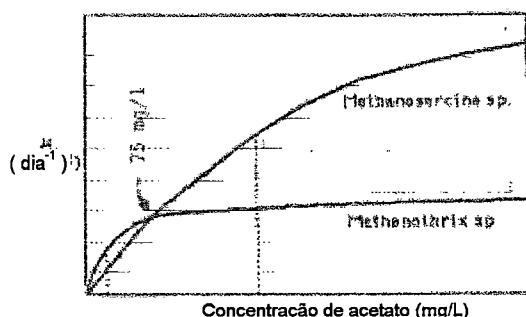


FIGURA 01 - Crescimento em acetato de culturas mesofílicas cultivadas em sistemas descontínuos - *Methanosarcina sp* e *Methanotherix sp* (SPEECE, 1994).

Em outros trabalhos, como o de HOBAN & VAN DER BERG apud SPEECE (1994), relatou-se que a adição de Fe em uma cultura metanogênica utilizadora de ácido acético, aumentava a conversão deste ácido a metano. Concluiu-se que a otimização desta conversão requer altas concentrações de Fe solúvel, as quais são muitas vezes mais altas do que aquelas freqüentemente requeridas para os crescimentos e atividades máximas em culturas microbianas (JACK et al.; LANKFORD; PATEL et al. apud SPEECE, 1994). Algumas das dificuldades que ocorrem com freqüência no processo de biodigestão anaeróbia, segundo os autores HOBAN & VAN DER BERG apud SPEECE (1994) pode ser devido as variações na quantidade de Fe solúvel. STREICHER et al. apud SPEECE (1994) trabalhando com tratamento anaeróbio de soro de leite em leitos fluidificados, acrescentaram uma mistura de Fe, Co e Ni e extrato de levedura, e obtiveram um aumento considerável na produção do gás metano. SPEECE et al. apud SPEECE (1994) observaram uma ação conjunta entre o Ni e o extrato de levedura, em que a ausência do metal e a presença de extrato de levedura, resultou na variação da taxa de utilização do acetato entre 2 a 4 g/L.dia, não excedendo 4,6 g/L.dia. O Ni, sem o extrato de levedura, provocou aumento na taxa de utilização de acetato para 10 g/L.dia. Quando ambos foram adicionados às células, as taxas foram de 12 a 15 g/L.dia. MOUNTFORD & ASHER; RONNOW & GUNNARSSON apud SPEECE (1994) apresentaram que o crescimento das metanogênicas na presença de sulfeto foi possível nas concentrações de 10 a 27mg S/L.

Entretanto o sulfeto precipitava os íons de metais essenciais, como o Ni, o Fe e Co (TAYLOR & PIRT; WINFREY & ZEIKUS apud SPEECE (1994)).

JONES & STADTMAN; SCHONHEIT et al; SPEECE & McCARTY; TAYLOR & PIRT e SCHERER & SAHM apud SPEECE (1994) demonstraram que os metais Fe, Co, Mo, Se e W, têm sido estimulatórios para as bactérias metanogênicas.

SPEECE (1994) apresentou a ação de vários elementos associados as suas funções (Tabela 01). Na Tabela 02 temos as concentrações ótimas e estimulatórias para determinadas metanogênicas, juntamente com o substrato utilizado. SPEECE (1994) apresentou também uma lista parcial dos efeitos estimulatórios de inorgânicos relatados em culturas enriquecidas de acetato e digestores anaeróbios (Tabela 03).

SPEECE (1996) reafirmou a importância dos metais traços dentro dos sistemas de digestão anaeróbia. O autor relacionou a concentração de ácidos graxos voláteis e a produção de metano com a eficiência dos reatores, e demonstrou que tanto a eficiência nutricional quanto a toxicidade de metais traços apresentaram respostas idênticas dentro do reator, ou seja, reduzindo as taxas de produção de gases e elevando as concentrações de ácidos voláteis. No entanto, o autor confirmou a importância de três metais, Fe, Ni e Co, que estão diretamente ligados a um desempenho satisfatório dentro dos reatores anaeróbios. SPEECE (1996) apresenta vários exemplos de resíduos utilizados em reatores, nos quais os metais foram associados com o seu desempenho, dentre eles tem-se: lodo municipal, cervejaria, resíduos de aves, etc. Em relação ao trabalho que está sendo apresentado, outro tipo de resíduo foi utilizado e será discutido posteriormente a influência que o metal traço Ni pode ter ocasionado a este tipo de resíduo.

TABELA 01 - Funções fisiológicas dos minerais às bactérias metanogênicas.

Elementos	Função
N (Nitrogênio)	Presente em MFR, H ₄ MPT, Fator III, F ₄₂₀ -F ₄₃₀ , componente B. Requerida para atividade da enzima PEP sintetase e necessário para a estabilidade da membrana.
P (Fósforo)	Presente na H ₄ MPT, Fator III, F ₄₂₀ , componente B, cíclico 2,3-difosfoglicerato, formiato dehidrogenase.
S (Enxofre)	Presente na CoM, componente B, hidrogenase, CO dehidrogenase, formiato, dehidrogenase e requerida para atividade da enzima PEP sintetase.
Na (Sódio)	Conservação de energia e transporte de nutrientes.
K (Potássio)	Conservação de energia e transporte de nutrientes e requerido para atividade da enzima PEP sintetase.
Ca (Cálcio)	Requerido para estabilidade da metiltransferase e agregação bacteriana.
Mg (Magnésio)	Requerido para estabilidade da metiltransferase, estímulo a metila-CoM redutase, metenila-H ₄ MPT ciclihidrolase
Fe (Ferro)	Requerido para atividade da enzima ATPase, PEP carboxilase presente no citocromo e ferredoxina, e nas enzimas hidrogenase, CO dehidrogenase, formiato dehidrogenase, superóxido dismutase.
Ni (Níquel)	Presente no F ₄₃₀ , e nas enzimas hidrogenase, CO dehidrogenase, e necessário para a estabilidade da membrana.
Co (Cobalto)	Presente nos corrinóides e na enzima CO dehidrogenase.
Zn (Zinco)	Presente nas enzimas hidrogenase, formiato dehidrogenase, CO dehidrogenase, superóxido dismutase
Se (Selênio)	Presente nas enzimas hidrogenase, formiato dehidrogenase e no RNA ^t
Mo (Molibdênio)	Presente na enzima formiato dehidrogenase
W (Tungstênio)	Presente na enzima formiato dehidrogenase
Cu (Cobre)	Presente na enzima hidrogenase
Mn (Manganês)	Presente na enzima superóxido dismutase e requerido para estabilidade da metiltransferase, e substitui o Mg nas enzimas ATPase e PEP sintetase.

Fonte: SPEECE (1994).

TABELA 02 - Concentrações ótimas ou estimulatórias de compostos inorgânicos nas culturas de bactérias metanogênicas, cultivadas em sistemas descontínuos.

Nutrientes	Concentrações ótimas ou estimulatórias (mg/L)	Organismo (Substrato)
NH ₃ -N	> 42 ótimas 70 ótimas >28 ótimas 320. estimulatórias 655 estimulatórias Ks: 2,7 Ks: 6,2	<i>Mbr. smithii</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mc. voltae</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Ms. thermophila</i> (metanol ou acetato) <i>Mb. thermoautotrophicum</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mb. bryantii</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mb. thermoautotrophicum</i> (H ₂ /CO ₂) MT1 (H ₂ /CO ₂)
PO ₄ -P	Ks:0,155	<i>Mb. thermoautotrophicum</i> (H ₂ /CO ₂)
S	0,32 - 3,2 ótimas 40 ótimas 80 - 128 ótimas (1,3-1,9 solúvel) 32 - 96 ótimas 46 ótimas 13.000 ótimas	<i>Mbr. arboriphilus</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Ms. barkeri</i> (metanol) <i>Ms. barkeri</i> (metanol) <i>Mc. jannaschii</i> (H ₂ /CO ₂) TAM (acetato) <i>Mc. voltae</i> e <i>Mc. maripaludis</i> (H ₂ /CO ₂)
SO ₄ -S	5,1 - 16,6 ótimas	<i>Mb. strain M.o.H.</i> e <i>Msp. hungatii</i> (H ₂ /CO ₂)
HCO ₃ ⁻	108 ótimas	<i>Mtx. concilii</i> (acetato)
HCO ₃ ⁻ -CO ₂	360:30% ótimas	<i>Ms. thermophila</i> (metanol)
Na	Ks: 25 Ks: 23 Ks: 14 Ks: 9 Ks: 12 Ks: 25 Ks: 25 Ks: 23	<i>Mb. thermoautotrophicum</i> strain Marburg (H ₂ /CO ₂) <i>Mb. thermoautotrophicum</i> strain _H (H ₂ /CO ₂) <i>Mb. bryantii</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mb. arboriphilus</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Msp. hungatii</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Ms. barkeri</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Ms. barkeri</i> (metanol) <i>Ms. barkeri</i> (acetato)
Ca	40 ótimas > 0,54 ótimas	<i>Mc. voltae</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Ms. thermophila</i> (metanol)
Mg	2.000 ótimas 360 ótimas 1.200 ótimas 1.200 ótimas 360 ótimas 4.800 ótimas	<i>Mc. voltae</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mc. maripaludis</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Ms. acetivorans</i> (trimetilamina) <i>Mcc. methylutens</i> (trimetilamina) <i>Mg. strain CV</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mc. deltae</i> (H ₂ /CO ₂ ou formiato)
Fe	16,8 - 50,4 ótimas >0,28 ótimas 0,56 ótimas >0,28 ótimas 1,8 estimulatórias	<i>Mb. strain M.o.H.</i> e <i>Msp. hungatii</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mb. thermoautotrophicum</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mc. voltae</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mcc. methylutens</i> (trimetilamina) <i>Mb. thermoautotrophicum</i> (H ₂ /CO ₂)

Continuação

TABELA 02 - Concentrações ótimas ou estimulatórias de inorgânicos nas culturas em batelada das metanogênicas.

Ni	0,059 ótimas 0,012 ótimas 5 ótimas 1 ótimas > 0,015 ótimas 0,0059 estimulatórias 0,059 estimulatórias 0,295 estimulatórias (0,059 solúvel ótimas) 0,82 estimulatórias	<i>Mb. thermoautotrophicum</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mc. voltae</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mb. thermoautotrophicum</i> (H ₂ /CO ₂) TAM (acetato) <i>Mcc. methylutens</i> (trimetilamina) <i>Ms. barkeri</i> (metanol) <i>Mb. smithii</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mb. bryantii</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mb. thermoacaliphilum</i>
Co	> 0,00059 ótimas 0,059 ótimas 0,0059 ótimas 0,12 estimulatórias	<i>Mb. thermoautotrophicum</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Ms. barkeri</i> (metanol) <i>Mcc. methylutens</i> (trimetilamina) <i>Mc. voltae</i> (H ₂ /CO ₂)
Se	0,079 estimulatórias 0,079 estimulatórias 0,79 estimulatórias 0,79 estimulatórias	<i>Mc. vanniellii</i> (formiato) <i>Ms. barkeri</i> (metanol) <i>Mc. voltae</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mc. maripaludis</i>
W	1,4 - 2,1 ótimas > 0,018 ótimas 0,018 ótimas 0,18 ótimas 0,09 ótimas 18,3 estimulatórias	<i>Mb. wolfei</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mtp. endosymbiosus</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mg. strain CV</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mcp. paruvum</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Mcp. paruvum</i> (formiato) <i>Mc. vanniellii</i> (formiato)
Mo	> 0,00096 ótimas 0,048 ótimas	<i>Mb. thermoautotrophicum</i> (H ₂ /CO ₂) <i>Ms. barkeri</i> (metanol)

Fonte: SPEECE (1994)

TABELA 03 - Lista parcial que mostra os efeitos estimulatórios dos compostos inorgânicos em culturas enriquecidas com acetato em biodigestores anaeróbios.

Substrato	Sistema	Nutrientes e suas concentrações (mg/L)
Acetato	Descontínuo	300-600 Fe (12-120 Fe solúvel)
Acetato	Descontínuo	6 Ni, 3 Co, 4,8 Mo
Acetato	Descontínuo e contínuo	> 19 SO ₄ -S
Acetato	Contínuo	Aproximadamente 230 Na, 390 K, 200 Ca, 120 Mg
Acetato	Contínuo	70 Fe, 2,5 Ni, 2,5 Co*
Acetato	Contínuo	17 Fe, 9 Co
Soro (leite)	Contínuo (leito expendido)	0,15 Fe, 1,3 Ni, 0,0074 Co no alimento
Resíduos de aves domésticas	Descontínuo	0,6-6 Ni
Fábrica de queijos	Contínuo (filme fixo)	7,4 Ni no alimento

Fonte: SPEECE (1994).

* Suplementação de ácido acético com nutrientes minerais.

3.1.1 - A IMPORTÂNCIA DO ÍON NÍQUEL PARA O METABOLISMO BACTERIANO METANOGÊNICO

Em relação ao processo anaeróbio, o metano é o principal composto orgânico reduzido, sendo que a sua formação está relacionada com o passo final da cadeia alimentar anaeróbia, em que as bactérias responsáveis diretamente por esta formação são denominadas de metanogênicas, as quais fazem parte do Reino Archaeobacteria.

Os reinos Archaeobacteria e Eubacteria compreendem os organismos procarióticos, e juntamente com o reino Eucarionte completam a organização dos seres vivos (WOESE et al. apud VAZOLLER, 1989).

A análise das seqüências do ácido nucléico (RNAr) foram a base da revolução no esquema organizacional de classificação taxonômica dos microrganismos no mundo. O Reino Archaeobacteria é um grupo filogeneticamente relacionado ao reino Eubacteria (bactérias verdadeiras), mas que diferem substancialmente destas nos aspectos estruturais, metabólicos e nutricionais, e revelam uma condição histórica importante nos estudos evolucionários dos organismos terrestres. As arqueobactérias consistem de três grupos bacterianos: - bactérias metanogênicas; - bactérias halófilas extremas; - bactérias termófilas extremas, que utilizam o enxofre. Recentemente, o Reino Archaeobacteria foi subdividido em Crenarchaeota e Euryarchaeota (MADIGAN et al., 1997).

As metanogênicas apresentam características únicas quanto aos aspectos químicos e estruturais, que as distinguem das Eubacterias, tais como: - possuem um único caminho para seu metabolismo energético, via produção de metano; - sintetizam várias enzimas específicas ao seu metabolismo energético; - apresentam características de parede e

membrana celulares distintas particularmente quanto as moléculas lipídicas;
-ausência de seqüências típicas de RNAt.

As metanogênicas são únicas dentro do Reino Archaeobacteria, por não serem restritas a ambientes "extremos" de alta salinidade ou alta temperatura, como as halófilas e termófilas extremas, respectivamente. Em geral, as metanogênicas são numerosas em habitats moderados e extremos, com diferentes temperaturas, salinidades e pH (JONES apud VAZOLLER, 1995).

MADIGAN et al. (1997) apresentaram a seguinte classificação taxonômica para as metanobactérias:

Archaeobacteria

Grupo 1 - Archaeobacteria metanogênica

Ordem I - Methanobacteriales

Família I - Methanobacteriaceae

Gênero I - *Methanobacterium*

Gênero II - *Methanobrevibacter*

Família II - Methanothermaceae

Gênero - *Methanothermus*

Ordem II - Methanococcales

Família - Methanococcaceae

Gênero - *Methanococcus*

Ordem III - Methanomicrobiales

Família I - Methanomicrobiaceae

Gênero I - *Methanomicrobium*

Gênero II - *Methanogenium*

Gênero III - *Methanospirillum*

Família II - Methanosarcinaceae

Gênero I - *Methanosarcina*

Gênero II - *Methanococcoides*

Gênero III - *Methanolobus*

Gênero IV - *Methanotherix*

Outros Grupos

Família - Methanoplanaceae

Gênero - *Methanoplanus*

Outros

Gênero - *Methanosphaera*

Como as metanogênicas são anaeróbias estritas, extremamente sensíveis ao oxigênio, tem-se um grande cuidado com a manipulação destas bactérias, principalmente em trabalhos com culturas puras, em que

técnicas apropriadas são adotadas, como as descritas por HUNGATE (1969); BRYANT (1972); MILLER & WOLIN (1974); BALCH et al. (1979).

Nos ambientes anaeróbios, as metanogênicas agem no passo final da digestão anaeróbia da matéria orgânica, e portanto utilizam como substratos compostos orgânicos simples, como compostos C_1 e/ou acetato, como único composto C_2 . Assim, as metanogênicas podem ser divididas em dois grupos nutricionais, sendo um constituído pelas bactérias obrigatoriamente quimiolitotróficas, que se desenvolvem em hidrogênio e dióxido de carbono, produzindo metano e água; e o segundo grupo nutricional, compreende as metanogênicas metilotróficas que crescem em substratos contendo o grupo metila, como metanol, metilaminas e acetato (GOTTSCHALK, 1988). O primeiro grupo nutricional não apresenta citocromos, sendo estes encontrados no segundo grupo.

Quanto à presença de coenzimas nas metanogênicas, as duas enzimas específicas descobertas inicialmente foram a coenzima M e a coenzima F_{420} . A coenzima M é um composto simples, em que o grupo reativo é o grupo mercapto, que pode ser metilado, originando a metilcoenzima M, precursora final do metano. A coenzima F_{420} é uma deazaflavina, e apresenta um papel análogo ao da ferredoxina, ou seja, possui funções como aceptor de elétrons resultantes da atividade de hidrogenases, ou como doador de elétrons em algumas reações de redução.

Outra coenzima descoberta nas metanogênicas é a coenzima F_{430} , que está envolvida no passo final da formação do metano. Esta coenzima possui uma estrutura tetrapirrólica, com o elemento Ni sendo o íon metal central da molécula (Figura 02). Além da coenzima F_{430} , o Ni também pode ser encontrado nas enzimas hidrogenase e monóxido de carbono desidrogenase (GOTTSCHALK, 1988).

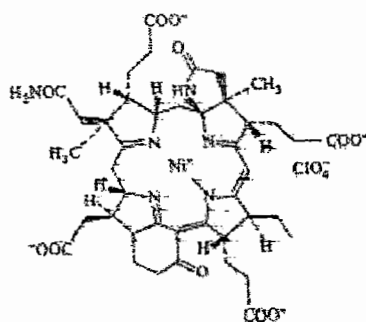
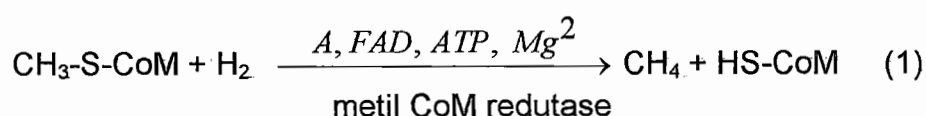
Fator F₄₃₀

FIGURA 02 -Fator F₄₃₀ presente nas bactérias metanogênicas (GOTTSCHALK, 1988).

Na revisão realizada por ELLEFSON & WHITMAN (1983) foram apresentadas duas aplicações relevantes para as metanogênicas em processos biológicos: a decomposição anaeróbia de resíduos, e a conversão de matéria orgânica em combustível.

ELLEFSON & WHITMAN (1983) estudaram a síntese do metano em células de *Methanobacterium thermoautotrophicum*, em que no passo terminal ocorre a redução do ácido 2-metiltioetanosulfônico (CH₃-S-CoM) para formar o metano e liberar o ácido 2-mercaptoetanosulfônico (HS-CoM), equação (1) abaixo. VOGELS et al. apud VAZOLLER (1995), para ilustrarem a última etapa da metanogênese, revelaram que a CoM ligada ao grupo metila e na presença de hidrogênio, necessitava de uma hidrogenase (componente A) para a formação de metano, além de uma flavina (FAD), moléculas de ATP e Mg⁺², e da enzima metil CoM redutase. Além da CoM, corrinóides como a vitamina B₁₂, e vitaminas como biotina, ácido fólico, tiamina e ácido pantotênico, também estavam envolvidos com a transferência de moléculas de carbono, tanto na redução do dióxido de carbono a metano, como na síntese de determinados componentes celulares. Os mesmos autores (ELLEFSON & WHITMAN, 1983), observaram que a metilredutase era amplamente distribuída entre as metanogênicas, sendo, portanto, coerente a idéia de que a metilredutase era o componente principal do sistema de síntese do metano *in vivo*, como pode ser visto em (1), VOGELS apud VAZOLLER (1995)

A constatação da presença do Fator F_{430} na metilredutase inativa, revelou que a quantidade de níquel em relação a esta enzima apresentava uma proporção, em moles, de 2:1, e que a proporção da quantidade de F_{430} para a enzima era de 1,5:1. A dificuldade de separar a F_{430} da proteína ativa, dificultou a obtenção de evidências do papel desse cofator na catálise, sugerido pelas quantidades estequiométricas apresentadas acima.



ELLEFSON & WHITMAN (1983) também observaram que nas espécies *Methanobacterium thermoautotrophicum* e *Methanobacterium bryantii* não foram detectados citocromos como os encontrados na espécie *Methanosarcina barkeri*. É provável que o F_{430} possa atuar como um substituto aos citocromos no sistema de transporte de elétrons da bactéria metanogênica, e também, alternativamente, o F_{430} pode atuar como um carregador do grupo metila durante a ativação do dióxido de carbono. O F_{430} pode ainda possuir alguma função completamente desconhecida para a atividade da enzima metilredutase.

A Figura 03 apresenta um esquema geral das etapas envolvidas na produção de metano a partir do dióxido de carbono, hidrogênio, acetato, metanol e formiato. O passo inicial da metanogênese hidrogenotrófica é a ativação do dióxido de carbono e sua redução ao nível de formila, que requer certa quantidade de ATP para a adição dos equivalentes redutores, e está coordenado com a etapa final da metanogênese bacteriana. O hidrogênio é que irá fornecer os elétrons necessários para as reações de redução, via a atividade enzimática de uma hidrogenase. O formiato é outro doador de elétrons. O grupo formila formado nestas condições é ligado a uma coenzima metanogênica, o metanofurano, que será transferido para a molécula tetrahidrometanopterin (H₄MPT). O grupo formila é desidratado para a metenila-H₄MPT, o qual é reduzido para metileno-H₄MPT e metila-

H_4MPT . No passo final da metanogênese bacteriana, o grupo metila- H_4MPT é transferido pela enzima metiltransferase à coenzima M (CoM), específica às metanobactérias. A CoM transporta moléculas de um carbono, para serem posteriormente reduzidas a metano por um complexo enzimático denominado metila-S-CoM metilredutase. O complexo compreende quatro componentes protéicos e três enzimas específicas às metanogênicas, entre elas a CoM. A redução final que resulta na formação de metano, como já referido, está acoplada a redução de um nova molécula de dióxido de carbono (JONES apud VAZOLLER, 1995).

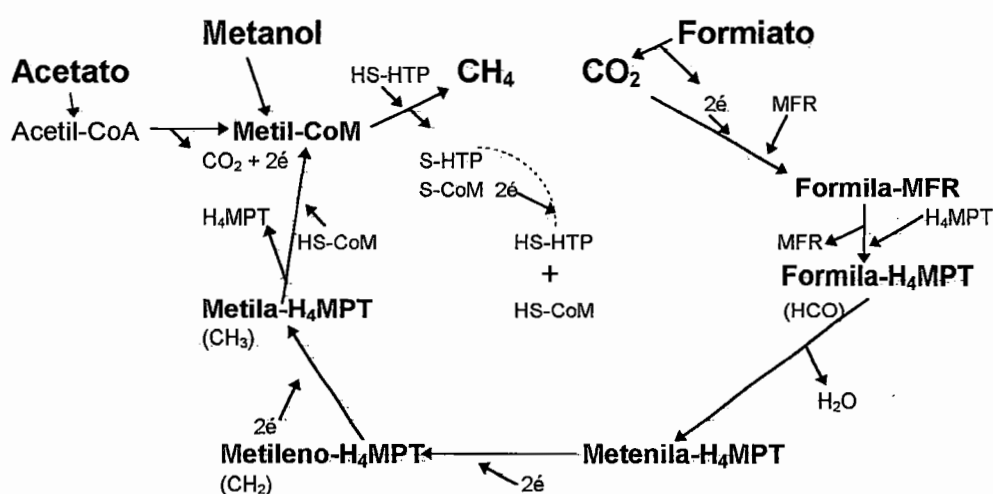


FIGURA 03 -Esquema geral das etapas envolvidas na produção de metano a partir do dióxido de carbono, hidrogênio, acetato, metanol e formiato, sendo: MFR = metanofurano; H_4MPT = tetraidrometanopterin; $HS-HTP$ = 7-mercaptopheptanoiltreonina fosfato (JONES apud VAZOLLER, 1995).

3.1.2 - DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE METANOGÊNICA DE UM LODO ANAERÓBIO.

Conforme apresentado anteriormente, aproximadamente 70% da produção total de metano tem origem na degradação anaeróbia do acetato, que é realizada pelas bactérias metanogênicas acetotróficas, nos processos de digestão anaeróbia. O restante do metano produzido é oriundo da utilização do hidrogênio e do dióxido de carbono pelas bactérias metanogênicas hidrogenotróficas (FORESTI, 1994). Portanto, o comportamento do grupo das bactérias metanogênicas está diretamente associado ao desempenho do processo anaeróbio, ou seja, a eficiência dos digestores anaeróbios está intimamente ligada a produção de metano pelas metanogênicas. Além disso, a eficiência depende do projeto do reator, das condições físico-químicas e nutricionais do meio. Para se observar o comportamento das bactérias metanogênicas, um monitoramento dos biodigestores anaeróbios deve ser realizado. A determinação da atividade metanogênica específica é uma importante análise para o monitoramento da qualidade do lodo anaeróbio em biodigestores. Através da utilização deste método, pode-se determinar cargas orgânicas adequadas para se realizar uma partida rápida e eficiente de um reator, pois é verificada a capacidade do lodo em converter determinados substratos a metano e dióxido de carbono. A determinação da atividade metanogênica permite também realizar análises de rotina, para detectar algum tipo de inibição dentro do reator e identificar algumas populações bacterianas atuantes no lodo (ARAÚJO, 1995).

No passado, a partida e a operação dos biodigestores anaeróbios estavam voltados para a taxa de carregamento do projeto, sendo expressa

em termos de volume do reator, sem se preocupar com a qualidade, a quantidade, e o tipo de lodo ou da biomassa ativa dentro do reator durante a operação (REYNOLDS apud COLLERAN, 1991). Mais recentemente, o cuidado com o inóculo dos biodigestores tem sido maior, e outros métodos têm sido utilizados para avaliar a qualidade do lodo. A quantificação da biomassa, realizada através da medição dos sólidos suspensos voláteis (SSV) ou sólidos suspensos totais (SST) foi colocada em questão (COLLERAN, 1991), uma vez que esta medida não distingue o teor entre a biomassa microbiana ativa e aquele encontrado em outro material orgânico, presente no reator, e portanto, não expressa o real potencial da biomassa microbiana (REYNOLDS apud COLLERAN, 1991). Assim os outros métodos basearam-se na quantificação de componentes moleculares específicos, exclusivamente associados a certos grupos tróficos, como a coenzima F_{420} em relação as metanogênicas (CHEESEMAN; KELTJENS & VOGELS apud COLLERAN, 1991), ou a atividades biológicas específicas de certos grupos. A análise da coenzima F_{420} provou ser de difícil aplicação, devido a variação na quantidade desta coenzima nas diferentes metanogênicas e sob efeitos das condições ambientais em espécies individuais. Seria necessário, obter-se a extração e quantificação separada de F_{420} nos tipos de bactérias, mas estas técnicas são muito complexas para o monitoramento diário de biodigestores anaeróbios.

Diferentes procedimentos foram desenvolvidos para se medir diretamente a atividade metanogênica específica, principalmente testes que medem a taxa do metano produzido (VAN DER BERG; OWEN; VALCKE & VERSTRAETE e DOLFING & BLOEMEN apud COLLERAN, 1991). Os procedimentos procuraram quantificar a produção de metano pelo deslocamento de líquido em coletores externos de gases (VALCKE & VERSTRAETE apud COLLERAN, 1991) ou pelo deslocamento de êmbolo de seringas de vidro (OWEN apud COLLERAN, 1991).

DOLFING & BLOEMEN apud COLLERAN (1991) desenvolveram um método baseado nas análises de gases por cromatografia gasosa avaliando

o metano contido no gás do "headspace" de frascos-reatores fechados. Este método necessitava de coleta das amostras de gás por seringas de vidro com trava, a qual permitia a retirada de amostras na mesma pressão interna do reator, e portanto, a quantificação do volume do gás independente da pressão que prevalecia nos frascos-reatores. Outro método, aprimorado por REYNOLDS; CONCANNON et al. apud COLLERAN (1991), testando a biodegradabilidade anaeróbia, utilizou técnicas de transdutor de pressão eletrônico para monitorar o aumento de pressão produzido nos frascos lacrados, resultante do biogás liberado no "headspace" durante a biodigestão anaeróbia dos substratos orgânicos, como acetato, butirato, propionato, etc.

Em relação aos métodos desenvolvidos por DOLFING & BLOEMEN apud COLLERAN (1991) e REYNOLDS; CONCANNON apud COLLERAN (1991), ambos foram testados com diferentes lodos de água residuária: de indústrias de amido, ácido cítrico, fermento, cervejas, soro de leite, álcool, etc, e foram encontradas correlações satisfatórias entre os valores obtidos em cada método.

Como unidade da atividade metanogênica específica de um lodo, a expressão $\text{g}(\text{CH}_4 - \text{DQO}) \cdot (\text{g SSV})^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ geralmente é adotada, mas, as diferentes unidades divergem somente na medida de produção de metano (mmoles, mL, μmol , etc.), e podem ser portanto comparadas entre si, sempre mantendo-se as medidas sob condições normais de temperatura e pressão. (ARAÚJO, 1995).

PENNA apud ARAÚJO (1995) apresentou uma revisão dos métodos utilizadas para se realizar o teste da atividade metanogênica específica. Nessa revisão, verificou-se que ao se realizar a medida da produção de metano nos lodos a partir de uma carga orgânica e concentração de sólidos suspensos voláteis conhecidos, o substrato variava de uma mistura de ácidos (acético, propiônico, butírico), até o uso individual, geralmente o ácido acético. Foram adicionadas soluções de metais e de nutrientes para assegurar que a produção de metano não seria afetada por limitações

nutricionais. A produção de gás medida neste método ocorreu através do deslocamento de líquido, em que no líquido foi adicionado soda cáustica para dissolver o gás carbônico produzido, garantindo que o gás produzido, e que deslocava o líquido, fosse mesmo o metano. A desvantagem deste método está na grande quantidade de lodo requerido para uma eficiente produção de gás e portanto, para o deslocamento do líquido. Em outro método, DUBOURGUIER apud VAZOLLER (1989), semelhante ao método de DOLFING & BLOEMER apud ARAÚJO (1995), também utilizou a cromatografia gasosa. Neste método, contudo não foram utilizadas as soluções tampão, de nutrientes e de metais, somente o substrato. O resultado da atividade metanogênica específica é chamada de absoluta ou real, e é obtida pela diferença entre a atividade metanogênica específica aparente do substrato (frasco-reator com lodo e o substrato) e a atividade do frasco controle (frasco-reator apenas com o lodo) (ARAÚJO, 1995).

4 - MATERIAIS E MÉTODOS

A seguir serão descritas as atividades experimentais do presente trabalho, preparação das soluções e manipulação dos frascos, bem como as análises do lodo e do biogás.

Dois tipos de lodo foram estudados. O primeiro foi empregado nos experimentos preliminares (experimentos 01 a 03), e foi oriundo de um reator de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB), de um sistema de reatores aeróbios-anaeróbios operado com esgoto sanitário sintético (SOUSA, 1996). O segundo, empregado nos experimentos de 04 a 09 também foi proveniente de um reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB), operado com resíduos de suínos (OLIVEIRA et al., 1995). Ambos os reatores eram operados em escala de laboratório.

O primeiro lodo apresentou uma grande quantidade de líquido e foi coletado no ponto inferior do reator. O lodo originário do reator operado com resíduo de suínos era granuloso e se apresentava mais concentrado, ou seja, este lodo apresentava-se pouco diluído e não foi coletado diretamente do reator, pois este lodo achava-se armazenado sob baixas temperaturas em refrigerador. Para ser utilizado nos experimentos, este lodo precisou ser reativado.

As soluções adicionadas aos frascos-reatores com o lodo foram: acetato de sódio, bicarbonato de sódio e a solução de cloreto de Ni. A adição das soluções era feita após se colocar 10 mL do lodo, nos frascos de antibiótico (MILLER & WOLIN, 1974), que apresentavam um volume total de 25 mL. O lodo foi anteriormente submetido a uma "lavagem" com solução mineral, para tentar deixá-lo livre de materiais que não fossem grânulos. Todos os frascos receberam, o mesmo volume das soluções de acetato de

sódio e de bicarbonato de sódio, somente variando a concentração do cloreto de níquel. Ao término da distribuição das soluções, os frascos eram lacrados e eram submetidos a análises cromatográficas utilizando-se o cromatógrafo GOW MAC com detector de condutividade térmica (Series 150); integrador processador CG-300; colunas Poropack T e Q, ambas com 2 metros de comprimento e 1/4" de diâmetro interno, e o gás de arraste era hidrogênio super seco. Os frascos eram então levados a estufa incubadora para D.B.O.; FANEM 347-F ($35\pm 1^{\circ}\text{C}$) e somente eram retirados para novas análises cromatográficas após certos intervalos de tempo. As outras análises realizadas foram de sólidos em suspensão voláteis, pH e da concentração dos metais Ni e Fe.

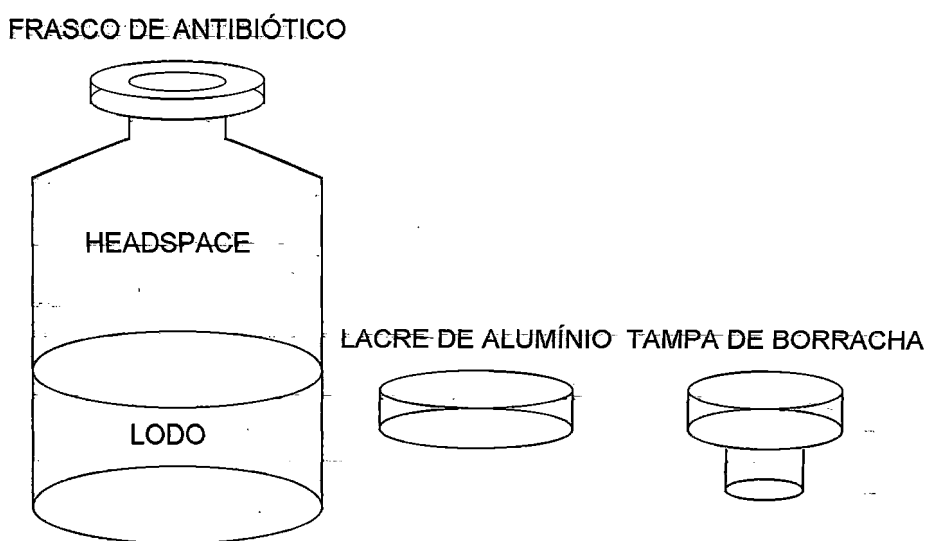


FIGURA 04 - Frasco de antibiótico (25 mL), sendo o volume deste frasco dividido entre o lodo (10 mL) e o "headspace" (15 mL), o lacre de alumínio e a tampa de borracha para a lacração dos frascos.

4.1 - CARACTERÍSTICAS DOS INÓCULOS ESTUDADOS

4.1.1 - INÓCULO UTILIZADO NOS EXPERIMENTOS DE 01 A 03

O inóculo utilizado nos experimentos de 01 a 03 oriundo de um sistema em escala de laboratório para o tratamento de esgoto sanitário sintético. Esse sistema era constituído de três unidades: a primeira era um reator de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB), em que ocorria o processo anaeróbio; a segunda unidade era constituída de dois reatores seqüenciais em batelada (SBR), em paralelo, em que ocorria o processo aeróbio; a terceira unidade compreendia uma coluna de desnitrificação de fluxo ascendente usando lodo anaeróbio como fonte externa de carbono (SOUSA, 1996). Neste sistema combinado, o reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo removia grande parte do material orgânico biodegradável afluente e recebia também o lodo em excesso dos reatores seqüenciais em batelada. Os reatores seqüenciais em batelada recebiam o efluente proveniente do UASB, e durante o ciclo operacional, que era de 4 horas, realizava a oxidação carbonácea do material orgânico remanescente, a remoção de nutrientes, sobretudo o N-amoniaco, além da sedimentação e separação de sólido-líquido (SOUSA, 1996). O lodo do reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo foi inoculado com lodo granulado (0,155 kg SST) com 58 % de sólidos em suspensão voláteis (SSV) proveniente de um reator UASB, tratando esgoto doméstico sintético. Durante todo o experimento a relação SSV/SST do reator UASB apresentou uma média de 0,5640 (SOUSA, 1996). O lodo foi alimentado com esgoto doméstico sintético, com a seguinte composição (em porcentagem de DQO): Extrato de carne (50%), Sacarose (8%), Amido comercial (24%), Celulose (8%) e Óleo de soja (10%). A este esgoto sintético eram ainda adicionadas as seguintes soluções de sais minerais: 2,0 g/L $MgCl_2 \cdot 6H_2O$; 1,6 g/L $CaCl_2 \cdot 2H_2O$; 12,0 g/L NaCl; 0,12 g/L $CaCO_3$ e 10,0 g/L $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (SOUSA, 1996).

4.1.2 - INÓCULO UTILIZADO NOS EXPERIMENTOS DE 04 A 09

O segundo lodo foi proveniente de um reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo de bancada, operado em escala de laboratório de volume total igual a 10,5 L, a temperatura ambiente, em que o substrato utilizado era a fração líquida de resíduos suínos, obtidos a partir dos dejetos sólidos coletados de um estabelecimento para criação de suínos, em instalações localizadas na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - Campus de Jaboticabal (OLIVEIRA et al, 1995). Quanto a estrutura granular apresentada por este lodo, segundo FORESTI et al. (1995), evidenciou-se três camadas. Na camada da superfície, conhecida como camada externa, predominavam filamentos de bactérias, associadas com a formação de ácidos; pequenos bastonetes (1,0 μm); bastonetes acima de 2,0 μm e cocos. A camada interna era formada por bastonetes de tamanhos diferentes, e a população heterogênea era menos predominante. Na camada central, a morfologia do gênero *Methanosaeta sp* encontrou-se como predominante. Segundo OLIVEIRA et al., (1995) a predominância obtida neste lodo, quanto à morfologia bacteriana, foi associada com a *Methanothrix soehngenii*, verificada na forma de filamentos muito longos e flexíveis, encontrados nas camadas centrais e externas dos grânulos. FORESTI et al. (1995) verificaram através de microanálises a presença de P e Ca como elementos principais, sendo que o C, H, O e N, não foram detectados no núcleo. Precipitados minerais como P, Ca, S, Si, Al e Fe foram encontrados na camada externa dos grânulos. A quantidade de P presente no grânulo, se deve a remoção do P no reator.

A reativação do lodo era realizada através da adição de 200 mL de lodo recém retirado da geladeira (lodo concentrado) e de 200 mL de solução mineral dentro de um frasco de soro de 1.000 mL. A preparação desta mistura era realizada sob fluxo de N_2/CO_2 . Os frascos eram lacrados com o volume livre do sistema preenchido com N_2/CO_2 e então era adicionado 2,0 mL de etanol (concentração final de 20 mmoles/L); 4,0 mL de acetato de sódio (concentração final de 40 mmoles/L); e 2,0 mL de extrato de levedura

a 2 %. Os frascos eram levados à incubadora a $30 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Os frascos de soro lacrados eram submetidos a determinações cromatográficas a cada 6 horas, em que se analisava a composição dos gases metano, dióxido de carbono e nitrogênio. Ao atingir a faixa de 10 a 20 % de metano na atmosfera do frasco, o lodo estava adequado para o início do experimento.

4.2 - SOLUÇÕES EMPREGADAS NOS EXPERIMENTOS

4.2.1 - SOLUÇÃO MINERAL

A solução mineral utilizada nos experimentos baseada nas indicações de MacLEOD et al. (1990) foi utilizada para facilitar a homogeneização do lodo, e sua composição e procedimentos para preparação estão descritos na Tabela 04 a seguir. As modificações realizadas no presente trabalho em relação a solução descrita por MacLEOD et al. (1990) foram a substituição de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ por Na_2HPO_4 e $\text{Na}_2\text{S} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, mantendo-se as relações utilizadas pelos autores em relação a quantidade de fósforo e sulfeto.

TABELA 04 - Composição, procedimentos e materiais para a preparação da solução mineral.

Solução Mineral	
Composição	Vidrarias e outros
Na_2HPO_4 0,081 g	- 2 Erlenmeyers 2.000 mL
K_2HPO_4 8,010 g	- 2 Pipetas: 1 (0,1 mL) e 1 (1,0 mL)
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 2,210 g	- 4 Béqueres 100 mL
Cisteína Hidroclorídrica..... 0,125 g	- 4 Bastões de vidro
$\text{Na}_2\text{S} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,069 g	- 1 Vidro de relógio
Solução de Resazurina (0,1 %).. 0,001 g	- Papel de filtro
Água Deionizada..... 1.000 mL	
Equipamentos	Procedimentos
- Balança analítica	- Ferver a água deionizada
- Balança semi-analítica	- Diluir os 4 componentes iniciais
- Cilindro de Nitrogênio 100 %	- Acrescentar todos os componentes a um erlenmeyer e completar 1.000 mL
- Deionizador	- Fluxionar N_2 100% por 20 minutos
- Destilador	- Manter o pH final entre $7,2 \pm 0,1$
- Potenciômetro	- Preservar em geladeira
- Sistema de distribuição de gases	

Fonte: Modificada de MacLEOD et al., 1990.

4.2.1.1 - PROCEDIMENTOS PARA A ADIÇÃO DA SOLUÇÃO MINERAL AOS LODOS ESTUDADOS.

Este procedimento foi realizado para todos os experimentos. Coletavam-se 200 mL de lodo para cada experimento. Este lodo era transferido para uma proveta de 1.000 mL, estando constantemente sob fluxo de N_2/CO_2 . A proveta era mantida em repouso até que o lodo sedimentasse. O volume do lodo sedimentado era anotado e o sobrenadante era descartado. Após a descarte do sobrenadante, a solução mineral era adicionada à proveta, mantendo-se uma proporção de 1 : 1,5 (lodo : solução mineral), a solução mineral era adicionada à proveta, e em seguida a mistura era homogeneizada, sempre com a proveta tampada e o volume livre com N_2/CO_2 . A proveta era novamente mantida em repouso. Aguardava-se a decantação do lodo e o sobrenadante era descartado. Por mais duas vezes, este procedimento de lavagem do lodo era realizado, até que ao término da terceira lavagem, e mantendo-se a proveta em repouso, somente era descartado parte do sobrenadante, pois o volume a ser mantido seria o volume do lodo no início da "lavagem". Dessa forma, o lodo estava preparado para iniciar os ensaios sob adição das fontes de carbono e níquel.

4.2.2 - PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO ESTOQUE DE ACETATO DE SÓDIO

A solução estoque de acetato de sódio foi empregada como substrato orgânico para o lodo estudado. Esta solução foi preparada nas concentrações de 2 e 4 moles/L (ou 2 e 4 M), e está descrita para a concentração de 2 moles/L na Tabela 05. As concentrações finais de acetato de sódio empregadas no experimentos serão indicadas posteriormente, nos ítems que descrevem os procedimentos experimentais para a determinação de atividade metanogênica dos lodos. O substrato orgânico acetato de sódio foi também empregado durante a reativação dos inóculos estudados.

TABELA 05 - Composição e materiais empregados na preparação da solução estoque de Acetato de Sódio

Solução de Acetato de sódio 2 moles/L	
Composição	Vidrarias e outros
<p>2 moles/L</p> <p>Acetato de sódio 16,4 g</p> <p>Água deionizada 100 mL</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 1 Erlenmeyers - 200 mL - 3 Pipetas: 2 (10,0 mL) e 1 (1,0 mL) - 1 Béquer - 50 mL - 1 Bastões de vidro - 1 Proveta 100 mL - 10 Frascos de antibiótico - 10 Tampas de borracha e 10 lacres de alumínio - Papel alumínio - Lacrador
Equipamentos	Procedimentos
<ul style="list-style-type: none"> - Autoclave - Balança semi-analítica - Sistema de distribuição de gases 	<ul style="list-style-type: none"> - Medir 100 mL de água deionizada; - Dissolver o acetato de sódio em béquer com bastão de vidro; - Transferir a solução para o erlenmeyer; - Fluxionar nitrogênio 100% por 20 minutos; - Distribuir 10 mL da solução nos frascos sob fluxo de nitrogênio 100 % e lacrá-los após cada distribuição; - Esterilizar na autoclave durante 20 minutos; - Armazenar os frascos envolvido por papel alumínio, fora da luz à temperatura ambiente.

Fonte: Tabela adaptada no presente trabalho.

4.2.3 - PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO ESTOQUE DE BICARBONATO DE SÓDIO A 10%

A solução de bicarbonato de sódio a 10% foi utilizada em todos os experimentos. Esta solução não era esterilizada em autoclave, pois, sob altas temperaturas, esta solução na concentração empregada, precipitava. Toda a preparação realizou-se sob assepsia, em que o material utilizado na preparação da solução era previamente esterilizado por autoclavação.

TABELA 06 - Composição, procedimentos e materiais empregados na preparação da solução estoque de bicarbonato de sódio a 10%.

Solução de Bicarbonato de Sódio a 10%	
Composição	Vidrarias e outros
Bicarbonato de sódio 10 g Água deionizada 100 mL	- 1 Erlenmeyers - 200 mL - 3 Pipetas: 1 (10,0 mL) e 2 (1,0 mL) - 1 Bastões de vidro - 1 Proveta 100 mL - 10 Frascos de antibiótico - 10 Tampas e borracha e 10 lacres de alumínio - Papel alumínio - Lacrador
Equipamentos	Procedimentos
- Balança semi-analítica - Bico de Bunsen - Placa aquecedora - Membrana 0,22 μm - Removedor de oxigênio - Sistema de distribuição de gases - Sistema Millipore de filtração	- Ferver água deionizada; - Fluxionar nitrogênio 100% por 10 minutos até a temperatura atingir 45°C e completar até 100 mL; - Esterilizar, por filtração, através do sistema Millipore e membrana 0,22 μm ; - Distribuir 10 mL da solução nos frascos sob fluxo constante de nitrogênio e em condições assépticas; - Lacrar os frascos ainda sob fluxo de nitrogênio; - Armazenar os frascos envolvido por papel alumínio, fora da luz à temperatura ambiente.

Fonte: Tabela adaptada no presente trabalho, baseada em TOUZEL & ALBAGNAC (1983)

4.2.4 - PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO ESTOQUE DE ETANOL

Esta solução era utilizada somente para a reativação do lodo oriundo de um reator de fluxo ascendente e manta de lodo alimentado com resíduos suínos, lodo este utilizado nos experimentos de 04 a 09.

TABELA 07 - Composição e materiais empregados na preparação da solução estoque de etanol.

Solução de Etanol	
Composição	Vidrarias e outros
Etanol absoluto 5,83 mL Água deionizada 50 mL	- 1 Erlenmeyers - 100 mL - 3 Pipetas: 2 (10,0 mL) e 1 (1,0 mL) - 5 Frascos de antibiótico - 5 Tampas e borracha e 5 lacres de alumínio - Lacrador - 2 Seringas de insulina estéreis
Equipamentos	Procedimentos
- Autoclave - Bico de Bunsen - Placa aquecedora - Removedor de oxigênio - Sistema de distribuição de gases	- Ferver água deionizada; - Distribuir em um frasco de antibiótico (30 mL) 10 mL de água destilada, e em outro, um volume maior que 5 mL de etanol absoluto; introduzindo-se um fluxo de nitrogênio (100%) nos frascos; - Manter o fluxo de nitrogênio (100%), por borbulhamento, durante 10 minutos em ambos os frascos; - Fechar e lacrar os frascos sob fluxo de nitrogênio; - Esterilizar por autoclavação durante 20 minutos, à 120°C e 1 atm; - Retirar uma alíquota de 1,17 mL do etanol absoluto e adicioná-lo no frasco de água esterilizada, sob condições de assepsia, após autoclavação; - Armazenar na ausência de luz e à temperatura ambiente.

Fonte: Tabela adaptada no presente trabalho.

4.2.5 - PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO ESTOQUE DE EXTRATO DE LEVEDURA A 2 %

Esta solução era utilizada somente para a reativação do lodo oriundo de um reator de fluxo ascendente e manta de lodo alimentado com resíduos suínos, lodo este utilizado nos experimentos de 04 a 09.

TABELA 08 - Composição, procedimentos e materiais empregados na preparação da solução estoque de extrato de levedura 2%.

Solução de Extrato de Levedura 2 %	
Composição	Vidrarias e outros
Extrato de levedura 2 g Água deionizada 100 mL	- 1 Erlenmeyers - 200 mL - 2 Pipetas: 1 (10,0 mL) e 1 (1,0 mL) - 1 Proveta - 100 mL - 1 Béquer - 50 mL - 1 Bastão de vidro - 1 Frasco âmbar - 150 mL - 10 Frascos de antibiótico - 10 Tampas e borracha e 10 lacres de alumínio - Lacrador
Equipamentos	Procedimentos
- Autoclave - Balança analítica - Removedor de oxigênio - Sistema de distribuição de gases	- Medir 100 mL de água deionizada; - Dissolver o componente com a água deionizada e despejá-la em um erlenmeyer ; - Manter esta solução sob fluxo de nitrogênio 100% por 10 minutos; - Distribuir sob fluxo de nitrogênio 10 mL da solução para cada frasco; - Lacrar os frascos com as soluções e esterilizá-los por 20 minutos em autoclavação. - Armazenar fora da luz à temperatura ambiente.

Fonte: Adaptada no presente trabalho, baseada em VAZOLLER (1995)

4.2.6 - PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO ESTOQUE DE CLORETO DE NÍQUEL HIDRATADO ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)

Foram preparadas várias soluções de cloreto de níquel hidratado ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), com diferentes concentrações, para o estudo da influência do metal nos lodos anaeróbios estudados.

TABELA 09 - Composição, procedimentos e materiais empregados na preparação da solução estoque de cloreto de níquel.

Solução de Cloreto de Níquel Hidratado	
Composição	Materiais utilizados para o preparo de cada uma das concentrações de Ni utilizadas
Experimento 01	- 1 Erlenmeyers - 200 mL
Cloreto de níquel hidratado 3,08 g	- 2 Pipetas: 1 (10,0 mL) e 1 (1,0 mL)
Experimentos 02 e 03	- 1 Proveta - 100 mL
Cloreto de níquel hidratado 6,17 g	- 1 Béquero - 50 mL
Experimentos 04 a 06	- 1 Bastão de vidro
Cloreto de níquel hidratado 24,7 g	- 10 Frascos de antibiótico
Experimentos 07 e 08	- 10 Tampas e borracha e 10 lacres de alumínio
Cloreto de níquel hidratado 0,49 g	- Lacrador
Experimento 09	
Cloreto de níquel hidratado 0,0005 g	
Água deionizada 100 mL	
Equipamentos	Procedimentos
- Autoclave - Balança analítica - Removedor de oxigênio - Sistema de distribuição de gases	- Medir 100 mL de água deionizada; - Dissolver o componente com a água deionizada e despejá-la em um erlenmeyer; - Manter esta solução sob fluxo de nitrogênio 100% por 10 minutos; - Distribuir sob fluxo de nitrogênio 10 mL da solução para cada frasco; - Lacrar os frascos com as soluções e esterilizá-los por 20 minutos em autoclavação. - Armazenar fora da luz à temperatura ambiente.

Fonte: Tabela adaptada no presente trabalho.

A seguir, estão indicadas na tabela 10 as concentrações do Ni utilizadas em cada um dos experimentos.

TABELA 10 - Concentrações do Ni (mg/L) e o respectivo volume da solução de cloreto de níquel (mL) adicionados aos frascos de cada experimento.

Experimentos	Concentrações de Ni (mg/L)			
01	6,25 (0,10)	93,75 (1,5)	125,00(2,0)	250,00(4,0)
02 e 03	12,50 (0,10)	18,75 (0,15)	25,00 (0,20)	50,00 (0,40)
04 a 06	50,00 (0,10)	75,00 (0,15)	100,00 (0,20)	200,00 (0,40)
07 e 08	1,00 (0,10)	1,50 (0,15)	2,00 (0,20)	2,50 (0,25)
09	0,0001 (0,10)		2,00 (0,20)	

() - Volume, em mL, adicionado da solução de $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Volume de lodo de cada frascos = 10,0 mL.

Todos os oito experimentos tiveram frascos controle, sem adição de Ni, sendo que nos experimentos de 01 a 03, os controles não foram feitos em duplicata. Quanto ao experimento 09, algumas mudanças foram realizadas, entre elas, o fato deste experimento ter sido realizado em triplicata, com exceção dos controles, que eram em duplicata. Este experimento recebeu os seguintes valores das soluções: 0,0001 mgNi/L (concentração final de acetato de sódio no experimento foi igual a 40 mmoles/L) e 2,0 mgNi/L (concentrações finais de acetato de sódio nos experimentos foram iguais a 40 e 80 mmoles/L).

4.3 - PROCEDIMENTOS PARA A DISTRIBUIÇÃO DOS LODOS NOS FRASCOS DE REAÇÃO

Os procedimentos para a distribuição dos lodos nos frascos de reação estão descritos na Tabela 11. A leitura do pH do lodo, realizada sob fluxo de N_2 , era feita antes do lodo ser distribuído entre os frascos-reatores. Caso este pH estivesse fora da faixa de 6,5 a 7,2, adicionava-se ácido clorídrico (HCl), ou hidróxido de potássio (KOH), correção do pH dentro da faixa indicada.

TABELA 11 - Vidrarias, equipamentos e procedimentos utilizados para a distribuição do lodo nos frascos.

Vidrarias e outros	
<ul style="list-style-type: none"> - 1 Erlenmeyer - 1.000 mL - 2 Pipetas: 1 (10,0 mL) e 1 (1,0 mL) - 10 Frascos de antibiótico - 10 Tampas e borracha e 10 lacres de alumínio - Papel alumínio - Lacrador 	
Equipamentos	Procedimentos
<ul style="list-style-type: none"> - Cilindro de Nitrogênio - Potenciômetro - Removedor de oxigênio - Sistema de distribuição de gases 	<ul style="list-style-type: none"> - Transferir o lodo, após a "lavagem", para um erlenmeyer de 1.000 mL. - Manter o pH na faixa de 6,5 a 7,2 - Manter o lodo homogeneizado dentro do erlenmeyer, coletar e distribuir com uma pipeta de 10 mL o lodo em cada frasco, sempre sob fluxo de N₂. - Fluxionar por 10 segundos e lacrar os frascos; - Realizar troca de gases por 30 segundos e padronizar pressão atmosférica dentro do frasco com o ambiente; - Envolver os frascos com papel alumínio.

4.4 - PROCEDIMENTOS PARA A DETERMINAÇÃO DOS VALORES DE pH DO MEIO

As leituras do pH do lodo eram realizadas com um potenciômetro *Digimed - DMPH2*, de precisão $\pm 0,01$ no início de cada experimento, após a distribuição das soluções e, para cada um dos frascos, no final do experimento. Era verificado então a variação do pH durante o ensaio.

4.5 - PROCEDIMENTOS PARA A DETERMINAÇÃO DOS SÓLIDOS EM SUSPENSÃO VOLÁTEIS

Uma amostra do lodo dos experimentos 04 a 09, com o mesmo volume adicionado aos frascos (10 mL), era submetido à análise dos sólidos em suspensão voláteis (Tabela 23). A amostra era submetida à centrifugação por 20 min, a 1200 rpm. A parte líquida era descartada e os



resíduos eram levados à calcinação. Os valores para os sólidos em suspensão voláteis eram obtidos por meio da seguinte equação (PENNA, 1995).

$$\text{SSV (g/kg)} = \frac{P1 (g) - P2(g)}{\text{Pamostra (L)}}$$

Pamostra (L)

4.6 - PROCEDIMENTOS PARA AS ANÁLISES DOS GASES POR CROMATOGRAFIA GASOSA

4.6.1 - PROCEDIMENTOS PARA A PREPARAÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO DO GÁS METANO

Para a elaboração da curva de calibração, foram utilizadas 3 amostras para cada um dos diferentes volumes analisados de metano. Os volumes de metano utilizados foram (em mL) : 0,050; 0,075; 0,10; 0,50; 0,75 e 1,0. Estes valores expressos nas condições de São Carlos foram convertidos para CNTP (Condições Normais de Temperatura e Pressão) (Tabela 36). Após a conversão a CNTP, os volumes em mL foram convertidos a mmoles. Após as leituras de todas as amostras, através das 3 áreas encontradas de cada volume injetado de metano, era encontrada a média das áreas. A partir disto, os volumes em mmoles e as médias das áreas correspondentes encontradas eram plotadas em um gráfico. Através do programa Origin 3.0 obteve-se, por meio de uma regressão linear, a seguinte equação da reta:

$$Y = 23854200,96.X - 6097,98$$

Com esta equação, todos os valores das áreas obtidas durante todos os ensaios foram transformados em mmoles. Na tabela 36, temos demonstrado os valores obtidos para a elaboração da curva de calibração, e a figura 37, representa a própria curva com a regressão linear.

Condições utilizadas nas análises cromatográficas:

- Vazão de arraste: 20 mL / 23,41 s
- Atenuação de sinal: 2
- Corrente: 150 mA
- Volume de injeção: 0,5 mL

TABELA 12 - Vidrarias, equipamentos e procedimentos utilizados para a distribuição das soluções nos frascos.

Soluções	Vidrarias e outros
<ul style="list-style-type: none"> - Acetato de sódio - Bicarbonato de sódio a 10% - Cloreto de níquel hidratado 	<ul style="list-style-type: none"> - Erlenmeyer com algodão e álcool - Seringas de 1 mL de insulina-esterilizadas
Equipamentos	Procedimentos
<ul style="list-style-type: none"> - Bico de Bunsen - Cilindros de Nitrogênio - Removedor de oxigênio - Sistema de distribuição de gases 	<ul style="list-style-type: none"> - Esterilizar as tampas dos frascos das soluções e dos lodos quando são manipulados; - Manipular os frascos e as seringas próximas da chama do Bico de Bunsen; - Fluxionar com N₂ as seringas antes de utilizá-las; - Homogeneizar os frascos das soluções antes da adição; - Adicionar as soluções conforme cada experimento. - Homogeneizar os frascos de lodo após receber cada uma das soluções;

Na tabela 13 a seguir observamos as concentrações das soluções de acetato de sódio e bicarbonato de sódio a 10% para cada experimento. As concentrações de cloreto de níquel podem ser observadas na Tabela 10, apresentada anteriormente.

TABELA 13 - Concentrações da solução de acetato de sódio, em mmoles/L, e o volume de bicarbonato de sódio a 10%, em mg/L, para os frascos de cada experimento.

Experimentos	Acetato de sódio (mmoles/L)	Bicarbonato de sódio (g/L)
01 a 03	40	1
04 a 08	40	1
09	40 e 80	1

Conforme observado acima, os experimentos de 01 a 08 mantiveram as mesmas concentrações para ambas as soluções. Quanto ao experimento 09, foram realizadas variações quanto as concentrações da solução de

acetato de sódio, assim como da concentração do cloreto de níquel (vide 4.2.6).

Após a distribuição das soluções, em todos os experimentos, os frascos eram submetidos a primeira leitura cromatográfica. Ao término das leituras, os frascos eram levados a estufa incubadora para D.B.O. *FANEM* 347-F, e eram mantidos a uma temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$.

A medida da atividade metanogênica específica, realizada através do método de DOLFING & BLOEMEN (apud ARAÚJO (1995), determinava por cromatografia gasosa, a concentração do gás metano produzido no "headspace" dos frascos do Iodo.

Abaixo têm-se as concentrações de Ni, em mg/L, utilizadas para cada experimento e o número de frascos-reatores entre parênteses usados para os controles e as concentrações estudadas.

- Experimento 01 - Controle (1); 6,25 (2); 93,75 (2); 125,00 (2) e 250,00 (2).
- Experimento 02 e 03 - Controle (1); 12,50 (1); 18,75 (1); 25,00 (1) e 50,00 (1).
- Experimentos 04 a 06 - Controle (2); 50,00 (2); 75,00 (2); 100,00 (2) e 200,00 (2).
- Experimentos 07 e 08 - Controle (2); 1,00 (2); 1,50 (2); 2,00 (2) e 2,50 (2).
- Experimento 09 - Controle (2); 0,0001 (3) e 2,0 (3)

Durante a amostragem dos gases para determinação de sua composição, lavava-se a seringa amostradora ("gas-tight" Hamilton de 1,0 mL) com a atmosfera interna dos frascos, isto é retirava-se e introduzia-se o gás do volume livre dos frascos na seringa, através do movimento natural do êmbolo, sem retirar a seringa fixada pela agulha na tampa do frasco. Este procedimento era realizado três vezes, após o que retirava-se a amostra final de volume igual a 0,5 mL, a ser submetida à análise cromatográfica. A medida do gás, portanto, era feita após os frascos terem sido lacrados e as soluções adicionadas.

Antes de cada frasco ser submetido a amostragem, os gases presentes no seu volume livre, "headspace", eram homogeneizados. Isto foi

feito retirando-se e introduzindo-se o gás, do volume livre dos frascos, com uma seringa de vidro "gas-tight" *Hamilton*, 1,0 mL, sem retirar a agulha da seringa, do interior do frasco. Após esta homogeneização, realizada por três vezes para cada frasco, realizava-se uma coleta normal do gás, no volume de 0,5 mL, para a análise cromatográfica.

Ao término de cada leitura por cromatografia gasosa, os frascos eram levados a estufa incubadora (FANEM 347-F para D.B.O), mantida a uma temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$. Nos ensaios preliminares, o intervalo de tempo entre as leituras foi feito em 2 ou 3 dias (Figuras 08 a 12), depois de 06 em 06 horas (Figura 13), intervalos de 2 horas (Figuras 14 a 36). A diminuição nos intervalos de tempo ocorreu de acordo com a resposta da produção de metano, ou seja, segundo a velocidade da produção do gás metano para cada condição estudada.

A partir do experimento 04, os valores das análises cromatográficas da produção de gás metano foram submetidos a uma regressão linear e calculou-se a equação da reta, em que a partir do coeficiente angular obtido, para cada uma das concentrações de Ni e seus controles, foram realizadas comparações quanto a eficiência na produção de metano, pois o coeficiente angular obtido corresponde à atividade metanogênica de cada frasco. Os valores utilizados na elaboração da equação da reta e consequente atividade metanogênica (indicados em **negrito e itálico** posteriormente no capítulo Resultados, Tabelas 27 a 35) foram considerados de acordo com o melhor coeficiente de correlação calculado.

4.7 - ANÁLISES DO ÍON NÍQUEL POR ESPECTROFOTÔMETRO DE ABSORÇÃO ATÔMICA

A Tabela 14 mostra os procedimentos para a digestão do lodo biológico, empregando-se ácidos nítrico e clorídrico, antes da determinação de metais por espectrometria de absorção atômica. Os procedimentos foram os descritos no STANDARD METHODS (1992).

TABELA 14 - Composição, vidrarias, equipamentos e procedimentos utilizados para a realização da digestão do lodo por ácido nítrico-ácido hidrocloreídrico.

Digestão por Ácido Nítrico - Ácido Hidrocloreídrico	
Composição	Vidrarias e outros
Ácidos e Reagentes Ácido Nítrico, HNO ₃ concentrado Ácido Hidrocloreídrico (1 + 1) Água deionizada	- 2 Pipetas: 2 (10,0 mL) - 4 Béqueres - 50 mL - 4 Vidros de relógio - 4 balões volumétricos - 100 mL
Equipamentos	Procedimentos
- Chapa aquecedora - Capela com exaustor	- Transferir um volume de 10 mL da amostra para um béquer; - Adicionar 3 mL de HNO ₃ ; - Colocar o béquer na chapa quente e evaporar para menos de 5 mL; - Esfriar e adicionar 5 mL de HNO ₃ ; - Tampar o recipiente com vidro de relógio e retornar para a chapa quente; - Aumentar a temperatura até ocorrer um refluxo; - Continuar aquecendo e adicionando HNO ₃ até a digestão estar completa; - Evaporar para menos de 5 mL e esfriar; - Adicionar 10 mL HCl (1+1) e 15 mL de água deionizada. - Aquecer por 15 minutos para dissolver algum precipitado; - Esfriar e lavar as paredes do béquer e do vidro de relógio com água deionizada; - Filtrar para remover materiais insolúveis; - Completar com água deionizada em um balão volumétrico e deixar sedimentar de um dia para o outro.

Fonte: Tabela adaptada no presente trabalho, baseada no STANDARD METHODS (1992)

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

As metodologias empregadas no presente trabalho, apesar de indicadas para a avaliação de lodos biológicos anaeróbios, não permitiram certificar a influência do metal pesado Ni na produção de gás metano. Os procedimentos iniciais para a distribuição dos lodos biológicos nos frascos de pequeno volume e a falta de homogeneização do conteúdo dos frascos pode ter dificultado o contato das bactérias com as fontes orgânica e inorgânica estudadas.

Os três experimentos iniciais foram considerados ensaios preliminares, pois seus resultados foram utilizados como base para o desenvolvimento dos demais ensaios. Além disso, não houveram réplicas em alguns ensaios preliminares. O lodo utilizado nestes três primeiros experimentos foi oriundo do reator de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB) de um sistema de reatores aeróbios-anaeróbios, operado com esgoto sanitário sintético (SOUSA, 1996). O reator UASB foi inoculado com lodo granulado (0,155 kg SST) contendo 58% de sólidos suspensos voláteis (SSV), proveniente de um outro reator UASB, também operado com esgoto sanitário sintético (SOUSA, 1996). A relação média entre SSV e SST, segundo SOUSA (1996), era de 0,5640.

No primeiro experimento estudou-se concentrações de Ni bem distintas, 6,25; 93,75; 125,00 e 250,00 mg Ni/L e teve um tempo de duração de 22 dias. As leituras da produção de metano eram realizadas em intervalos variados, em dias. Através desta metodologia, nenhuma diferença foi observada ao comparar-se os lodos granulados adicionados de Ni e os controles. Assim, não foi possível avaliar se a presença do Ni afetava as

bactérias metanogênicas na produção de metano. As faixas de concentração de Ni utilizadas no primeiro experimento foram amplas e elevadas, desta forma, o segundo experimento, em que a mesma metodologia foi adotada, as concentrações foram mantidas elevadas, sendo de 12,50; 18,75; 25,0 e 50,00 mg Ni/L, e a amplitude da faixa de concentração foi menor. O tempo de duração do experimento 02 foi de 18 dias e os intervalos de leitura cromatográfica permaneceram os mesmos. Com estas alterações foram obtidos resultados superiores ao apresentado no experimento 01, e a produção de gás metano, corrigida, ficou muito próxima aos valores teoricamente esperados. Através da equação estequiométrica da produção do metano a partir do acetato, tem-se que 1 mol de acetato produz 1 mol de metano. Assim sendo, como a única fonte de carbono orgânico fornecida durante os experimentos foi o acetato na concentração de 40 mmoles/L, esperava-se a produção similar de metano. Apesar da produção de metano, neste experimento, ter sido superior, verificou-se que o Ni não apresentou nenhum efeito sobre o lodo estudado. A leitura em dias das amostras nesses experimentos pareceu inadequada, pois não foi possível medir a fase de maior produção de metano. As amostragens do gás produzido eram realizadas a partir do tempo zero, mas entre a leitura inicial e a segunda leitura, o intervalo mostrou-se muito grande, e assim a produção de metano perdida foi muito significativa. Tentando corrigir esta perda, o terceiro experimento foi realizado, mantendo-se as mesmas concentrações de Ni do experimento anterior (12,50; 18,75; 25,00 e 50,0 mg Ni/L), mas os intervalos para a leitura das amostras foram estabelecidos em horas e o tempo de duração foi de 60 horas. A adoção de intervalos menores entre as amostragens, possibilitou a avaliação da produção do gás metano, mas apesar dessa alteração, não foi possível observar diferenças na produção de metano entre os frascos-reatores suplementados com as diferentes concentrações de Ni e os frascos controle. As tabelas 27 a 29 mostram as áreas obtidas e os valores de metano corrigidos (mmoles/L) dos experimentos 1, 2 e 3.

As concentrações de Ni utilizadas no primeiro experimento, foram baseadas nos artigos de ASHLEY et al. (1982); PARKIN et al. (1983); MUELLER & STEINER (1992) e LIN (1992). As concentrações de Ni dos experimentos 02 e 03 foram baseadas nos artigos de ASHLEY et al. (1982) e PARKIN et al. (1983).

Diferente dos resultados obtidos nos trabalhos que forneceram as concentrações de Ni que foram utilizadas no experimento 01 (Tabela 27 e Figuras 08 a 11), este experimento não demonstrou sinais de estímulo ou inibição na produção de gás metano, como ASHLEY et al. (1982), que verificaram que a metanogênese sofria um efeito tóxico para concentrações superiores a 75 mg Ni/L (100, 150 e 250 mg Ni/L). PARKIN et al. (1983) apresentaram resultados parecidos, onde em um sistema semi-contínuo, concentrações inferiores a 70 mg Ni/L não apresentaram nenhuma diminuição na produção de gás, enquanto que sob concentrações de 80, 90 e 100 mg Ni/L, a produção de metano foi inibida, mas após 10 dias do início da inibição, os sistemas se recuperaram. Em sistemas de batelada, PARKIN et al. (1983) encontraram uma progressiva inibição pelo Ni, a partir de 50 mg Ni/L até 500 mg Ni/L. MUELLER & STEINER (1992) apresentaram um trabalho realizado com cargas de choque, onde o nível básico de Ni no lodo era de 6 mg Ni/L, passando para 300, 150 e 75 mg Ni/L por digestor. Para a carga de choque de 300 mg Ni/L, o digestor parou de produzir metano e não se recuperou, enquanto que as cargas de choque de 150 e 75 mg Ni/L, a taxa de produção de metano reduziu por um período curto de tempo e a inibição foi reversível. LIN (1992) apresentou que para concentrações de 100 e 300 mg Ni/L, adicionados individualmente, a degradação de ácido acético foi de 40% e 30%, respectivamente e para a concentração de 600 mg Ni/L, a atividade registrada chegou perto de 10%.

Conforme observado nos resultados apresentados anteriormente, nenhum resultado se assemelhava aos resultados do experimento 01.

O segundo e o terceiro experimentos (Tabelas 28 e 29 e Figuras 12 e 13), não apresentavam estímulo ou inibição da metanogênese, como

preconizado por ASHLEY et al. (1982), que verificaram um efeito tóxico no lodo anaeróbio empregando concentrações semelhantes as estudadas no presente trabalho, superiores a 75 mgNi/L. As Tabelas 27 a 29 e as Figuras 08 a 13 demonstram o desempenho na produção de metano nos ensaios preliminares. Quanto ao lodo utilizado nestes ensaios preliminares, SOUSA (1996) encontrou que as concentrações de Ni no esgoto sanitário sintético utilizado para este lodo era zero, mas não apresentou nenhum dado sobre a concentração de Ni no lodo. Sendo assim, não foi possível verificar a presença de Ni no primeiro lodo estudado. Os três experimentos preliminares facilitaram o estabelecimento dos procedimentos a serem seguidos nos experimentos 04 a 09. Devido ao fato do lodo utilizado nos experimentos preliminares ser originado de um sistema de reatores aeróbio-anaeróbio, é provável que as variações observadas na produção de metano entre um experimento e outro, possa ter ocorrido devido a condição do sistema de reatores que forneceu o lodo, ou aos procedimentos experimentais adotados nesse trabalho, como má homogeneização entre o lodo e o meio de cultura. O experimento 03 sofreu uma alteração maior, pois em tempos de reação iguais a 60 h, obteve-se uma produção inferior de metano em relação ao experimento 02.

O lodo granulado utilizado para os experimentos 04 a 09 apresentou predominantemente o gênero metanogênico *Methanothrix sp*, verificado por sua morfologia peculiar, filamentos longos e com pontas retas. Estes filamentos, geralmente encontrados nos grânulos cujo o inóculo foi originado, possuíram a estrutura apresentada na figura 06, segundo OLIVEIRA et al. (1995). Sob baixas concentrações de ácidos encontradas em certas águas residuárias, como as originadas de criadouros controlados de suínos (pocilgas), verifica-se o predomínio da *Methanothrix sp* em grânulos durante o processo de digestão anaeróbia. Este lodo descrito no capítulo Materiais e Métodos, foi proveniente de um reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo de bancada (OLIVEIRA et al., 1995). Estes experimentos (Tabelas 30 a 35 e Figuras 14 a 36) foram realizados

com um lodo granulado proveniente de um sistema operado sob condições estáveis, e mantendo-se em regime de equilíbrio metanogênico o processo de biodigestão anaeróbia no reator. A origem do lodo biológico estudado apresentou, portanto, características semelhantes ao longo dos experimentos de 04 a 09 (Tabelas 30 a 35 e Figuras 14 a 36), e a reativação do mesmo, quando da necessidade de sua estocagem sob refrigeração, possibilitou iniciar cada experimento com lodos em condições bastante semelhantes. A Figura 06, apresenta a estrutura do gênero *Methanothrix* sp, sob microscopia de varredura e aumento de 10.000 vezes (OLIVEIRA et al., 1995). Enquanto que a Figura 07, sob um menor aumento (objetiva 100, ocular 10, zoom 1,25) apresentava microscopia de contraste de fase do mesmo lodo. A bactéria filamentosa, sob microscopia comum, foi relacionada ao gênero *Methanothrix* sp.

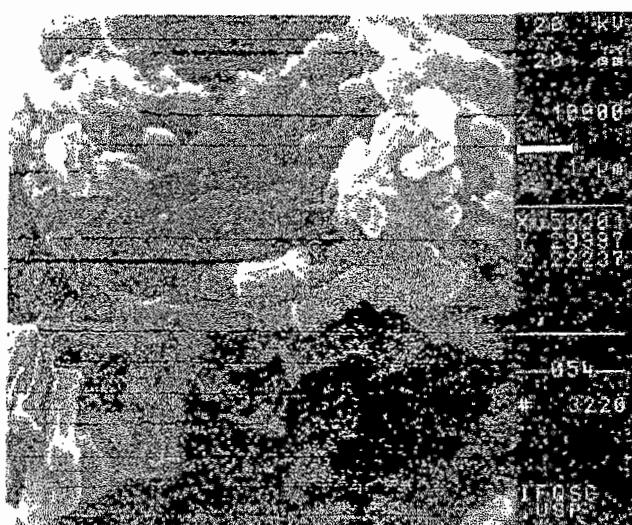


FIGURA 06 - Microscopia de varredura do lodo utilizado nos experimentos 04 a 09, apresentando a presença e a estrutura da *Methanothrix* sp (OLIVEIRA et al., 1995).

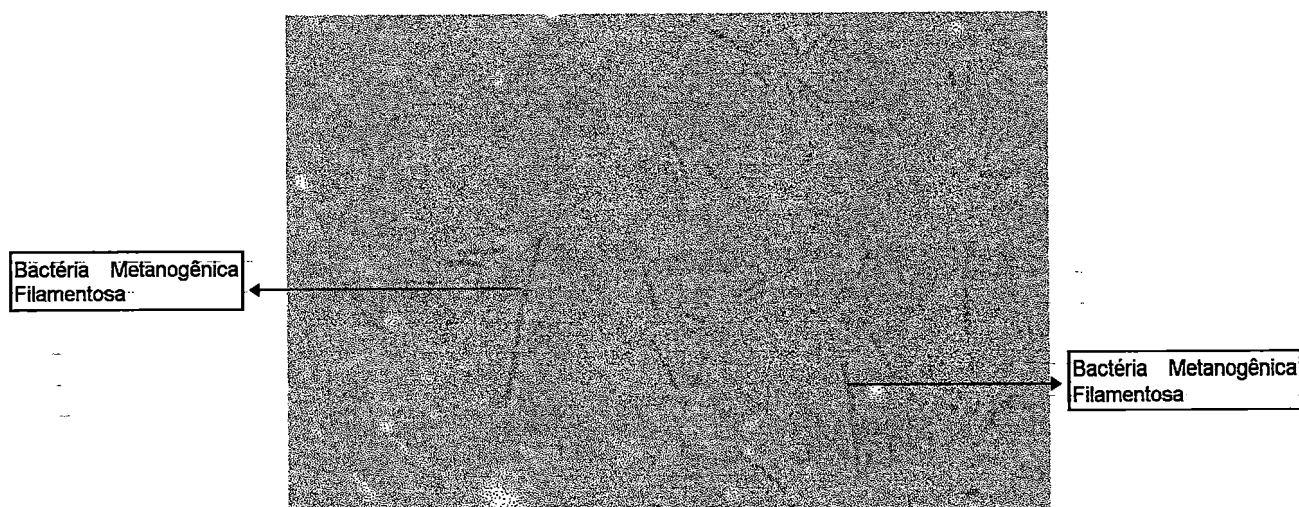


FIGURA 07 - Morfologia predominante no lodo utilizado nos experimentos 04 a 09.

A partir do experimento 04, os resultados cromatográficos da produção de gás metano foram submetidos a uma regressão linear e calculou-se a equação da reta, onde a partir o coeficiente angular obtido através desta equação da reta, para cada uma das concentrações de Ni e seus controles em cada experimento, foram realizadas comparações quanto a eficiência na produção de metano, pois o coeficiente angular obtido corresponde à atividade metanogênica de cada frasco. Esta metodologia foi adotada também para os experimentos 05 a 09 e os resultados são apresentados nas tabelas 15 a 20. Os experimentos preliminares não foram analisados desta forma.

Para os experimentos 04 a 06, as concentrações adotadas de Ni foram de 50, 75, 100 e 200 mg/L. Estas concentrações de Ni foram baseadas nos artigos de ASHLEY et al. (1982); PARKIN et al. (1983); MUELLER & STEINER (1992) e LIN (1992). As leituras cromatográficas foram realizadas com intervalos de 2 horas, pelo menos nas 12 horas iniciais. Estes intervalos mais curtos continuaram sendo utilizados na tentativa de se acompanhar mais detalhadamente a produção de metano e as suas possíveis variações. A duração do experimento 04 foi de 48 horas. Esta metodologia foi também empregada nos experimentos 05 e 06, alterando-se somente o tempo de duração de cada experimento, sendo respectivamente, 56 e 24 horas, tempo necessário à estabilização.

A partir das comparações entre os coeficientes angulares, ou seja, as atividades metanogênicas, do experimento 04, para as concentrações de Ni e os controles, verificou-se que a melhor produção de metano encontrada foi para uma das duplicatas referente a concentração de 75 mg Ni/L. Os valores das atividades metanogênicas do experimento 05, apresentaram produções de metano superiores aos do experimento 04. As concentrações de Ni que se destacaram foram 75, 100 e 200 mg/L, mas assim como no experimento anterior, os valores obtidos em um frasco não correspondia aos valores encontrados na réplica (Tabela 15). No experimento 06, o melhor desempenho observado foi para a concentração de 100 mg Ni/L (Tabela 16). O desempenho observado nesta concentração, se comparada àquele obtido no experimento 04, foi semelhante, por isso o experimento durou apenas 24 horas, pois esperava-se neste período um rendimento igual ou superior ao experimento 05. Por tudo isso, os resultados encontrados nos experimentos 04 a 06, demonstraram um efeito muito pouco estimulatório para o lodo, inclusive com concentrações diferentes de Ni, além de não ser verificado o efeito em ambas as réplicas. Esta variação entre as réplicas pode ter sido ocasionada por uma distribuição desigual do lodo nos frascos-reatores, pois pode ter havido uma variação na quantidade de lodo recebido por cada frasco, talvez devido à dificuldade de tornar o lodo homogêneo antes deste ser distribuído entre os frascos, assim como nos experimentos preliminares. Isto pode ter ocorrido com os três experimentos no momento do preparo do lodo para cada um dos experimentos, apesar deste lodo ter sido misturado antes de cada distribuição nos frascos. Isto pode ser observado nos valores obtidos dos sólidos suspensos voláteis, de cada experimento (Tabela 23).

Mesmo utilizado-se as mesmas concentrações para os experimentos 04 a 06 e a mesma metodologia, inclusive a adição de 40 mmoles para cada um dos frascos-reatores, cada frasco apresentou diferente volume de gás produzido. No experimento 04, com 48 horas de incubação, a média de gás metano produzida era de 29,2 mmoles/L. Mesmo o experimento 05, com 56

horas de duração, apresentou uma média inferior, com 18,2 mmoles CH_4/L , próxima da média obtida no experimento 06, que foi de 15,2 mmoles CH_4/L , para 24 horas de incubação. Apesar do experimento 05 ter um tempo maior de incubação, a média da produção de metano atingiu somente 46% do esperado, enquanto que o experimento 04, em menos tempo, a produção atingiu 73%. No experimento 06 foram encontrados valores inferiores ao experimento 04, que em 24 horas de operação obteve 20,1 mmoles/L (50,2%), enquanto que o experimento 06, com o mesmo tempo de operação produziu 15,2 mmoles/L (38%). Os procedimentos foram cuidadosamente mantidos, tais como homogeneização do lodo durante o início dos ensaios, e agitação dos frascos-reatores antes de cada análise.

Seguindo-se as mesmas observações, indicadas para o experimento 01, de ASHLEY et al. (1982); PARKIN et al. (1983); MUELLER & STEINER (1992) e LIN (1992), os experimentos 04 a 06, não apresentaram resultados esclarecedores quanto a algum efeito estimulatório ou inibitório do Ni.

Nos experimentos 07 e 08, as análises cromatográficas eram realizadas a cada 1,5 horas, nas doze horas iniciais, e as concentrações de Ni foram mais baixas; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mg Ni/L. Estas concentrações foram baseadas no artigo de SPEECE (1994). O tempo de incubação do experimento 07 foi de 300,5 horas, mas os valores empregados nos cálculos da atividade metanogênica consideraram até o tempo de 137,5 horas, pois acima deste tempo os valores de produção de metano apresentavam-se estabilizados. O experimento 08 durou 126 horas, o mesmo tempo de incubação do experimento 09. Com um período de incubação superior aos dos experimentos anteriores (04 a 06), obteve-se que a média de produção de gás metano também aumentou. Para os experimentos 07 e 08, com seus respectivos tempos de incubação, a média de metano produzido era de 32,7 e 31,9 mmoles/L, atingindo assim uma percentagem mais próxima ao metano produzido esperado teoricamente, sendo respectivamente 82% e 80%. Quanto ao experimento 09, a média de gás metano produzido, para os frascos com 40 mmoles de acetato, foi de 27,9 mmoles/L, correspondendo a

70% do esperado. Nos frascos com 80 mmoles de acetato, a produção de metano foi de 52%, com uma média de 41,7 mmoles/L. No experimento 09, estudou-se outras concentrações de Ni, bem como de concentrações de acetato. Uma das concentrações de Ni utilizada foi de 0,0001 mg/L, sendo que este valor foi adotado em função de uma relação entre concentração de Ni e acetato, relação esta que SPEECE (1994) associou com altas taxas de acetato utilizado. Neste caso, a concentração de acetato foi de 40 mmoles. O experimento 09 avaliou ainda a concentração de 2,0 mg Ni/L, frente as concentrações de acetato de 40 e 80 mmoles. A relação entre 2,0 mg Ni/L e 40 mmoles de acetato foi a de melhor desempenho no experimento 07 principalmente, e no experimento 08, sendo desta forma repetido no experimento 09. A concentração mais elevada de acetato (80 mmoles) foi empregada a fim de se verificar como a relação Fe/acetato respondia a valores de proporção proposto por SPEECE (1994). Os resultados apresentaram para as concentrações de 0,0001 e 2,0 mg Ni/L, com 40 mmoles de acetato, valores semelhantes para todos os frascos-reatores, inclusive os controles. Os resultados para a concentração de 2,0 mg Ni/L e 80 mmoles de acetato, até aproximadamente 70 horas de operação, eram semelhantes aos controles, mas após este período a produção de metano apresentou valores superiores aos controles. O estímulo que ocasionou esta maior produção de metano foi a concentração dobrada de acetato que receberam os frascos-reatores com 2,0 mg Ni/L.

Quanto as análises do E.A.A. (Tabela 21 e 22), para o Fe, a média encontrada nos experimentos 05, 07 e 08 foi de 107,75 mgFe/g da amostra. No experimento 09, a média foi de 488,90 mg Fe/g. Apesar de ter-se mantido a mesma metodologia para todas as análises do E.A.A., não se pode determinar ou afirmar qual teria sido o motivo para uma mudança na concentração de Fe entre os experimentos 05, 07 e 08 e o experimento 09. Uma diferença proporcional foi mantida entre a média das concentrações do níquel entre os experimentos.

Em relação as análises cromatográficas, os dados obtidos na produção do gás metano de cada um dos experimentos (Tabelas 27 a 36), foram empregados na elaboração das curvas que representam a produção corrigida de gás metano, em mmoles/L, durante todo o tempo que durou cada ensaio (Figuras 08 a 36).

A curva de calibração de metano, que serviu de base para todas as curvas de gás metano produzidas, está representada na Tabela 36 e Figura 37. A partir da equação linear encontrada através da curva de calibração, as áreas obtidas nas análises cromatográficas eram convertidas para mL de metano produzido nas amostras. A partir destes dados em mL, os valores foram convertidos até se atingir o volume de metano produzido, em mmoles, no headspace dos frascos. A seguir era realizada uma conversão do volume do headspace para litro, e finalmente realizou-se a conversão para se atingir a concentração de metano em mmoles/L corrigido.

TABELA 15 - Valores dos coeficientes angulares do experimento 04 - Frascos controles e com diferentes concentrações de Ni.

Experimento	Concentrações de Ni (mg Ni/L)	Coefficientes angulares (mmoles CH ₄ /L.h)	r ²
04	Controle A*	0,6235	0,9956
	Controle B*	1,2376	0,9945
	50,00 - A	1,1789	0,9926
	50,00 - B	1,2813	0,9912
	75,00 - A	1,0988	0,9909
	75,00 - B	1,5736	0,9944
	100,00 - A	1,2733	0,9952
	100,00 - B	1,3889	0,9978
	200,00 - A	1,2106	0,9947
	200,00 - B	0,5080	0,9966

* As letras A e B representam cada um dos frascos-reatores da duplicata de cada uma das concentrações de Ni, inclusive os controles.

TABELA 16 - Valores dos coeficientes angulares do experimento 05 - Frascos controles e com diferentes concentrações de Ni.

Experimento	Concentrações de Ni (mg Ni/L)	Coeficientes angulares (mmol _{es} CH ₄ /L.h)	r ²
05	Controle A*	0,4298	0,9987
	Controle B*	0,2500	0,9983
	50,00 - A	0,3408	0,9986
	50,00 - B	0,4949	0,9976
	75,00 - A	0,5204	0,9975
	75,00 - B	0,6446	0,9921
	100,00 - A	0,7907	0,9978
	100,00 - B	0,3968	0,9989
	200,00 - A	0,4642	0,9971
200,00 - B	0,7348	0,9913	

* As letras A e B representam cada um dos frascos-reatores da duplicata de cada uma das concentrações de Ni, inclusive os controles.

TABELA 17 - Valores dos coeficientes angulares do experimento 06 - Frascos controles e com diferentes concentrações de Ni.

Experimento	Concentrações de Ni (mg Ni/L)	Coeficientes angulares (mmol _{es} CH ₄ /L.h)	r ²
06	Controle A*	0,8105	0,9972
	Controle B*	0,5238	0,9939
	50,00 - A	0,9659	0,9966
	50,00 - B	0,6700	0,9954
	75,00 - A	0,8679	0,9973
	75,00 - B	0,7611	0,9951
	100,00 - A	0,5302	0,9973
	100,00 - B	1,0116	0,9959
	200,00 - A	0,8930	0,9967
200,00 - B	0,6275	0,9963	

* As letras A e B representam cada um dos frascos-reatores da duplicata de cada uma das concentrações de Ni, inclusive os controles.

TABELA 18 - Valores dos coeficientes angulares do experimento 07 - Frascos controles e com diferentes concentrações de Ni.

Experimento	Concentrações de Ni (mg Ni/L)	Coefficientes angulares (mmoles CH ₄ /L.h)	r ²
07	Controle A*	0,7321	0,9981
	Controle B*	0,5851	0,9983
	1,00 - A	0,7047	0,9989
	1,00 - B	0,5649	0,9968
	1,50 - A	0,9076	0,9977
	1,50 - B	0,5523	0,9977
	2,00 - A	1,0831	0,9981
	2,00 - B	1,3750	0,9976
	2,50 - A	0,6604	0,9983
	2,50 - B	0,9215	0,9985

* As letras A e B representam cada um dos frascos-reatores da duplicata de cada uma das concentrações de Ni, inclusive os controles.

TABELA 19 - Valores dos coeficientes angulares do experimento 08 - Frascos controles e com diferentes concentrações de Ni.

Experimento	Concentrações de Ni (mg Ni/L)	Coefficientes angulares (mmoles CH ₄ /L.h)	r ²
08	Controle A*	0,4684	0,9955
	Controle B*	0,6642	0,9972
	1,00 - A	0,9005	0,9947
	1,00 - B	0,5632	0,9976
	1,50 - A	0,7320	0,9965
	1,50 - B	0,5160	0,9961
	2,00 - A	0,8062	0,9967
	2,00 - B	0,5065	0,9953
	2,50 - A	0,7782	0,9972
	2,50 - B	0,5349	0,9966

* As letras A e B representam cada um dos frascos-reatores da duplicata de cada uma das concentrações de Ni, inclusive os controles.

TABELA 20 - Valores dos coeficientes angulares do experimento 09 - Frascos controles e com diferentes concentrações de Ni.

Experimento	Concentrações de Ni (mg Ni/L)	Coefficientes angulares (mmoles CH ₄ /L.h)	r ²
09	Controle A*	0,3757	0,9988
	Controle B*	0,3791	0,9985
	0,0001 - A	0,3900	0,9980
	0,0001 - B	0,6094	0,9997
	0,0001 - C	0,3279	0,9980
	2,00 - 40 mmoles - A	0,2983	0,9985
	2,00 - 40 mmoles - B	0,4316	0,9984
	2,00 - 40 mmoles - C	0,4220	0,9972
	2,00 - 80 mmoles - A	0,4362	0,9984
	2,00 - 80 mmoles - B	0,4837	0,9983
	2,00 - 80 mmoles - C	0,3518	0,9974

* As letras A e B representam cada um dos frascos-reatores da duplicata de cada uma das concentrações de Ni, inclusive os controles.

TABELA 21 - Análises do lodo por espectrofotômetro de absorção atômica - Metais Ni e Fe nos experimentos 5, 7 e 8.

Experimentos	Amostras	Ni inicial mg / g	Ni final mg / g	Fe inicial mg / g	Fe final mg / g	Ni/Fe inicial	Ni/Fe final
5	Controle	0,65	0,45	107,75	-	0,006	-
		-	0,45	-	-	-	-
	75 mg / L	90,5	58,75	107,75	-	0,840	-
		-	70,5	107,75	-	0,840	-
	100 mg / L	117,75	88,5	107,75	-	1,093	-
		-	-	-	-	-	-
	200 mg / L	173	163	107,75	-	1,606	-
		-	189,5	107,75	-	-	-
7	Controle	0,55	0,25	141	94,5	0,004	0,003
	1,0 mg Ni / L	1	0,7	109,5	89,5	0,009	0,008
	2,0 mg Ni / L	1,9	2,1	96	178,5	0,020	0,012
8	Controle	0,4	0,4	104	115	0,004	0,003
	1,0 mg Ni / L	1,1	1,25	109	143,5	0,010	0,009
	2,0 mg Ni / L	1,85	1,4	87	108,5	0,021	0,013

TABELA 22 - Análises do lodo (sólido + líquido) por espectrofotômetro de absorção atômica - Metais *Ni* e *Fe* nos experimentos 09.

Meio	Amostras	Ni inicial	Ni final	Fe inicial	Fe final	Ni/Fe inicial	Ni/Fe final
		mg / g	mg / g	mg / g	mg / g		
Sólido	Controle	3,61	3,48	432,79	483,52	0,008	0,007
	0,0001 mg/L	3,89	29,11	635,51	700,29	0,006	0,042
	2,0 mg/L	7,85	6,9	445,51	437,93	0,018	0,016
	2,0 mg/L*	6,85	6,96	441,78	550,16	0,015	0,013
Líquido	Controle	ND	ND	0,48	1,83	-	-
	0,0001 mg/L	ND	ND	0,07	3,34	-	-
	2,0 mg/L	0,02	ND	0,84	2,09	0,024	-
	2,0 mg/L*	0,01	ND	0,88	2,54	0,011	-

ND - Não Determinado

* - Acetato de sódio 80 mmoles, todas as demais amostras receberam 40 mmoles

A Tabela 23 apresenta valores de sólidos em suspensão voláteis (SSV) dos lodos inoculados em cada frasco-reator, durante os experimentos 04 a 09. O conteúdo de SSV, determinado no lodo reativado antes de cada inoculação, já mostra diferenças entre os lodos de cada experimento, somando-se a isto a distribuição dos mesmos em alíquotas menores para os frascos de reação, pode-se indicar alguns possíveis motivos para as diferentes respostas de atividade metanogênica do lodo existentes entre as réplicas.

TABELA 23 - Valores dos Sólidos em Suspensão Voláteis (S.S.V.) dos experimentos 04 a 09.

EXPERIMENTOS	S.S.V. (g / kg)
04	18.28
05	9.02
06	13.95
07	13.16
08	9.76
09	15.81

Em relação aos procedimentos de medida de pH, observou-se que ocorreu uma variação entre o pH inicial (antes da distribuição nos frascos) e

o final (ao término das leituras cromatográficas). Mas esta variação permaneceu, em geral, na faixa de 7,0 a 7,2 (Tabelas 24 a 26). Os valores abaixo representam o pH final de cada frasco-reator.

TABELA 24 - Valores dos potenciais hidrogeniônicos (pH) dos experimentos 05 e 06.

Concentrações de Ni (mg Ni/L)	EXPERIMENTOS	
	05	06
Controle A*	7,12	7,20
Controle B*	7,08	7,13
50,00 - A	7,10	7,17
50,00 - B	7,15	7,13
75,00 - A	7,11	7,17
75,00 - B	7,10	7,13
100,00 - A	7,10	7,39
100,00 - B	7,08	7,12
200,00 - A	7,11	7,13
200,00 - B	7,12	7,11

* As letras A e B representam cada um dos frascos-reatores da duplicata de cada uma das concentrações de Ni, inclusive os controles.

TABELA 25 - Valores dos potenciais hidrogeniônicos (pH) dos experimentos 07 e 08.

Concentrações de Ni (mg Ni/L)	EXPERIMENTOS	
	07	08
Controle A*	7,11	7,14
Controle B*	7,02	7,15
1,00 - A	7,05	7,16
1,00 - B	7,13	7,12
1,50 - A	7,09	7,12
1,50 - B	7,08	7,14
2,00 - A	7,04	7,16
2,00 - B	7,12	7,11
2,50 - A	7,05	7,09
2,50 - B	7,07	7,11

* As letras A e B representam cada um dos frascos-reatores da duplicata de cada uma das concentrações de Ni, inclusive os controles.

TABELA 26 - Valores dos potenciais hidrogeniônicos (pH) do experimento 09.

Concentrações de Ni (mg Ni/L)	EXPERIMENTO
	09
Controle A*	7,08
Controle B*	7,11
0,0001 - A	7,12
0,0001 - B	7,12
0,0001 - C*	7,16
2,00 - 40 mmoles - A	7,12
2,00 - 40 mmoles - B	7,09
2,00 - 40 mmoles - C	7,09
2,00 - 80 mmoles - A	7,22
2,00 - 80 mmoles - B	7,17
2,00 - 80 mmoles - C	7,21

* As letras A e B representam cada um dos frascos-reatores da duplicata de cada uma das concentrações de Ni, inclusive os controles. A letra C representa o frasco-reator quando o experimento era realizado em triplicata.

TABELA 27 - Resultados obtidos no experimento 01, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

Controle	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 dia	7844	584,5E-6	16,9E-3	1,17	1,17
04 dias	104337	4,6E-3	134,3E-3	9,26	9,28
05 dias	103665	4,6E-3	133,4E-3	9,20	9,35
06 dias	106590	4,7E-3	137,0E-3	9,45	9,73
12 dias	118600	5,2E-3	151,6E-3	10,46	10,88
15 dias	117919	5,2E-3	150,8E-3	10,40	10,97
18 dias	113090	5,0E-3	144,9E-3	9,99	10,72
22 dias	112359	5,0E-3	144,0E-3	9,93	10,80
A-6,25 mg Ni/L	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 dia	6558	530,6E-6	15,4E-3	1,06	1,06
04 dias	103941	4,6E-3	133,8E-3	9,23	9,24
05 dias	107568	4,8E-3	138,2E-3	9,53	9,68
06 dias	105574	4,7E-3	135,8E-3	9,36	9,65
12 dias	112620	5,0E-3	144,3E-3	9,95	10,38
15 dias	124312	5,5E-3	158,5E-3	10,93	11,50
18 dias	111846	4,9E-3	143,4E-3	9,89	10,61
22 dias	118563	5,2E-3	151,6E-3	10,45	11,32
B-6,25 mg Ni/L	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 dia	8902	628,8E-6	18,2E-3	1,26	1,26
04 dias	110162	4,9E-3	141,3E-3	9,75	9,77
05 dias	112896	5,0E-3	144,7E-3	9,98	10,14
06 dias	113616	5,0E-3	145,5E-3	10,04	10,34
12 dias	122518	5,4E-3	156,4E-3	10,78	11,23
15 dias	138861	6,1E-3	176,2E-3	12,15	12,76
18 dias	123829	5,4E-3	158,0E-3	10,89	11,68
22 dias	135670	5,9E-3	172,4E-3	11,89	12,83
A-93,75 mg Ni/L	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 dia	9309	645,9E-6	18,7E-3	1,29	1,29
04 dias	107422	4,8E-3	95,2E-3	6,56	6,58
05 dias	113416	5,0E-3	100,2E-3	6,91	7,02
06 dias	109.844	4,9E-3	141,0E-3	9,72	9,93
12 dias	120070	5,3E-3	153,4E-3	10,58	10,93
15 dias	119318	5,3E-3	152,5E-3	10,52	11,02
18 dias	113866	5,0E-3	145,8E-3	10,06	10,72
22 dias	120594	5,3E-3	154,0E-3	10,62	11,43
B-93,75 mg Ni/L	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 dia	7947	588,8E-6	17,1E-3	1,18	1,18
04 dias	61665	2,8E-3	82,4E-3	5,68	5,70
05 dias	59571	2,8E-3	79,8E-3	5,51	5,61
06 dias	50907	2,4E-3	69,3E-3	4,78	4,96
12 dias	23554	1,2E-3	36,0E-3	2,49	2,73
15 dias	22825	1,2E-3	35,2E-3	2,42	2,71
18 dias	54160	2,5E-3	73,3E-3	5,05	5,37
22 dias	28064	1,4E-3	41,5E-3	2,86	3,26

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \approx 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

Continuação.

TABELA 27 - Resultados obtidos no experimento 01, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

A-125,00 mg Ni/L	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 dia	6275	518,7E-6	15,0E-3	1,04	1,04
04 dias	94184	4,2E-3	121,9E-3	8,41	8,42
05 dias	92414	4,1E-3	119,8E-3	8,26	8,40
06 dias	84252	3,8E-3	109,8E-3	7,58	7,83
12 dias	91731	4,1E-3	118,9E-3	8,20	8,57
15 dias	100.469	4,5E-3	129,6E-3	8,93	9,42
18 dias	94907	4,2E-3	122,8E-3	8,47	9,08
22 dias	105.281	4,7E-3	135,4E-3	9,34	10,08
B-125,00 mg Ni/L	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 dia	8315	604,2E-6	17,5E-3	1,21	1,21
04 dias	100.667	4,5E-3	129,8E-3	8,95	8,97
05 dias	115616	5,1E-3	148,0E-3	10,20	10,35
06 dias	113782	5,0E-3	145,7E-3	10,05	10,35
12 dias	130687	5,7E-3	166,3E-3	11,47	11,91
15 dias	134082	5,9E-3	170,4E-3	11,75	12,36
18 dias	117727	5,2E-3	150,5E-3	10,38	11,16
22 dias	128883	5,7E-3	164,1E-3	11,32	12,25
A-250,00 mg Ni/L	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 dia	4443	441,9E-6	12,8E-3	0,88	0,88
04 dias	91501	4,1E-3	118,7E-3	8,18	8,20
05 dias	92720	4,1E-3	120,1E-3	8,29	8,42
06 dias	86605	3,9E-3	112,7E-3	7,77	8,02
12 dias	105.582	4,7E-3	135,8E-3	9,36	9,73
15 dias	101409	4,5E-3	130,7E-3	9,01	9,51
18 dias	90724	4,1E-3	117,7E-3	8,12	8,75
22 dias	102261	4,5E-3	131,7E-3	9,09	9,83
B-250,00 mg Ni/L	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 dia	7298	561,6E-6	16,3E-3	1,12	1,12
04 dias	97073	4,3E-3	125,4E-3	8,65	8,67
05 dias	111862	4,9E-3	143,4E-3	9,89	10,03
06 dias	95258	4,2E-3	123,2E-3	8,50	8,78
12 dias	102784	4,6E-3	132,4E-3	9,13	9,54
15 dias	105294	4,7E-3	135,4E-3	9,34	9,88
18 dias	121008	5,3E-3	154,5E-3	10,66	11,33
22 dias	101941	4,5E-3	131,3E-3	9,06	9,89

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \approx 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

TABELA 28 - Resultados obtidos no experimento 02, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

Controle	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 dia	27475	1,4E-3	80,5E-3	2,81	2,81
03 dias	139400	6,1E-3	348,9E-3	12,20	12,28
05 dias	150362	6,6E-3	375,2E-3	13,12	13,55
07 dias	321673	13,7E-3	786,0E-3	27,48	28,29
11 dias	176327	7,6E-3	437,4E-3	15,29	16,89
14 dias	188852	8,2E-3	467,5E-3	16,35	18,37
18 dias	256068	11,0E-3	628,6E-3	21,98	24,48
12,50 mg Ni/L	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 dia	23614	1,2E-3	71,2E-3	2,49	2,49
03 dias	200128	8,6E-3	494,5E-3	17,29	17,36
05 dias	123643	5,4E-3	311,1E-3	10,88	11,44
07 dias	283375	12,1E-3	694,1E-3	24,27	25,15
11 dias	149719	6,5E-3	373,6E-3	13,06	14,64
14 dias	145702	6,4E-3	364,0E-3	12,73	14,67
18 dias	197780	8,5E-3	488,9E-3	17,09	19,40
18,75 mg Ni/L	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 dia	28568	1,5E-3	83,1E-3	2,91	2,91
03 dias	198018	8,6E-3	489,4E-3	17,11	17,20
05 dias	132589	5,8E-3	332,6E-3	11,63	12,20
07 dias	298570	12,8E-3	730,6E-3	25,54	26,45
11 dias	174408	7,6E-3	432,8E-3	15,13	16,77
14 dias	178362	7,7E-3	442,3E-3	15,47	17,53
18 dias	213320	9,2E-3	526,1E-3	18,40	20,91
25,00 mg Ni/L	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 dia	28578	1,5E-3	83,1E-3	2,91	2,91
03 dias	211295	9,1E-3	521,3E-3	18,23	18,31
05 dias	140500	6,1E-3	351,5E-3	12,29	12,90
07 dias	310263	13,3E-3	758,6E-3	26,52	27,48
11 dias	177139	7,7E-3	439,4E-3	15,36	17,08
14 dias	163962	7,1E-3	407,8E-3	14,26	16,41
18 dias	258065	11,1E-3	633,4E-3	22,15	24,71
50,00 mg Ni/L	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 dia	18651	1,0E-3	59,3E-3	2,08	2,08
03 dias	178551	7,7E-3	442,8E-3	15,48	15,54
05 dias	118072	5,2E-3	297,7E-3	10,41	10,91
07 dias	278425	11,9E-3	682,3E-3	23,86	24,66
11 dias	145475	6,4E-3	363,5E-3	12,71	14,19
14 dias	135767	5,9E-3	340,2E-3	11,89	13,74
18 dias	210314	9,1E-3	518,9E-3	18,14	20,33

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \approx 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

TABELA 29 - Resultados obtidos no experimento 03, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

Controle	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 horas	5743	496,4E-6	14,0E-3	0,97	0,97
12 horas	48251	2,3E-3	64,3E-3	4,43	4,45
18 horas	63357	2,9E-3	82,1E-3	5,66	5,74
24 horas	71899	3,3E-3	92,2E-3	6,36	6,52
36 horas	110811	4,9E-3	138,2E-3	9,53	9,78
42 horas	119913	5,3E-3	149,0E-3	10,27	10,66
48 horas	116119	5,1E-3	144,5E-3	9,96	10,50
60 horas	111175	4,9E-3	138,6E-3	9,56	10,25
12,50 mg Ni/L	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 horas	6615	532,9E-6	15,0E-3	1,04	1,04
12 horas	49211	2,3E-3	46,4E-3	3,20	3,21
18 horas	66319	3,0E-3	60,7E-3	4,19	4,25
24 horas	77928	3,5E-3	70,4E-3	4,86	4,98
36 horas	93518	4,2E-3	117,8E-3	8,12	8,31
42 horas	116959	5,2E-3	145,5E-3	10,03	10,34
48 horas	83093	3,7E-3	105,4E-3	7,27	7,73
60 horas	104837	4,7E-3	131,1E-3	9,04	9,61
18,75 mg Ni/L	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 horas	3660	409,1E-6	11,5E-3	0,80	0,80
12 horas	32507	1,6E-3	45,6E-3	3,15	3,16
18 horas	42767	2,0E-3	57,8E-3	3,98	4,04
24 horas	57654	2,7E-3	75,4E-3	5,20	5,31
36 horas	83441	3,8E-3	105,9E-3	7,30	7,49
42 horas	95011	4,2E-3	119,5E-3	8,24	8,54
48 horas	89342	4,0E-3	112,8E-3	7,78	8,20
60 horas	101399	4,5E-3	127,1E-3	8,76	9,29
25,00 mg Ni/L	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 horas	7028	550,3E-6	15,5E-3	1,07	1,07
12 horas	52338	2,4E-3	69,1E-3	4,76	4,78
18 horas	72386	3,3E-3	92,8E-3	6,40	6,48
24 horas	82916	3,7E-3	105,2E-3	7,26	7,43
36 horas	67189	3,1E-3	86,6E-3	5,98	6,26
42 horas	102020	4,5E-3	127,8E-3	8,81	9,18
48 horas	87988	3,9E-3	111,2E-3	7,67	8,17
60 horas	115201	5,1E-3	143,4E-3	9,89	10,50
50,00 mg Ni/L	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 horas	6806	541,0E-6	15,3E-3	1,05	1,05
12 horas	45356	2,2E-3	60,8E-3	4,20	4,21
18 horas	64060	2,9E-3	82,9E-3	5,72	5,80
24 horas	77732	3,5E-3	99,1E-3	6,83	6,99
36 horas	91021	4,1E-3	114,8E-3	7,92	8,18
42 horas	97030	4,3E-3	121,9E-3	8,41	8,78
48 horas	91607	4,1E-3	115,5E-3	7,97	8,46
60 horas	95212	4,2E-3	119,8E-3	8,26	8,87

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

TABELA 30 - Resultados obtidos no experimento 04, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

Controle A	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 hora	3747	412,7E-6	9,4E-3	0,65	0,65
02 horas	8748	622,4E-6	18,0E-3	1,24	1,25
04 horas	24977	1,3E-3	37,8E-3	2,61	2,63
06 horas	41731	2,0E-3	58,1E-3	4,01	4,08
09 horas	65853	3,0E-3	87,5E-3	6,03	6,16
11 horas	76228	3,5E-3	100,1E-3	6,90	7,11
24 horas	102359	4,5E-3	131,9E-3	9,09	9,40
48 horas	251080	10,8E-3	312,7E-3	21,56	22,01
Controle B	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 hora	9941	672,4E-6	15,3E-3	1,06	1,06
02 horas	31691	1,6E-3	45,9E-3	3,17	3,18
04 horas	62948	2,9E-3	83,9E-3	5,79	5,85
06 horas	93870	4,2E-3	121,5E-3	8,38	8,53
09 horas	146378	6,4E-3	185,4E-3	12,78	13,05
11 horas	153980	6,7E-3	194,6E-3	13,42	13,87
24 horas	254360	10,9E-3	316,6E-3	21,84	22,48
48 horas	370222	15,8E-3	457,5E-3	31,55	32,52
50,00 mg Ni/L - A	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 hora	10997	716,6E-6	20,8E-3	1,43	1,43
02 horas	29310	1,5E-3	43,0E-3	2,97	2,99
04 horas	65392	3,0E-3	86,9E-3	5,99	6,06
06 horas	101849	4,5E-3	131,2E-3	9,05	9,20
09 horas	138312	6,1E-3	175,6E-3	12,11	12,39
11 horas	150620	6,6E-3	190,5E-3	13,14	13,60
24 horas	231466	10,0E-3	288,8E-3	19,92	20,57
48 horas	334911	14,3E-3	414,6E-3	28,59	29,53
50,00 mg Ni/L - B	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 hora	10458	694,0E-6	20,1E-3	1,39	1,39
02 horas	36843	1,8E-3	52,2E-3	3,60	3,62
04 horas	76657	3,5E-3	100,6E-3	6,94	7,01
06 horas	117435	5,2E-3	150,2E-3	10,36	10,53
09 horas	149427	6,5E-3	189,1E-3	13,04	13,36
11 horas	166099	7,2E-3	209,3E-3	14,44	14,95
24 horas	238524	10,3E-3	297,4E-3	20,51	21,23
48 horas	316952	13,5E-3	392,7E-3	27,09	28,10
75,00 mg Ni/L - A	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 hora	14996	884,3E-6	25,6E-3	1,77	1,77
02 horas	46398	2,2E-3	63,8E-3	4,40	4,43
04 horas	87851	3,9E-3	114,2E-3	7,88	7,97
06 horas	137443	6,0E-3	174,5E-3	12,03	12,24
09 horas	133153	5,8E-3	169,3E-3	11,68	12,05
11 horas	157055	6,8E-3	198,3E-3	13,68	14,23
24 horas	221004	9,5E-3	276,1E-3	19,04	19,79
48 horas	333675	14,2E-3	413,1E-3	28,49	29,51

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

Continuação.

TABELA 30 - Resultados obtidos no experimento 01, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

75,00 mg Ni/L - B		Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	15001	884,5E-6	25,7E-3	1,77	1,77	
02 horas	44306	2,1E-3	61,3E-3	4,23	4,25	
04 horas	87756	3,9E-3	114,1E-3	7,87	7,96	
06 horas	137736	6,0E-3	174,9E-3	12,06	12,26	
09 horas	184804	8,0E-3	232,1E-3	16,01	16,38	
11 horas	204362	8,8E-3	255,9E-3	17,65	18,25	
24 horas	275133	11,8E-3	341,9E-3	23,58	24,44	
48 horas	386969	16,5E-3	477,9E-3	32,96	34,16	
100,00 mg Ni/L - A		Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	9836	668,0E-6	19,4E-3	1,34	1,34	
02 horas	33607	1,7E-3	48,3E-3	3,33	3,35	
04 horas	69359	3,2E-3	91,7E-3	6,33	6,39	
06 horas	106502	4,7E-3	136,9E-3	9,44	9,60	
09 horas	148543	6,5E-3	188,0E-3	12,97	13,26	
11 horas	162851	7,1E-3	205,4E-3	14,17	14,65	
24 horas	244894	10,5E-3	305,1E-3	21,04	21,73	
48 horas	353300	15,1E-3	436,9E-3	30,13	31,13	
100,00 mg Ni/L - B		Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	13071	803,6E-6	23,3E-3	1,61	1,61	
02 horas	38961	1,9E-3	54,8E-3	3,78	3,80	
04 horas	84206	3,8E-3	109,8E-3	7,57	7,65	
06 horas	131836	5,8E-3	167,7E-3	11,56	11,75	
09 horas	101026	4,5E-3	130,2E-3	8,98	9,34	
11 horas	187391	8,1E-3	235,2E-3	16,22	16,71	
24 horas	245764	10,6E-3	306,2E-3	21,12	21,84	
48 horas	330490	14,1E-3	409,2E-3	28,22	29,25	
200,00 mg Ni/L - A		Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	10660	702,5E-6	20,4E-3	1,41	1,41	
02 horas	39752	1,9E-3	55,7E-3	3,84	3,86	
04 horas	73005	3,3E-3	96,2E-3	6,63	6,71	
06 horas	98494	4,4E-3	127,2E-3	8,77	8,94	
09 horas	149126	6,5E-3	188,7E-3	13,01	13,31	
11 horas	157074	6,8E-3	198,4E-3	13,68	14,17	
24 horas	234933	10,1E-3	293,0E-3	20,21	20,90	
48 horas	327830	14,0E-3	406,0E-3	28,00	28,98	
200,00 mg Ni/L - B		Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	9919	671,5E-6	19,5E-3	1,34	1,34	
02 horas	32216	1,6E-3	46,6E-3	3,21	3,23	
04 horas	61330	2,8E-3	82,0E-3	5,65	5,72	
06 horas	90285	4,0E-3	117,2E-3	8,08	8,23	
09 horas	100610	4,5E-3	129,7E-3	8,95	9,21	
11 horas	129512	5,7E-3	164,9E-3	11,37	11,76	
24 horas	209273	9,0E-3	261,8E-3	18,06	18,62	
48 horas	302137	12,9E-3	374,7E-3	25,84	26,66	

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

TABELA 31 - Resultados obtidos no experimento 05, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

Controle A		Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	4725	453,7E-6	13,2E-3	0,91	0,91	
02 horas	14455	861,6E-6	25,0E-3	1,72	1,74	
04 horas	25877	1,3E-3	38,9E-3	2,68	2,72	
06 horas	37328	1,8E-3	52,8E-3	3,64	3,72	
08 horas	45956	2,2E-3	63,3E-3	4,36	4,49	
10 horas	45514	2,2E-3	62,7E-3	4,33	4,52	
12 horas	61988	2,9E-3	82,8E-3	5,71	5,96	
14 horas	73472	3,3E-3	96,7E-3	6,67	7,01	
24 horas	134979	5,9E-3	171,5E-3	11,83	12,26	
30 horas	149089	6,5E-3	188,7E-3	13,01	13,62	
56 horas	190933	8,3E-3	239,5E-3	16,52	17,32	
Controle B						
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	846	291,1E-6	8,4E-3	0,58	0,58	
02 horas	6518	528,9E-6	15,3E-3	1,06	1,07	
04 horas	12257	769,5E-6	22,3E-3	1,54	1,56	
06 horas	19471	1,1E-3	31,1E-3	2,14	2,19	
08 horas	25702	1,3E-3	38,7E-3	2,67	2,74	
10 horas	4195	431,5E-6	12,5E-3	0,86	0,98	
12 horas	34799	1,7E-3	49,7E-3	3,43	3,56	
14 horas	40239	1,9E-3	56,3E-3	3,89	4,06	
24 horas	83016	3,7E-3	108,3E-3	7,47	7,71	
30 horas	89679	4,0E-3	116,4E-3	8,03	8,37	
56 horas	191877	8,3E-3	240,7E-3	16,60	17,06	
50,00 mg Ni/L-A						
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	2138	345,3E-6	10,0E-3	0,69	0,69	
02 horas	11377	732,6E-6	21,2E-3	1,47	1,48	
04 horas	18040	1,0E-3	29,3E-3	2,02	2,06	
06 horas	27592	1,4E-3	41,0E-3	2,82	2,89	
08 horas	36331	1,8E-3	51,6E-3	3,56	3,66	
10 horas	41228	2,0E-3	57,5E-3	3,97	4,12	
12 horas	48453	2,3E-3	66,3E-3	4,57	4,78	
14 horas	56474	2,6E-3	76,1E-3	5,25	5,52	
24 horas	114744	5,1E-3	146,9E-3	10,13	10,48	
30 horas	135931	6,0E-3	172,7E-3	11,91	12,41	
56 horas	224075	9,6E-3	279,8E-3	19,30	19,97	
50,00 mg Ni/L-B						
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	4918	461,8E-6	13,4E-3	0,92	0,92	
02 horas	19524	1,1E-3	31,1E-3	2,15	2,16	
04 horas	31111	1,6E-3	45,2E-3	3,12	3,16	
06 horas	45579	2,2E-3	62,8E-3	4,33	4,42	
08 horas	54619	2,5E-3	73,8E-3	5,09	5,24	
10 horas	62440	2,9E-3	83,3E-3	5,75	5,97	
12 horas	74996	3,4E-3	98,6E-3	6,80	7,11	
14 horas	83714	3,8E-3	109,2E-3	7,53	7,94	
24 horas	165724	7,2E-3	208,9E-3	14,41	14,92	
30 horas	165719	7,2E-3	208,9E-3	14,41	15,13	
56 horas	197447	8,5E-3	247,5E-3	17,07	18,00	

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \approx 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

Continuação

TABELA 31 - Resultados obtidos no experimento 05, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

75,00 mg Ni/L - A					
Tempo	Área Encontrada	CH ₄ mmoles	CH ₄ (HS) ^a mmoles	CH ₄ mmoles/L	CH ₄ corrigido ^b mmoles/L
0 hora	6812	541,2E-6	15,7E-3	1,08	1,08
02 horas	22173	1,2E-3	34,4E-3	2,37	2,39
04 horas	33550	1,7E-3	48,2E-3	3,32	3,37
06 horas	49218	2,3E-3	67,2E-3	4,64	4,74
08 horas	59827	2,8E-3	80,1E-3	5,53	5,69
10 horas	67195	3,1E-3	89,1E-3	6,15	6,39
12 horas	79860	3,6E-3	104,5E-3	7,21	7,54
14 horas	89520	4,0E-3	116,2E-3	8,02	8,46
24 horas	160865	7,0E-3	203,0E-3	14,00	14,55
30 horas	156562	6,8E-3	197,7E-3	13,64	14,40
56 horas	183115	7,9E-3	230,0E-3	15,86	16,82
75,00 mg Ni/L - B					
Tempo	Área Encontrada	CH ₄ mmoles	CH ₄ (HS) ^a mmoles	CH ₄ mmoles/L	CH ₄ corrigido ^b mmoles/L
0 hora	6448	525,9E-6	15,3E-3	1,05	1,05
02 horas	27427	1,4E-3	40,8E-3	2,81	2,83
04 horas	45300	2,2E-3	62,5E-3	4,31	4,37
06 horas	63682	2,9E-3	84,8E-3	5,85	5,97
08 horas	79117	3,6E-3	103,6E-3	7,14	7,35
10 horas	85004	3,8E-3	110,8E-3	7,64	7,95
12 horas	97508	4,3E-3	126,0E-3	8,69	9,10
14 horas	110351	4,9E-3	141,6E-3	9,76	10,31
24 horas	167470	7,3E-3	211,0E-3	14,55	15,24
30 horas	168741	7,3E-3	212,6E-3	14,66	15,56
56 horas	190029	8,2E-3	238,4E-3	16,44	17,55
100,00 mg Ni/L - A					
Tempo	Área Encontrada	CH ₄ mmoles	CH ₄ (HS) ^a mmoles	CH ₄ mmoles/L	CH ₄ corrigido ^b mmoles/L
0 hora	11091	720,6E-6	20,9E-3	1,44	1,44
02 horas	30467	1,5E-3	44,5E-3	3,07	3,09
04 horas	52880	2,5E-3	71,7E-3	4,94	5,01
06 horas	73669	3,3E-3	97,0E-3	6,69	6,82
08 horas	90627	4,1E-3	117,6E-3	8,11	8,34
10 horas	104041	4,6E-3	133,9E-3	9,23	9,59
12 horas	121554	5,4E-3	155,2E-3	10,70	11,19
14 horas	134805	5,9E-3	171,3E-3	11,81	12,45
24 horas	194143	8,4E-3	243,4E-3	16,79	17,60
30 horas	201561	8,7E-3	252,5E-3	17,41	18,47
56 horas	229639	9,9E-3	286,7E-3	19,77	21,08
100,00 mg Ni/L - B					
Tempo	Área Encontrada	CH ₄ mmoles	CH ₄ (HS) ^a mmoles	CH ₄ mmoles/L	CH ₄ corrigido ^b mmoles/L
0 hora	5409	482,4E-6	14,0E-3	0,96	0,96
02 horas	15489	905,0E-6	26,2E-3	1,81	1,82
04 horas	24352	1,3E-3	37,0E-3	2,55	2,59
06 horas	36103	1,8E-3	51,3E-3	3,54	3,62
08 horas	43406	2,1E-3	60,2E-3	4,15	4,28
10 horas	50709	2,4E-3	69,1E-3	4,76	4,95
12 horas	59792	2,8E-3	80,1E-3	5,52	5,78
14 horas	68032	3,1E-3	90,1E-3	6,22	6,55
24 horas	124842	5,5E-3	159,2E-3	10,98	11,41
30 horas	134104	5,9E-3	170,4E-3	11,75	12,34
56 horas	165775	7,2E-3	208,9E-3	14,41	15,17

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

Continuação.

TABELA 31 - Resultados obtidos no experimento 05, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

200,00 mg Ni/L - A					
Tempo	Área Encontrada	CH ₄ mmoles	CH ₄ (HS) ^a mmoles	CH ₄ mmoles/L	CH ₄ corrigido ^b mmoles/L
0 hora	4827	458,0E-6	13,3E-3	0,92	0,92
02 horas	18688	1,0E-3	30,1E-3	2,08	2,09
04 horas	32353	1,6E-3	46,7E-3	3,22	3,27
06 horas	42723	2,0E-3	59,4E-3	4,09	4,18
08 horas	52216	2,4E-3	70,9E-3	4,89	5,04
10 horas	59594	2,8E-3	79,9E-3	5,51	5,73
12 horas	69802	3,2E-3	92,3E-3	6,36	6,66
14 horas	80056	3,6E-3	104,7E-3	7,22	7,62
24 horas	139889	6,1E-3	177,5E-3	12,24	12,74
30 horas	161169	7,0E-3	203,3E-3	14,02	14,70
56 horas	214870	9,3E-3	268,6E-3	18,53	19,40
200,00 mg Ni/L - B					
Tempo	Área Encontrada	CH ₄ mmoles	CH ₄ (HS) ^a mmoles	CH ₄ mmoles/L	CH ₄ corrigido ^b mmoles/L
0 hora	13048	802,6E-6	23,3E-3	1,61	1,61
02 horas	36522	1,8E-3	51,8E-3	3,57	3,60
04 horas	58003	2,7E-3	77,9E-3	5,37	5,45
06 horas	79493	3,6E-3	104,1E-3	7,18	7,33
08 horas	95507	4,3E-3	123,5E-3	8,52	8,78
10 horas	101451	4,5E-3	130,7E-3	9,02	9,40
12 horas	118216	5,2E-3	151,1E-3	10,42	10,93
14 horas	130441	5,7E-3	166,0E-3	11,45	12,11
24 horas	184395	8,0E-3	231,6E-3	15,97	16,80
30 horas	185387	8,0E-3	232,8E-3	16,05	17,11
56 horas	207577	9,0E-3	259,8E-3	17,92	19,21

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

TABELA 32 - Resultados obtidos no experimento 06, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

Controle A	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 hora	1949	337,3E-6	9,8E-3	0,67	0,67
02 horas	18256	1,0E-3	29,6E-3	2,04	2,05
04 horas	34642	1,7E-3	49,5E-3	3,42	3,46
06 horas	61378	2,8E-3	82,0E-3	5,66	5,75
08 horas	77578	3,5E-3	101,7E-3	7,02	7,19
10 horas	96747	4,3E-3	125,0E-3	8,62	8,90
12 horas	108331	4,8E-3	139,1E-3	9,59	9,99
24 horas	182695	7,9E-3	229,5E-3	15,83	16,37
Controle B	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 hora	1123	302,7E-6	8,8E-3	0,61	0,61
02 horas	5100	469,4E-6	13,6E-3	0,94	0,95
04 horas	18338	1,0E-3	29,7E-3	2,05	2,07
06 horas	35850	1,8E-3	51,0E-3	3,52	3,57
08 horas	45986	2,2E-3	63,3E-3	4,37	4,47
10 horas	58854	2,7E-3	79,0E-3	5,45	5,61
12 horas	68257	3,1E-3	90,4E-3	6,23	6,48
24 horas	150187	6,6E-3	190,0E-3	13,10	13,44
50,00 mg Ni/L -A	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 hora	2658	367,1E-6	10,6E-3	0,73	0,73
02 horas	18585	1,0E-3	30,0E-3	2,07	2,08
04 horas	39423	1,9E-3	55,3E-3	3,82	3,86
06 horas	73097	3,3E-3	96,3E-3	6,64	6,74
08 horas	88963	4,0E-3	115,6E-3	7,97	8,16
10 horas	113549	5,0E-3	145,5E-3	10,03	10,34
12 horas	129530	5,7E-3	164,9E-3	11,37	11,82
24 horas	176303	7,6E-3	221,7E-3	15,29	15,91
50,00 mg Ni/L-B	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 hora	1669	325,6E-6	9,4E-3	0,65	0,65
02 horas	10789	707,9E-6	20,5E-3	1,42	1,43
04 horas	26834	1,4E-3	40,0E-3	2,76	2,79
06 horas	49123	2,3E-3	67,1E-3	4,63	4,70
08 horas	60694	2,8E-3	81,2E-3	5,60	5,74
10 horas	79429	3,6E-3	104,0E-3	7,17	7,39
12 horas	87833	3,9E-3	114,2E-3	7,88	8,20
24 horas	163977	7,1E-3	206,8E-3	14,26	14,70
75,00 mg Ni/L-A	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 hora	1453	316,5E-6	9,2E-3	0,63	0,63
02 horas	17130	973,7E-6	28,2E-3	1,95	1,96
04 horas	37536	1,8E-3	53,0E-3	3,66	3,70
06 horas	66036	3,0E-3	87,7E-3	6,05	6,14
08 horas	80597	3,6E-3	105,4E-3	7,27	7,45
10 horas	102232	4,5E-3	131,7E-3	9,08	9,37
12 horas	115853	5,1E-3	148,3E-3	10,22	10,64
24 horas	180770	7,8E-3	227,2E-3	15,67	16,23

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

Continuação

TABELA 32 - Resultados obtidos no experimento 06, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

75,00 mg Ni/L-B	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	3242	391,5E-6	11,4E-3	0,78	0,78
02 horas	14093	846,4E-6	24,5E-3	1,69	1,70
04 horas	30984	1,6E-3	45,1E-3	3,11	3,14
06 horas	58218	2,7E-3	78,2E-3	5,39	5,47
08 horas	71211	3,2E-3	94,0E-3	6,48	6,64
10 horas	90633	4,1E-3	117,6E-3	8,11	8,36
12 horas	101313	4,5E-3	130,6E-3	9,01	9,38
24 horas	169431	7,4E-3	213,4E-3	14,72	15,22
100,00 mg Ni/L-A	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	1190	305,5E-6	8,9E-3	0,61	0,61
02 horas	9050	635,0E-6	18,4E-3	1,27	1,28
04 horas	20979	1,1E-3	32,9E-3	2,27	2,30
06 horas	37403	1,8E-3	52,9E-3	3,65	3,71
08 horas	49102	2,3E-3	67,1E-3	4,63	4,74
10 horas	60889	2,8E-3	81,4E-3	5,62	5,80
12 horas	70509	3,2E-3	93,1E-3	6,42	6,68
24 horas	150916	6,6E-3	190,9E-3	13,16	13,52
100,00 mg Ni/L-B	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	3682	410,0E-6	11,9E-3	0,82	0,82
02 horas	19380	1,1E-3	31,0E-3	2,14	2,15
04 horas	44199	2,1E-3	61,1E-3	4,22	4,26
06 horas	78764	3,6E-3	103,2E-3	7,12	7,22
08 horas	96204	4,3E-3	124,4E-3	8,58	8,78
10 horas	120568	5,3E-3	154,0E-3	10,62	10,95
12 horas	135200	5,9E-3	171,8E-3	11,85	12,33
24 horas	180497	7,8E-3	226,8E-3	15,64	16,30
200,00 mg Ni/L-A	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	3745	412,6E-6	12,0E-3	0,83	0,83
02 horas	19451	1,1E-3	31,1E-3	2,14	2,15
04 horas	42568	2,0E-3	59,2E-3	4,08	4,12
06 horas	72090	3,3E-3	95,1E-3	6,56	6,66
08 horas	84943	3,8E-3	110,7E-3	7,63	7,83
10 horas	107022	4,7E-3	137,5E-3	9,48	9,79
12 horas	121853	5,4E-3	155,6E-3	10,73	11,17
24 horas	184570	8,0E-3	231,8E-3	15,99	16,59
200,00 mg Ni/L-B	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	1908	335,6E-6	9,7E-3	0,67	0,67
02 horas	13094	804,6E-6	23,3E-3	1,61	1,62
04 horas	28311	1,4E-3	41,8E-3	2,88	2,92
06 horas	49961	2,4E-3	68,2E-3	4,70	4,78
08 horas	60547	2,8E-3	81,0E-3	5,59	5,73
10 horas	73667	3,3E-3	97,0E-3	6,69	6,91
12 horas	84523	3,8E-3	110,2E-3	7,60	7,92
24 horas	155405	6,8E-3	196,3E-3	13,54	13,97

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \approx 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

TABELA 33 - Resultados obtidos no experimento 07, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

Controle A	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 hora	7373	564,7E-6	16,5E-3	1,13	1,13
1 hora	11872	753,3E-6	22,0E-3	1,51	1,52
2.5 horas	23586	1,2E-3	36,3E-3	2,49	2,53
4 horas	37193	1,8E-3	53,0E-3	3,63	3,70
5.5 horas	54470	2,5E-3	74,1E-3	5,08	5,21
8 horas	69663	3,2E-3	92,7E-3	6,35	6,55
9.5 horas	90346	4,0E-3	118,1E-3	8,09	8,38
11 horas	104086	4,6E-3	134,9E-3	9,24	9,65
25 horas	214113	9,2E-3	269,6E-3	18,46	19,01
35.5 horas	184567	8,0E-3	233,4E-3	15,99	16,80
59.5 horas	246354	10,6E-3	309,0E-3	21,17	22,22
137.5 horas	311696	13,3E-3	389,0E-3	26,64	28,00
151 horas	271356	11,6E-3	339,6E-3	23,26	25,01
203.5 horas	249222	10,7E-3	312,5E-3	21,41	23,49
300.5 horas	284118	12,2E-3	355,3E-3	24,33	26,73
Controle B	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 hora	1139	303,4E-6	8,9E-3	0,61	0,61
1 hora	4825	457,9E-6	13,4E-3	0,92	0,92
2.5 horas	13659	828,2E-6	24,2E-3	1,66	1,68
4 horas	27326	1,4E-3	40,9E-3	2,80	2,85
5.5 horas	39139	1,9E-3	55,4E-3	3,79	3,88
8 horas	52254	2,4E-3	71,4E-3	4,89	5,04
9.5 horas	62969	2,9E-3	84,5E-3	5,79	6,00
11 horas	72470	3,3E-3	96,2E-3	6,59	6,89
25 horas	147504	6,4E-3	188,0E-3	12,88	13,27
35.5 horas	162394	7,1E-3	206,3E-3	14,13	14,71
59.5 horas	266970	11,4E-3	334,3E-3	22,89	23,68
137.5 horas	370396	15,8E-3	460,9E-3	31,57	32,69
151 horas	342766	14,6E-3	427,0E-3	29,25	30,83
203.5 horas	327328	14,0E-3	408,1E-3	27,96	29,97
300.5 horas	375383	16,0E-3	467,0E-3	31,98	34,40
1,0 mg Ni/L - A	Área	CH₄	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 hora	2587	364,1E-6	10,6E-3	0,73	0,73
1 hora	7942	588,6E-6	17,2E-3	1,18	1,19
2.5 horas	22348	1,2E-3	34,8E-3	2,38	2,41
4 horas	36148	1,8E-3	51,7E-3	3,54	3,60
5.5 horas	47055	2,2E-3	65,1E-3	4,46	4,57
8 horas	66228	3,0E-3	88,5E-3	6,06	6,24
9.5 horas	75761	3,4E-3	100,2E-3	6,86	7,13
11 horas	91604	4,1E-3	119,6E-3	8,19	8,56
25 horas	150580	6,6E-3	191,8E-3	13,14	13,62
35.5 horas	179596	7,8E-3	227,3E-3	15,57	16,25
59.5 horas	249109	10,7E-3	312,4E-3	21,40	22,30
137.5 horas	333372	14,2E-3	415,5E-3	28,46	29,68
151 horas	227724	9,8E-3	286,2E-3	19,60	21,24
203.5 horas	232328	10,0E-3	291,9E-3	19,99	21,91
300.5 horas	278976	12,0E-3	349,0E-3	23,90	26,11

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

Continuação.

TABELA 33 - Resultados obtidos no experimento 07, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

1,0 mg Ni/L - B	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/l	mmoles/L
0 hora	2388	355,7E-6	10,4E-3	0,71	0,71
1 hora	10915	713,2E-6	20,8E-3	1,43	1,44
2.5 horas	23768	1,3E-3	36,6E-3	2,50	2,54
4 horas	33739	1,7E-3	48,8E-3	3,34	3,41
5.5 horas	43955	2,1E-3	61,3E-3	4,20	4,31
8 horas	63081	2,9E-3	84,7E-3	5,80	5,98
9.5 horas	66160	3,0E-3	88,5E-3	6,06	6,32
11 horas	85086	3,8E-3	111,6E-3	7,65	8,00
25 horas	165800	7,2E-3	210,4E-3	14,41	14,87
35.5 horas	187070	8,1E-3	236,5E-3	16,20	16,87
59.5 horas	299539	12,8E-3	374,1E-3	25,63	26,53
137.5 horas	386898	16,5E-3	481,1E-3	32,95	34,23
151 horas	325363	13,9E-3	405,7E-3	27,79	29,56
203.5 horas	356774	15,2E-3	444,2E-3	30,42	32,59
300.5 horas	390473	16,6E-3	485,4E-3	33,25	35,86
1,5 mg Ni/L - A	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/l	mmoles/L
0 hora	4059	425,8E-6	12,4E-3	0,85	0,85
1 hora	12172	765,9E-6	22,4E-3	1,53	1,54
2.5 horas	34278	1,7E-3	49,4E-3	3,39	3,42
4 horas	48926	2,3E-3	67,4E-3	4,61	4,70
5.5 horas	68272	3,1E-3	91,0E-3	6,24	6,39
8 horas	86828	3,9E-3	113,8E-3	7,79	8,03
9.5 horas	102060	4,5E-3	132,4E-3	9,07	9,42
11 horas	118163	5,2E-3	152,1E-3	10,42	10,91
25 horas	235185	10,1E-3	295,4E-3	20,23	20,87
35.5 horas	235980	10,1E-3	296,3E-3	20,30	21,23
59.5 horas	321723	13,7E-3	401,3E-3	27,49	28,72
137.5 horas	375237	16,0E-3	466,8E-3	31,97	33,61
151 horas	347243	14,8E-3	432,5E-3	29,63	31,73
203.5 horas	350359	14,9E-3	436,3E-3	29,89	32,42
300.5 horas	381994	16,3E-3	475,1E-3	32,54	35,51
1,5 mg Ni/L - B	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/l	mmoles/L
0 hora	1525	319,6E-6	9,3E-3	0,64	0,64
1 hora	4896	460,9E-6	13,5E-3	0,92	0,93
2.5 horas	21365	1,2E-3	33,6E-3	2,30	2,33
4 horas	30070	1,5E-3	44,3E-3	3,03	3,09
5.5 horas	41146	2,0E-3	57,8E-3	3,96	4,06
8 horas	59455	2,7E-3	80,2E-3	5,50	5,65
9.5 horas	64777	3,0E-3	86,8E-3	5,94	6,18
11 horas	76448	3,5E-3	101,0E-3	6,92	7,25
25 horas	160035	7,0E-3	203,4E-3	13,93	14,36
35.5 horas	178876	7,8E-3	226,4E-3	15,51	16,14
59.5 horas	282634	12,1E-3	353,4E-3	24,21	25,06
137.5 horas	371574	15,8E-3	462,3E-3	31,67	32,87
151 horas	335601	14,3E-3	418,3E-3	28,65	30,32
203.5 horas	344086	14,7E-3	428,7E-3	29,36	31,45
300.5 horas	359948	15,3E-3	448,1E-3	30,69	33,21

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

Continuação.

TABELA 33 - Resultados obtidos no experimento 07, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

2,0 mg Ni/L - A	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmolesV	mmoles/L
0 hora	5883	502,3E-6	14,7E-3	1,00	1,00
1 hora	17132	973,8E-6	28,4E-3	1,95	1,96
2.5 horas	38043	1,9E-3	54,0E-3	3,70	3,74
4 horas	55597	2,6E-3	75,5E-3	5,17	5,27
5.5 horas	81125	3,7E-3	106,8E-3	7,31	7,49
8 horas	107571	4,8E-3	139,1E-3	9,53	9,81
9.5 horas	118603	5,2E-3	152,6E-3	10,46	10,87
11 horas	142666	6,2E-3	182,1E-3	12,47	13,04
25 horas	267802	11,5E-3	335,3E-3	22,96	23,72
35.5 horas	249282	10,7E-3	312,6E-3	21,41	22,50
59.5 horas	349824	14,9E-3	435,7E-3	29,84	31,24
137.5 horas	384846	16,4E-3	478,6E-3	32,78	34,61
151 horas	309735	13,2E-3	386,6E-3	26,48	28,80
203.5 horas	368287	15,7E-3	458,3E-3	31,39	34,09
300.5 horas	414975	17,7E-3	515,4E-3	35,30	38,46
2,0 mg Ni/L - B	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmolesV	mmoles/L
0 hora	9537	655,4E-6	19,1E-3	1,31	1,31
1 hora	25600	1,3E-3	38,8E-3	2,66	2,68
2.5 horas	59187	2,7E-3	79,9E-3	5,47	5,53
4 horas	75062	3,4E-3	99,3E-3	6,80	6,94
5.5 horas	107039	4,7E-3	138,5E-3	9,49	9,72
8 horas	140441	6,1E-3	179,4E-3	12,29	12,66
9.5 horas	156109	6,8E-3	198,6E-3	13,60	14,15
11 horas	184891	8,0E-3	233,8E-3	16,01	16,77
25 horas	302803	12,9E-3	378,1E-3	25,90	26,89
35.5 horas	258916	11,1E-3	324,4E-3	22,22	23,59
59.5 horas	360124	15,4E-3	448,3E-3	30,71	32,39
137.5 horas	416904	17,7E-3	517,8E-3	35,47	37,60
151 horas	388395	16,5E-3	482,9E-3	33,08	35,73
203.5 horas	392691	16,7E-3	488,2E-3	33,44	36,57
300.5 horas	317145	13,6E-3	395,7E-3	27,10	30,73
2,5 mg Ni/L - A	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmolesV	mmoles/L
0 hora	3133	387,0E-6	11,3E-3	0,77	0,77
1 hora	10852	710,6E-6	20,7E-3	1,42	1,43
2.5 horas	29534	1,5E-3	43,6E-3	2,99	3,02
4 horas	36859	1,8E-3	52,6E-3	3,60	3,68
5.5 horas	48660	2,3E-3	67,0E-3	4,59	4,72
8 horas	62813	2,9E-3	84,4E-3	5,78	5,97
9.5 horas	74038	3,4E-3	98,1E-3	6,72	7,00
11 horas	93985	4,2E-3	122,5E-3	8,39	8,77
25 horas	195325	8,4E-3	246,6E-3	16,89	17,39
35.5 horas	178714	7,7E-3	226,2E-3	15,50	16,24
59.5 horas	252563	10,8E-3	316,6E-3	21,69	22,66
137.5 horas	309065	13,2E-3	385,8E-3	26,42	27,71
151 horas	211339	9,1E-3	266,2E-3	18,23	19,91
203.5 horas	228155	9,8E-3	286,7E-3	19,64	21,58
300.5 horas	263619	11,3E-3	330,2E-3	22,61	24,84

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \approx 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

Continuação.

TABELA 33 - Resultados obtidos no experimento 07, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

2,5 mg Ni/L - B	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/l	mmoles/L
0 hora	5939	504,6E-6	14,7E-3	1,01	1,01
1 hora	15316	897,7E-6	26,2E-3	1,80	1,81
2.5 horas	5433	483,4E-6	14,1E-3	0,97	1,01
4 horas	49813	2,3E-3	68,4E-3	4,69	4,74
5.5 horas	64460	3,0E-3	86,4E-3	5,92	6,04
8 horas	94413	4,2E-3	123,0E-3	8,43	8,64
9.5 horas	101395	4,5E-3	131,6E-3	9,01	9,35
11 horas	122411	5,4E-3	157,3E-3	10,77	11,24
25 horas	242791	10,4E-3	304,7E-3	20,87	21,49
35.5 horas	234907	10,1E-3	295,0E-3	20,21	21,13
59.5 horas	347000	14,8E-3	432,2E-3	29,60	30,83
137.5 horas	406340	17,3E-3	504,9E-3	34,58	36,23
151 horas	363507	15,5E-3	452,4E-3	30,99	33,15
203.5 horas	367306	15,7E-3	457,1E-3	31,31	33,92
300.5 horas	415470	17,7E-3	516,0E-3	35,35	38,41

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

TABELA 34 - Resultados obtidos no experimento 08, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

Controle A	Área	CH ₄ amostra	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	2723	369,8E-6	10,8E-3	0,74	0,74
1,5 hora	89385	4,0E-3	116,9E-3	8,01	8,02
3,0 horas	24404	1,3E-3	37,3E-3	2,56	2,69
4,5 horas	38847	1,9E-3	55,0E-3	3,77	3,93
6,0 horas	48942	2,3E-3	67,4E-3	4,61	4,83
7,5 horas	57104	2,6E-3	77,4E-3	5,30	5,59
9,0 horas	60181	2,8E-3	81,1E-3	5,56	5,92
10,5 horas	70355	3,2E-3	93,6E-3	6,41	6,86
12,0 horas	66942	3,1E-3	89,4E-3	6,12	6,66
25,5 horas	150071	6,5E-3	191,2E-3	13,09	13,72
30 horas	165163	7,2E-3	209,6E-3	14,36	15,18
42,5 horas	213601	9,2E-3	268,9E-3	18,42	19,45
126 horas	364585	15,5E-3	453,8E-3	31,08	32,38
147,5 horas	354691	15,1E-3	441,6E-3	30,25	32,00
Controle B	Área	CH ₄ amostra	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	3049	383,5E-6	11,2E-3	0,77	0,77
1,5 hora	25813	1,3E-3	39,1E-3	2,68	2,69
3,0 horas	32815	1,6E-3	47,6E-3	3,26	3,31
4,5 horas	50218	2,4E-3	68,9E-3	4,72	4,82
6,0 horas	62056	2,9E-3	83,4E-3	5,71	5,88
7,5 horas	70884	3,2E-3	94,2E-3	6,45	6,70
9,0 horas	80802	3,6E-3	106,4E-3	7,29	7,63
10,5 horas	94285	4,2E-3	122,9E-3	8,42	8,87
12,0 horas	92650	4,1E-3	120,9E-3	8,28	8,84
25,5 horas	202849	8,8E-3	255,8E-3	17,52	18,16
30 horas	217361	9,4E-3	273,5E-3	18,74	19,59
42,5 horas	266067	11,4E-3	333,2E-3	22,82	23,88
126 horas	349838	14,9E-3	435,7E-3	29,84	31,15
147,5 horas	332971	14,2E-3	415,1E-3	28,43	30,08
1,0 mg Ni/L - A	Área	CH ₄ amostra	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	6467	526,7E-6	15,4E-3	1,05	1,05
1,5 hora	40963	2,0E-3	57,6E-3	3,95	3,96
3,0 horas	59750	2,8E-3	80,6E-3	5,52	5,59
4,5 horas	77534	3,5E-3	102,4E-3	7,01	7,17
6,0 horas	92256	4,1E-3	120,4E-3	8,25	8,50
7,5 horas	102257	4,5E-3	132,6E-3	9,08	9,46
9,0 horas	114020	5,0E-3	147,0E-3	10,07	10,58
10,5 horas	139242	6,1E-3	177,9E-3	12,19	12,84
12,0 horas	130790	5,7E-3	167,6E-3	11,48	12,30
25,5 horas	281010	12,0E-3	351,4E-3	24,07	25,00
30 horas	233489	10,0E-3	293,3E-3	20,09	21,29
42,5 horas	252017	10,8E-3	316,0E-3	21,64	23,03
126 horas	314484	13,4E-3	392,4E-3	26,88	28,46
147,5 horas	219645	9,5E-3	276,3E-3	18,93	20,77

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

Continuação.

TABELA 34 - Resultados obtidos no experimento 08, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

1,0 mg Ni/L - B	Área	CH ₄ amostra	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	2080	342,8E-6	10,0E-3	0,69	0,69
1,5 hora	12125	763,9E-6	22,3E-3	1,53	1,54
3,0 horas	34262	1,7E-3	49,4E-3	3,38	3,42
4,5 horas	36354	1,8E-3	52,0E-3	3,56	3,64
6,0 horas	47795	2,3E-3	66,0E-3	4,52	4,65
7,5 horas	60643	2,8E-3	81,7E-3	5,60	5,80
9,0 horas	65621	3,0E-3	87,8E-3	6,01	6,29
10,5 horas	71423	3,2E-3	94,9E-3	6,50	6,87
12,0 horas	76908	3,5E-3	101,6E-3	6,96	7,41
25,5 horas	168455	7,3E-3	213,7E-3	14,63	15,17
30 horas	182301	7,9E-3	230,6E-3	15,80	16,49
42,5 horas	228304	9,8E-3	286,9E-3	19,65	20,53
126 horas	361697	15,4E-3	450,2E-3	30,84	31,93
147,5 horas	330356	14,1E-3	411,9E-3	28,21	29,67
1,5 mg Ni/L - A	Área	CH ₄ amostra	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	2288	351,6E-6	10,3E-3	0,70	0,70
1,5 hora	30130	1,5E-3	44,3E-3	3,04	3,05
3,0 horas	44443	2,1E-3	61,9E-3	4,24	4,29
4,5 horas	59704	2,8E-3	80,5E-3	5,52	5,63
6,0 horas	67804	3,1E-3	90,5E-3	6,20	6,39
7,5 horas	76195	3,4E-3	100,7E-3	6,90	7,19
9,0 horas	89450	4,0E-3	117,0E-3	8,01	8,40
10,5 horas	98015	4,4E-3	127,4E-3	8,73	9,23
12,0 horas	101203	4,5E-3	131,3E-3	9,00	9,62
25,5 horas	227318	9,8E-3	285,7E-3	19,57	20,28
30 horas	244618	10,5E-3	306,9E-3	21,02	21,95
42,5 horas	293665	12,6E-3	366,9E-3	25,13	26,29
126 horas	385017	16,4E-3	478,8E-3	32,79	34,23
147,5 horas	348355	14,9E-3	433,9E-3	29,72	31,53
1,5 mg Ni/L - B	Área	CH ₄ amostra	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	2764	371,5E-6	10,8E-3	0,74	0,74
1,5 hora	25415	1,3E-3	38,6E-3	2,64	2,65
3,0 horas	27658	1,4E-3	41,3E-3	2,83	2,88
4,5 horas	39761	1,9E-3	56,1E-3	3,84	3,94
6,0 horas	51379	2,4E-3	70,4E-3	4,82	4,97
7,5 horas	52881	2,5E-3	72,2E-3	4,94	5,16
9,0 horas	61489	2,8E-3	82,7E-3	5,67	5,96
10,5 horas	71978	3,3E-3	95,6E-3	6,55	6,92
12,0 horas	70341	3,2E-3	93,6E-3	6,41	6,87
25,5 horas	160593	7,0E-3	204,0E-3	13,98	14,49
30 horas	174310	7,6E-3	220,8E-3	15,13	15,80
42,5 horas	217927	9,4E-3	274,2E-3	18,78	19,62
126 horas	341981	14,6E-3	426,1E-3	29,18	30,23
147,5 horas	321827	13,7E-3	401,4E-3	27,49	28,89

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

Continuação.

TABELA 34 - Resultados obtidos no experimento 08, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

2,0 mg Ni/L - A	Área	CH ₄ amostra	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	3684	410,1E-6	12,0E-3	0,82	0,82
1,5 hora	33893	1,7E-3	49,0E-3	3,35	3,36
3,0 horas	46141	2,2E-3	63,9E-3	4,38	4,44
4,5 horas	64509	3,0E-3	86,4E-3	5,92	6,04
6,0 horas	79404	3,6E-3	104,7E-3	7,17	7,38
7,5 horas	87907	3,9E-3	115,1E-3	7,88	8,20
9,0 horas	99619	4,4E-3	129,4E-3	8,86	9,29
10,5 horas	110817	4,9E-3	143,1E-3	9,80	10,36
12,0 horas	110483	4,9E-3	142,7E-3	9,77	10,47
25,5 horas	249927	10,7E-3	313,4E-3	21,47	22,25
30 horas	263784	11,3E-3	330,4E-3	22,63	23,66
42,5 horas	302342	12,9E-3	377,6E-3	25,86	27,14
126 horas	380495	16,2E-3	473,2E-3	32,41	33,96
147,5 horas	325770	13,9E-3	406,2E-3	27,82	29,73
2,0 mg Ni/L - B	Área	CH ₄ amostra	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	2083	343,0E-6	10,0E-3	0,69	0,69
1,5 hora	19103	1,1E-3	30,8E-3	2,11	2,12
3,0 horas	27945	1,4E-3	41,7E-3	2,85	2,90
4,5 horas	41884	2,0E-3	58,7E-3	4,02	4,11
6,0 horas	52248	2,4E-3	71,4E-3	4,89	5,03
7,5 horas	55263	2,6E-3	75,1E-3	5,14	5,36
9,0 horas	61766	2,8E-3	83,1E-3	5,69	5,98
10,5 horas	67564	3,1E-3	90,2E-3	6,18	6,55
12,0 horas	67973	3,1E-3	90,7E-3	6,21	6,66
25,5 horas	156624	6,8E-3	199,2E-3	13,64	14,15
30 horas	169384	7,4E-3	214,8E-3	14,71	15,38
42,5 horas	218171	9,4E-3	274,5E-3	18,80	19,63
126 horas	348555	14,9E-3	434,1E-3	29,74	30,76
147,5 horas	335447	14,3E-3	418,1E-3	28,64	30,02
2,5 mg Ni/L - A	Área	CH ₄	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	3593	406,3E-6	11,9E-3	0,81	0,81
1,5 hora	26900	1,4E-3	40,4E-3	2,77	2,78
3,0 horas	45478	2,2E-3	63,1E-3	4,32	4,38
4,5 horas	60642	2,8E-3	81,7E-3	5,60	5,71
6,0 horas	73552	3,3E-3	97,5E-3	6,68	6,88
7,5 horas	64529	3,0E-3	86,5E-3	5,92	6,22
9,0 horas	93964	4,2E-3	122,5E-3	8,39	8,77
10,5 horas	101504	4,5E-3	131,7E-3	9,02	9,53
12,0 horas	104747	4,6E-3	135,7E-3	9,29	9,92
25,5 horas	240689	10,3E-3	302,1E-3	20,69	21,41
30 horas	250921	10,8E-3	314,6E-3	21,55	22,51
42,5 horas	291263	12,5E-3	364,0E-3	24,93	26,12
126 horas	371652	15,8E-3	462,4E-3	31,67	33,13
147,5 horas	205777	8,9E-3	259,4E-3	17,76	19,60

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

Continuação.

TABELA 34 - Resultados obtidos no experimento 08, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

2,5 mg Ni/L - B	Área	CH₄ amostra	CH₄ (HS)^a	CH₄	CH₄ corrigido^b
<i>Tempo</i>	<i>Encontrada</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles</i>	<i>mmoles/L</i>	<i>mmoles/L</i>
0 hora	1601	322,8E-6	9,4E-3	0,65	0,65
1,5 hora	12942	798,2E-6	23,3E-3	1,60	1,61
3,0 horas	30174	1,5E-3	44,4E-3	3,04	3,07
4,5 horas	34834	1,7E-3	50,1E-3	3,43	3,51
6,0 horas	48943	2,3E-3	67,4E-3	4,61	4,74
7,5 horas	57026	2,6E-3	77,3E-3	5,29	5,49
9,0 horas	58533	2,7E-3	79,1E-3	5,42	5,69
10,5 horas	66371	3,0E-3	88,7E-3	6,08	6,43
12,0 horas	66147	3,0E-3	88,4E-3	6,06	6,49
25,5 horas	162698	7,1E-3	206,6E-3	14,15	14,65
30 horas	167317	7,3E-3	212,3E-3	14,54	15,20
42,5 horas	219190	9,4E-3	275,8E-3	18,89	19,71
126 horas	372995	15,9E-3	464,0E-3	31,78	32,81
147,5 horas	343691	14,7E-3	428,2E-3	29,33	30,74

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

TABELA 35 - Resultados obtidos no experimento 09, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

Controle A		Área	CH ₄ amostra	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	2103	343,8E-6	10,0E-3	0,69	0,69	
2 horas	9382	648,9E-6	18,9E-3	1,30	1,31	
4 horas	18047	1,0E-3	29,6E-3	2,02	2,05	
6 horas	28484	1,4E-3	42,3E-3	2,90	2,96	
8 horas	34831	1,7E-3	50,1E-3	3,43	3,53	
10 horas	45313	2,2E-3	62,9E-3	4,31	4,46	
12 horas	52296	2,4E-3	71,5E-3	4,90	5,11	
18 horas	72790	3,3E-3	96,6E-3	6,61	6,90	
24 horas	113453	5,0E-3	146,3E-3	10,02	10,41	
30 horas	130454	5,7E-3	167,2E-3	11,45	11,98	
36 horas	166041	7,2E-3	210,7E-3	14,43	15,13	
48 horas	222182	9,6E-3	279,4E-3	19,14	20,05	
59 horas	222521	9,6E-3	279,9E-3	19,17	20,35	
72 horas	262500	11,3E-3	328,8E-3	22,52	23,99	
80 horas	262484	11,3E-3	328,8E-3	22,52	24,31	
126 horas	311019	13,3E-3	388,2E-3	26,59	28,71	
Controle B						
Tempo	Área Encontrada	CH ₄ amostra mmoles	CH ₄ (HS) ^a mmoles	CH ₄ mmoles/L	CH ₄ corrigido ^b mmoles/L	
0 hora	1808	331,4E-6	9,7E-3	0,66	0,66	
2 horas	5925	504,0E-6	14,7E-3	1,01	1,02	
4 horas	16446	945,1E-6	27,6E-3	1,89	1,91	
6 horas	25333	1,3E-3	38,5E-3	2,64	2,69	
8 horas	35269	1,7E-3	50,6E-3	3,47	3,56	
10 horas	44351	2,1E-3	61,8E-3	4,23	4,37	
12 horas	51538	2,4E-3	70,6E-3	4,83	5,04	
18 horas	77088	3,5E-3	101,8E-3	6,97	7,25	
24 horas	114194	5,0E-3	147,2E-3	10,09	10,45	
30 horas	132404	5,8E-3	169,5E-3	11,61	12,11	
36 horas	171320	7,4E-3	217,2E-3	14,88	15,52	
48 horas	224613	9,7E-3	282,4E-3	19,34	20,16	
59 horas	240591	10,3E-3	302,0E-3	20,68	21,73	
72 horas	262291	11,3E-3	328,5E-3	22,50	23,79	
80 horas	288543	12,4E-3	360,7E-3	24,70	26,52	
126 horas	302384	12,9E-3	377,6E-3	25,86	28,02	
0,0001 mg Ni/L-A						
Tempo	Área Encontrada	CH ₄ amostra mmoles	CH ₄ (HS) ^a mmoles	CH ₄ mmoles/L	CH ₄ corrigido ^b mmoles/L	
0 hora	1600	322,7E-6	9,4E-3	0,65	0,65	
2 horas	9111	637,6E-6	18,6E-3	1,28	1,28	
4 horas	16293	938,7E-6	27,4E-3	1,88	1,91	
6 horas	27692	1,4E-3	41,4E-3	2,83	2,89	
8 horas	33937	1,7E-3	49,0E-3	3,36	3,45	
10 horas	47453	2,2E-3	65,6E-3	4,49	4,64	
12 horas	52248	2,4E-3	71,4E-3	4,89	5,10	
18 horas	80855	3,6E-3	106,4E-3	7,29	7,57	
24 horas	116696	5,1E-3	150,3E-3	10,30	10,68	
30 horas	132637	5,8E-3	169,8E-3	11,63	12,14	
36 horas	168959	7,3E-3	214,3E-3	14,68	15,33	
48 horas	222680	9,6E-3	280,0E-3	19,18	20,01	
59 horas	232900	10,0E-3	292,6E-3	20,04	21,10	
72 horas	261042	11,2E-3	327,0E-3	22,40	23,68	
80 horas	285437	12,2E-3	356,9E-3	24,44	26,26	
126 horas	297563	12,7E-3	371,7E-3	25,46	27,61	

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

Continuação.

TABELA 35 - Resultados obtidos no experimento 09, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

0,0001 mg Ni/L-B	Área	CH ₄ amostra	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	3612	407,1E-6	11,9E-3	0,81	0,81
2 horas	16831	961,2E-6	28,1E-3	1,92	1,93
4 horas	31416	1,6E-3	45,9E-3	3,15	3,19
6 horas	46750	2,2E-3	64,7E-3	4,43	4,52
8 horas	60286	2,8E-3	81,3E-3	5,57	5,72
10 horas	73355	3,3E-3	97,3E-3	6,66	6,89
12 horas	88699	4,0E-3	116,0E-3	7,95	8,28
18 horas	127544	5,6E-3	163,6E-3	11,20	11,65
24 horas	184221	8,0E-3	233,0E-3	15,96	16,55
30 horas	211463	9,1E-3	266,3E-3	18,24	19,04
36 horas	254383	10,9E-3	318,9E-3	21,84	22,86
48 horas	273378	11,7E-3	342,1E-3	23,43	24,71
59 horas	271067	11,6E-3	339,3E-3	23,24	24,78
72 horas	299265	12,8E-3	373,8E-3	25,60	27,38
80 horas	305577	13,1E-3	381,5E-3	26,13	28,60
126 horas	331301	14,1E-3	413,0E-3	28,29	31,11
0,0001 mg Ni/L-C	Área	CH ₄ amostra	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	1176	304,9E-6	8,9E-3	0,61	0,61
2 horas	7638	575,8E-6	16,8E-3	1,15	1,16
4 horas	13720	830,8E-6	24,3E-3	1,66	1,69
6 horas	21925	1,2E-3	34,3E-3	2,35	2,40
8 horas	33277	1,7E-3	48,2E-3	3,30	3,39
10 horas	37767	1,8E-3	53,7E-3	3,68	3,81
12 horas	43759	2,1E-3	61,0E-3	4,18	4,37
18 horas	67710	3,1E-3	90,3E-3	6,19	6,44
24 horas	96045	4,3E-3	125,0E-3	8,56	8,89
30 horas	112462	5,0E-3	145,1E-3	9,94	10,38
36 horas	141616	6,2E-3	180,8E-3	12,38	12,94
48 horas	187879	8,1E-3	237,4E-3	16,26	16,97
59 horas	220804	9,5E-3	277,8E-3	19,02	19,92
72 horas	272531	11,7E-3	341,1E-3	23,36	24,48
80 horas	270834	11,6E-3	339,0E-3	23,22	24,85
126 horas	295013	12,6E-3	368,6E-3	25,25	27,20
2,0 mg Ni/L- 40 mM - A	Área	CH ₄ amostra	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	1918	336,0E-6	9,8E-3	0,67	0,67
2 horas	7128	554,5E-6	16,2E-3	1,11	1,12
4 horas	12664	786,5E-6	23,0E-3	1,57	1,60
6 horas	19904	1,1E-3	31,8E-3	2,18	2,23
8 horas	29065	1,5E-3	43,0E-3	2,95	3,03
10 horas	35348	1,7E-3	50,7E-3	3,47	3,60
12 horas	41503	2,0E-3	58,3E-3	3,99	4,17
18 horas	61394	2,8E-3	82,6E-3	5,66	5,89
24 horas	89857	4,0E-3	117,5E-3	8,05	8,35
30 horas	105018	4,7E-3	136,0E-3	9,32	9,72
36 horas	132829	5,8E-3	170,1E-3	11,65	12,17
48 horas	180874	7,8E-3	228,9E-3	15,68	16,33
59 horas	209091	9,0E-3	263,4E-3	18,04	18,89
72 horas	264562	11,3E-3	331,3E-3	22,69	23,75
80 horas	286763	12,3E-3	358,5E-3	24,55	26,11
126 horas	293424	12,6E-3	366,6E-3	25,11	27,01

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

Continuação.

TABELA 35 - Resultados obtidos no experimento 09, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

2,0 mg Ni/L- 40 mM - B		Área	CH ₄ amostra	CH ₄ (HS) ^a	CH ₄	CH ₄ corrigido ^b
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	2878	376,3E-6	11,0E-3	0,75	0,75	
2 horas	9434	651,1E-6	19,0E-3	1,30	1,31	
4 horas	19217	1,1E-3	31,0E-3	2,12	2,15	
6 horas	33159	1,6E-3	48,1E-3	3,29	3,35	
8 horas	41275	2,0E-3	58,0E-3	3,97	4,08	
10 horas	52288	2,4E-3	71,5E-3	4,90	5,06	
12 horas	61151	2,8E-3	82,3E-3	5,64	5,88	
18 horas	88819	4,0E-3	116,2E-3	7,96	8,28	
24 horas	134323	5,9E-3	171,9E-3	11,77	12,20	
30 horas	154478	6,7E-3	196,6E-3	13,46	14,04	
36 horas	177864	7,7E-3	225,2E-3	15,42	16,17	
48 horas	226493	9,8E-3	284,7E-3	19,50	20,42	
59 horas	228427	9,8E-3	287,1E-3	19,66	20,81	
72 horas	263453	11,3E-3	330,0E-3	22,60	23,96	
80 horas	262578	11,3E-3	328,9E-3	22,53	24,45	
126 horas	280821	12,0E-3	351,2E-3	24,06	26,29	
2,0 mg Ni/L- 40 mM - C						
Tempo	Encontrada	mmoles	mmoles	mmoles/L	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	1912	335,8E-6	9,8E-3	0,67	0,67	
2 horas	7006	549,3E-6	16,0E-3	1,10	1,11	
4 horas	16791	959,5E-6	28,0E-3	1,92	1,94	
6 horas	27293	1,4E-3	40,9E-3	2,80	2,85	
8 horas	38124	1,9E-3	54,1E-3	3,71	3,80	
10 horas	50935	2,4E-3	69,8E-3	4,78	4,93	
12 horas	53905	2,5E-3	73,4E-3	5,03	5,25	
18 horas	81338	3,7E-3	107,0E-3	7,33	7,62	
24 horas	118224	5,2E-3	152,2E-3	10,42	10,81	
30 horas	137178	6,0E-3	175,4E-3	12,01	12,54	
36 horas	170621	7,4E-3	216,3E-3	14,82	15,49	
48 horas	225342	9,7E-3	283,3E-3	19,40	20,25	
59 horas	246124	10,6E-3	308,7E-3	21,15	22,22	
72 horas	279745	12,0E-3	349,9E-3	23,97	25,28	
80 horas	282226	12,1E-3	352,9E-3	24,17	26,05	
126 horas	293427	12,6E-3	366,6E-3	25,11	27,33	
2,0 mg Ni/L- 80 mM - A						
Tempo	Encontrada	mL	mmoles	mmoles/L	mmoles/L	mmoles/L
0 hora	5122	470,4E-6	13,7E-3	0,94	0,94	
2 horas	12093	762,6E-6	22,3E-3	1,53	1,54	
4 horas	19765	1,1E-3	31,7E-3	2,17	2,20	
6 horas	33836	1,7E-3	48,9E-3	3,35	3,42	
8 horas	41912	2,0E-3	58,8E-3	4,03	4,14	
10 horas	53166	2,5E-3	72,5E-3	4,97	5,14	
12 horas	60965	2,8E-3	82,1E-3	5,62	5,87	
18 horas	93160	4,2E-3	121,5E-3	8,32	8,65	
24 horas	133055	5,8E-3	170,3E-3	11,67	12,10	
30 horas	157128	6,8E-3	199,8E-3	13,69	14,27	
36 horas	202491	8,7E-3	255,3E-3	17,49	18,24	
48 horas	268286	11,5E-3	335,9E-3	23,01	23,97	
59 horas	310525	13,3E-3	387,6E-3	26,55	27,78	
72 horas	413590	17,6E-3	513,7E-3	35,19	36,74	
80 horas	438434	18,6E-3	544,2E-3	37,27	39,57	
126 horas	469192	19,9E-3	581,8E-3	39,85	42,67	

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

Continuação.

TABELA 35 - Resultados obtidos no experimento 09, a partir dos valores encontrados nas análises cromatográficas realizadas nos frascos-reatores.

2,0 mg Ni/L - 80 mM - B					
Tempo	Área Encontrada	CH ₄ amostra mmoles	CH ₄ (HS) ^a mmoles	CH ₄ mmoles/L	CH ₄ corrigido ^b mmoles/L
0 hora	4255	434,0E-6	12,7E-3	0,87	0,87
2 horas	12178	766,2E-6	22,4E-3	1,53	1,54
4 horas	21859	1,2E-3	34,2E-3	2,34	2,38
6 horas	34897	1,7E-3	50,2E-3	3,44	3,51
8 horas	45679	2,2E-3	63,4E-3	4,34	4,46
10 horas	60303	2,8E-3	81,3E-3	5,57	5,75
12 horas	69138	3,2E-3	92,1E-3	6,31	6,57
18 horas	100425	4,5E-3	130,4E-3	8,93	9,29
24 horas	145611	6,4E-3	185,7E-3	12,72	13,19
30 horas	167458	7,3E-3	212,5E-3	14,55	15,19
36 horas	203107	8,8E-3	256,1E-3	17,54	18,36
48 horas	283759	12,2E-3	354,8E-3	24,30	25,32
59 horas	324957	13,9E-3	405,2E-3	27,76	29,07
72 horas	437523	18,6E-3	543,0E-3	37,19	38,83
80 horas	462052	19,6E-3	573,1E-3	39,25	41,34
126 horas	456545	19,4E-3	566,3E-3	38,79	41,77
2,0 mg Ni/L - 8M - C					
Tempo	Área Encontrada	CH ₄ amostra mmoles	CH ₄ (HS) ^a mmoles	CH ₄ mmoles/L	CH ₄ corrigido ^b mmoles/L
0 hora	2148	345,7E-6	10,1E-3	0,69	0,69
2 horas	8485	611,3E-6	17,9E-3	1,22	1,23
4 horas	14843	877,9E-6	25,6E-3	1,76	1,78
6 horas	25118	1,3E-3	38,2E-3	2,62	2,67
8 horas	32048	1,6E-3	46,7E-3	3,20	3,29
10 horas	44206	2,1E-3	61,6E-3	4,22	4,36
12 horas	49699	2,3E-3	68,3E-3	4,68	4,88
18 horas	71770	3,3E-3	95,3E-3	6,53	6,80
24 horas	103746	4,6E-3	134,5E-3	9,21	9,56
30 horas	120831	5,3E-3	155,4E-3	10,64	11,11
36 horas	151191	6,6E-3	192,5E-3	13,19	13,79
48 horas	207497	9,0E-3	261,5E-3	17,91	18,66
59 horas	234263	10,1E-3	294,2E-3	20,15	21,12
72 horas	312373	13,4E-3	389,8E-3	26,70	27,90
80 horas	386738	16,5E-3	480,9E-3	32,94	34,46
126 horas	452770	19,2E-3	561,7E-3	38,47	40,72

^a(HS) - Headspace - Volume ocupado pelos gases dentro dos frascos \cong 14,5 mL.

^bCH₄ corrigido^b = Leitura de CH₄ no HS + valor da leitura anterior de CH₄ em 0,5 mL.

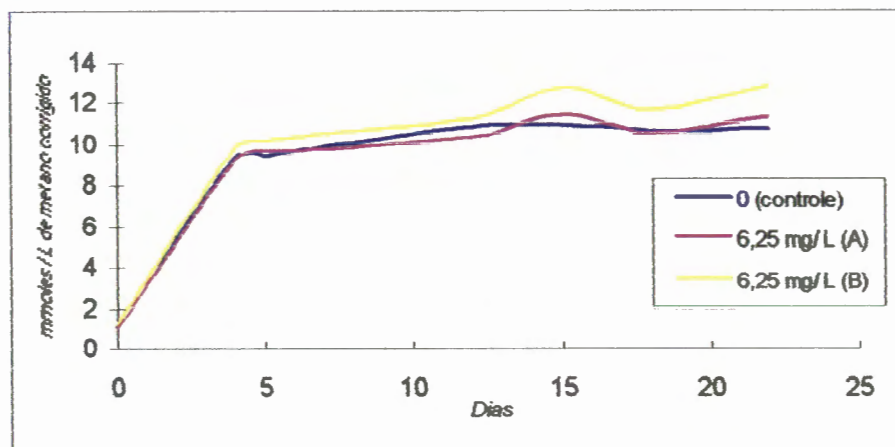


FIGURA 08 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 01. Frascos controle e os com concentração de 6,25 mg Ni/L.

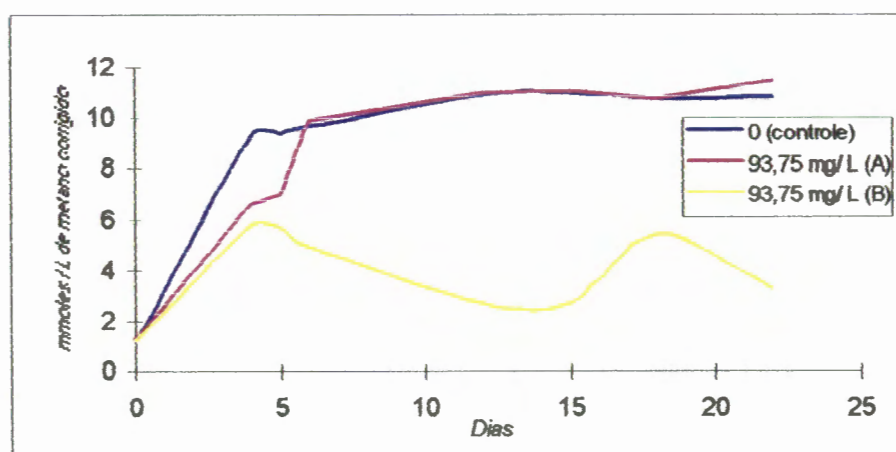


FIGURA 09 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 01. Frascos controle e os com concentração de 93,75 mg Ni/L.

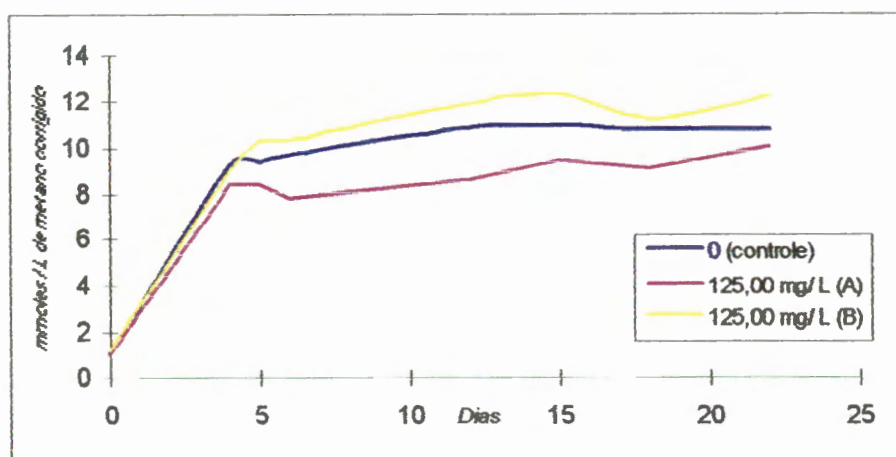


FIGURA 10 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 01. Frascos controle e os com concentração de 125,00 mg Ni/L.

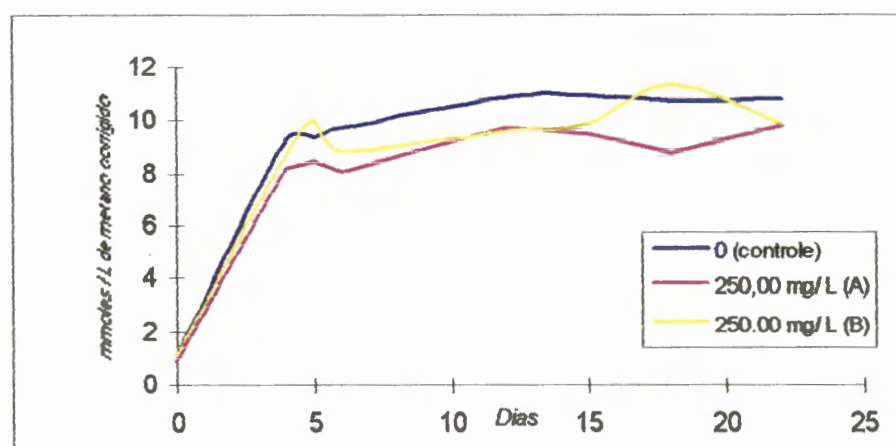


FIGURA 11 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 01. Frascos controle e os com concentração de 250,00 mg Ni/L.

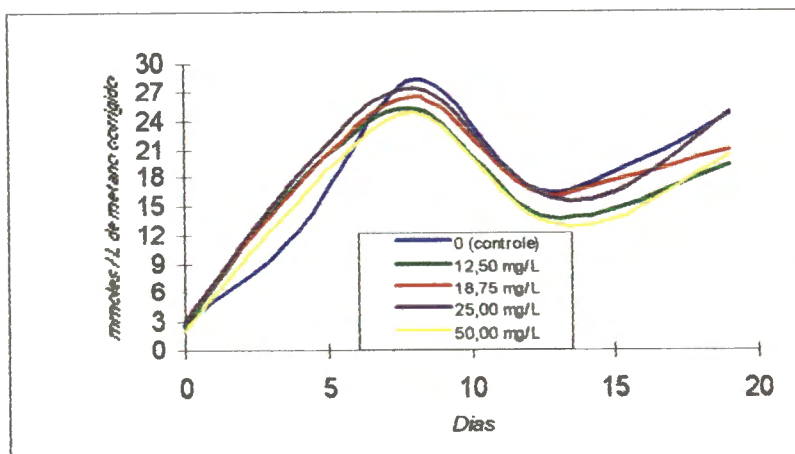


FIGURA 12 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 02. Frascos controle e os com concentração de 12,50; 18,75; 25,00 e 50,00 mg Ni/L.

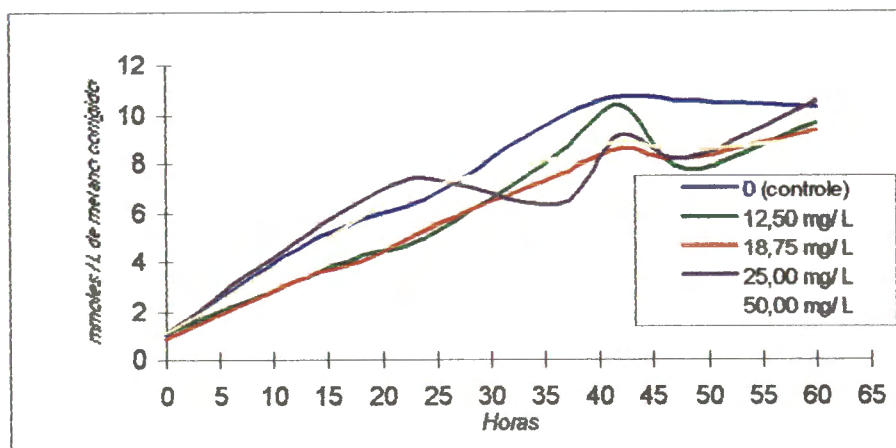


FIGURA 13 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 03. Frascos controle e os com concentração de 12,50; 18,75; 25,00 e 50,00 mg Ni/L.

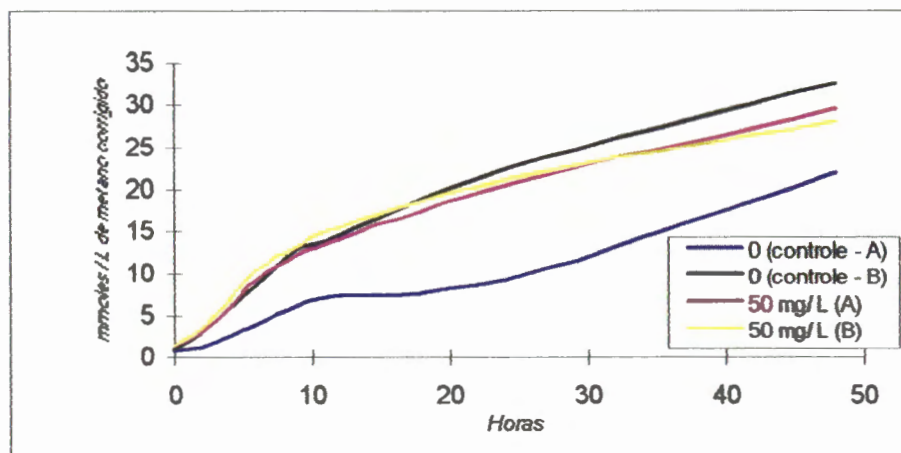


FIGURA 14 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 04. Frascos controle e os com concentração de 50,00 mg Ni/L.

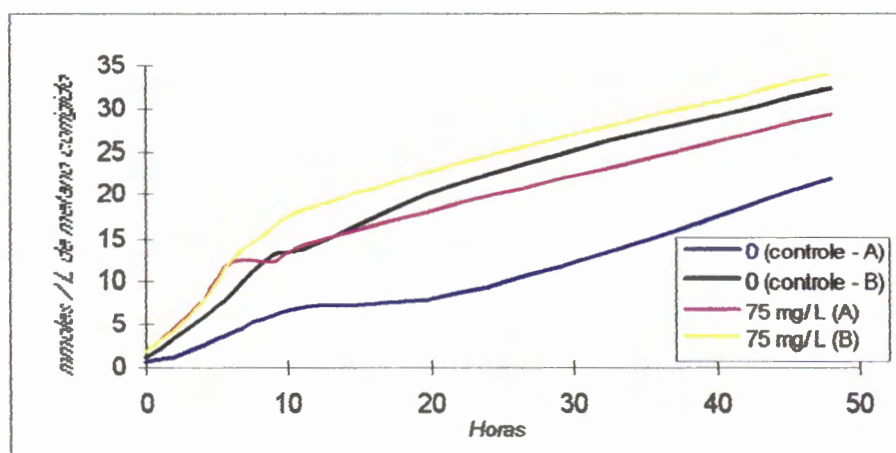


FIGURA 15 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 04. Frascos controle e os com concentração de 75,00 mg Ni/L.



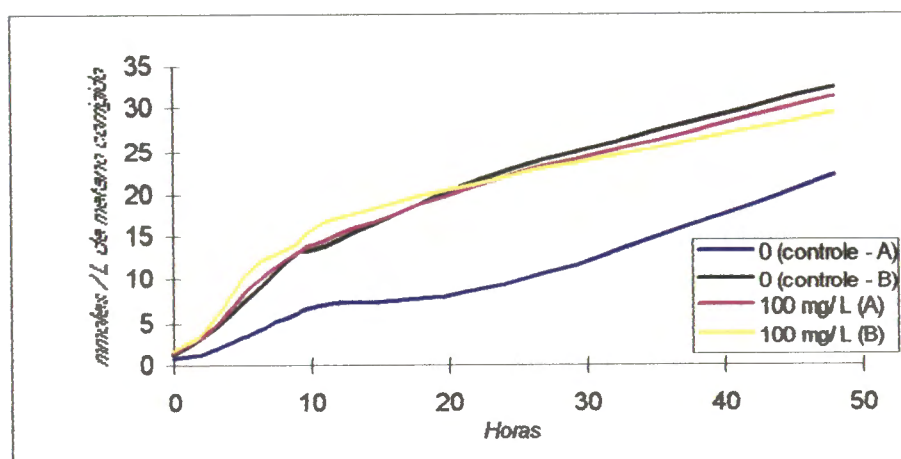


FIGURA 16 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 04. Frascos controle e os com concentração de 100,00 mg Ni/L.

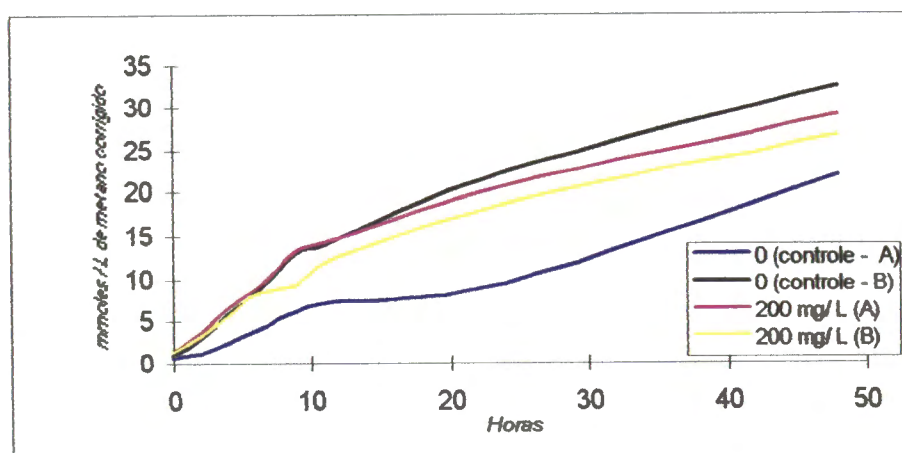


FIGURA 17 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 04. Frascos controle e os com concentração de 200,00 mgNi/L.

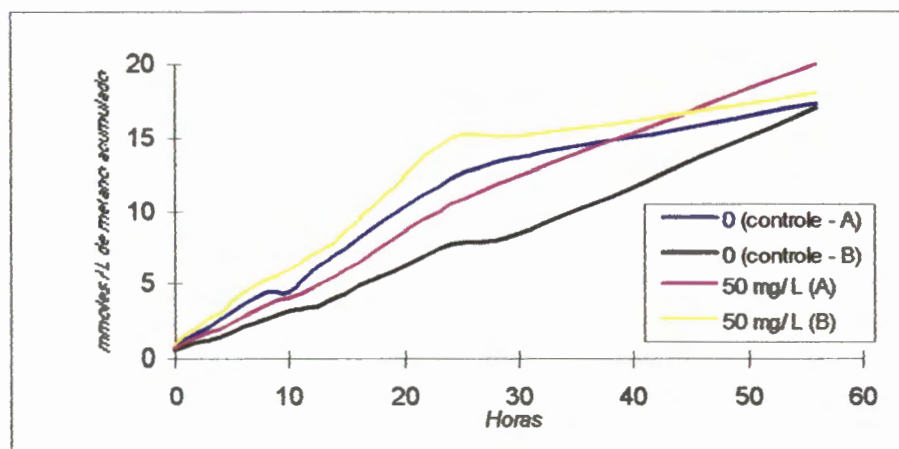


FIGURA 18 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 05. Frascos controle e os com concentração de 50,00 mg Ni/L.

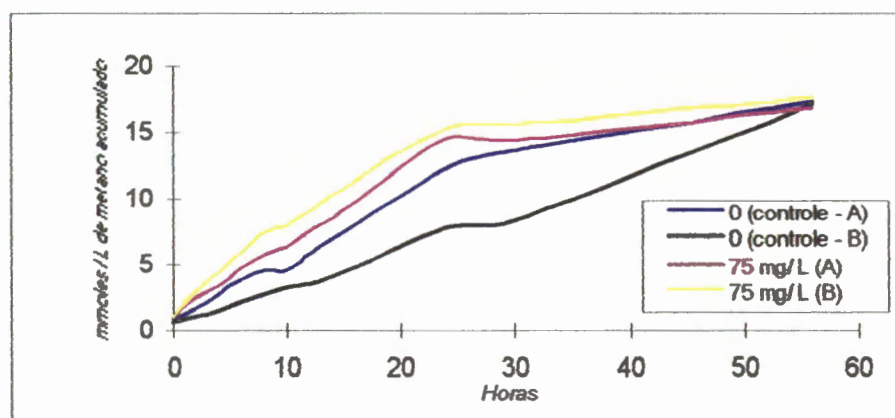


FIGURA 19 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 05. Frascos controle e os com concentração de 75,00 mg Ni/L.

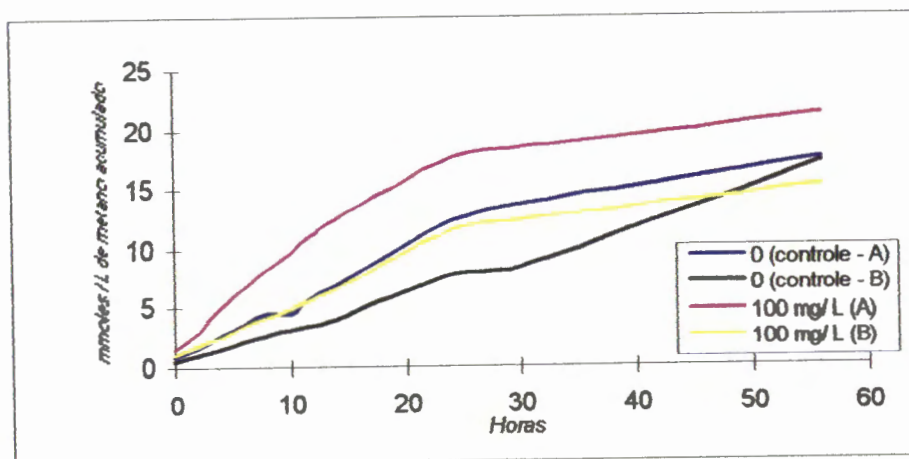


FIGURA 20 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 05. Frascos controle e os com concentração de 100,00 mgNi/L.

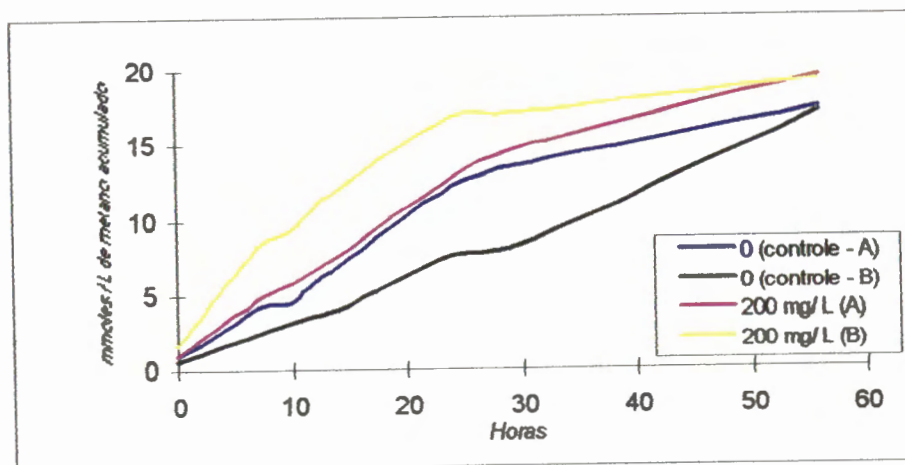


FIGURA 21 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 05. Frascos controle e os com concentração de 200,00 mgNi/L.

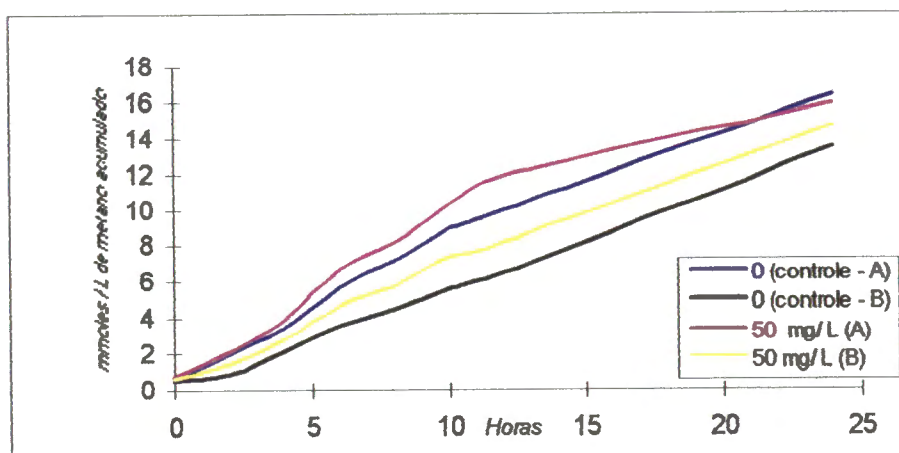


FIGURA 22 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 06. Frascos controle e os com concentração de 50,00 mg Ni/L.

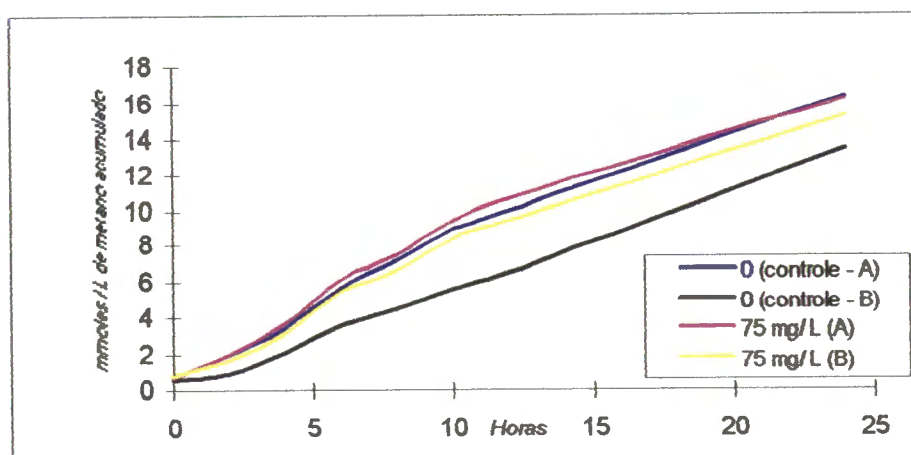


FIGURA 23 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 06. Frascos controle e os com concentração de 75,00 mg Ni/L.

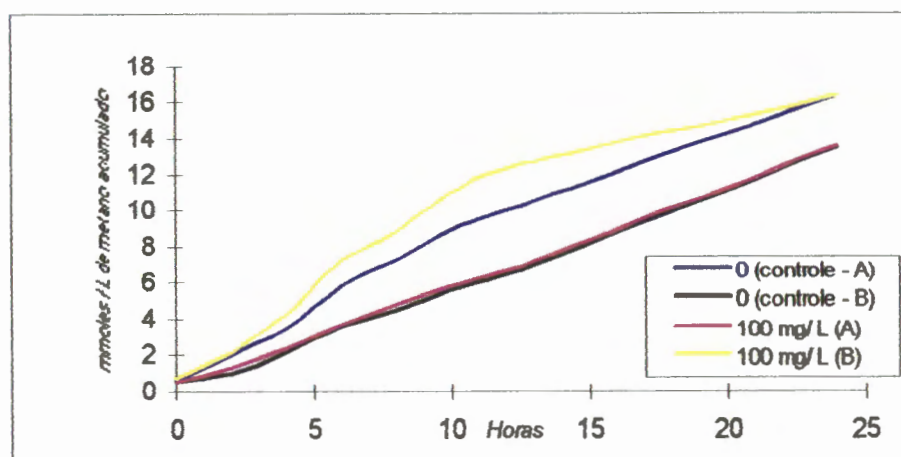


FIGURA 24 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 06. Frascos controle e os com concentração de 100,00 mgNi/L.

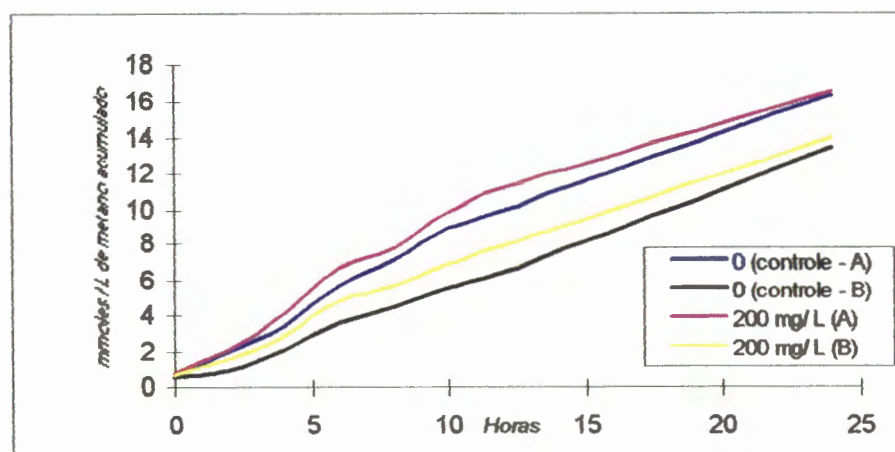


FIGURA 25 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 06. Frascos controle e os com concentração de 200,00 mgNi/L.

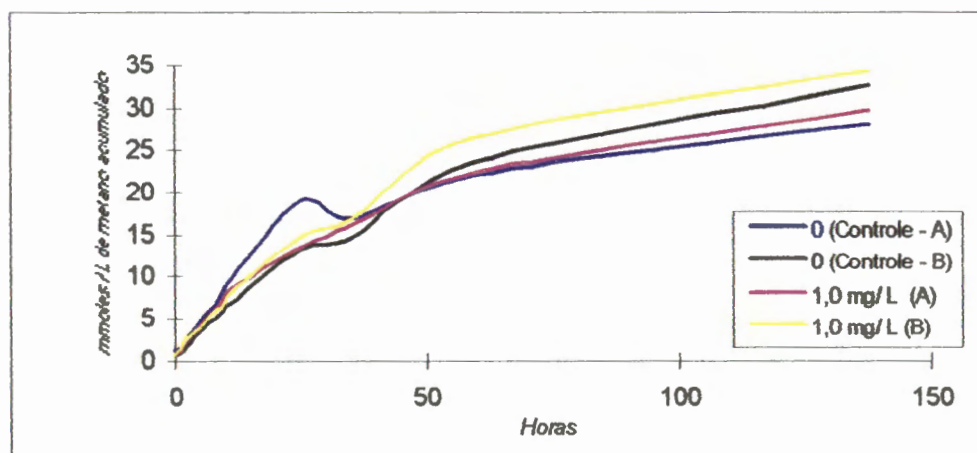


FIGURA 26 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 07. Frascos controle e os com concentração de 1,00 mg Ni/L.

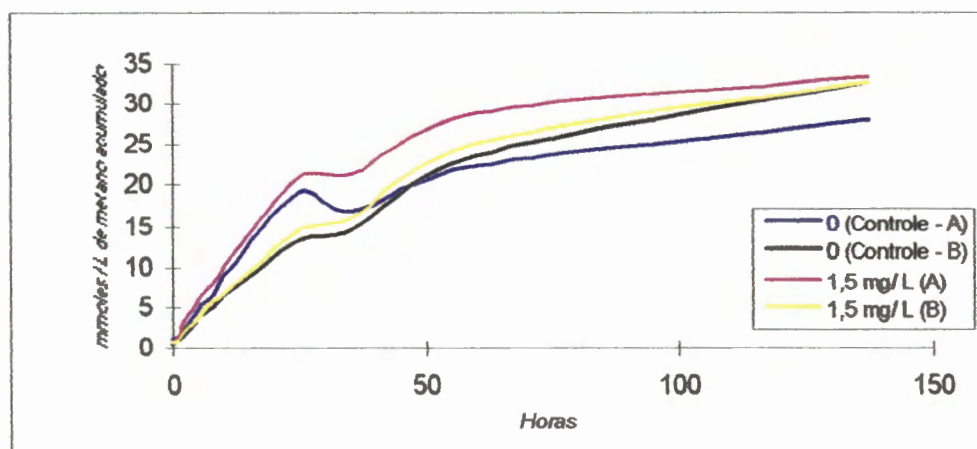


FIGURA 27 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 07. Frascos controle e os com concentração de 1,50 mg Ni/L.

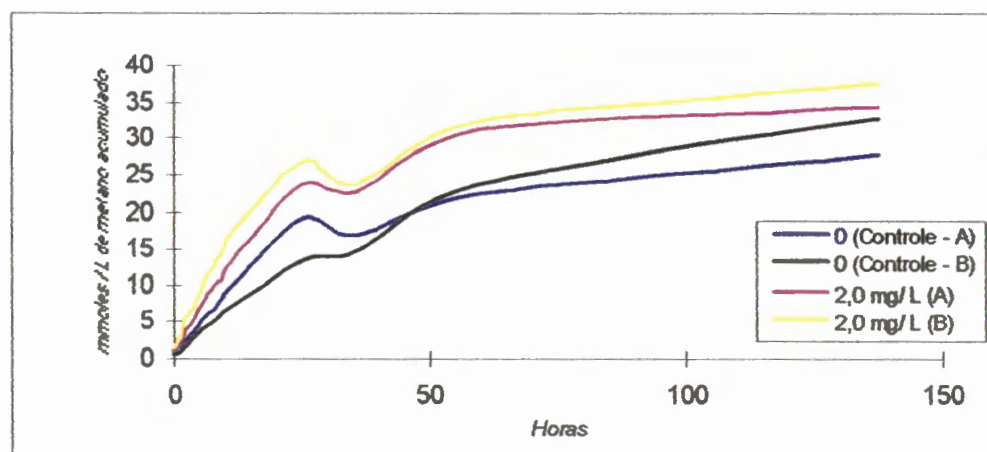


FIGURA 28 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 07. Frascos controle e os com concentração de 2,0 mg Ni/L.

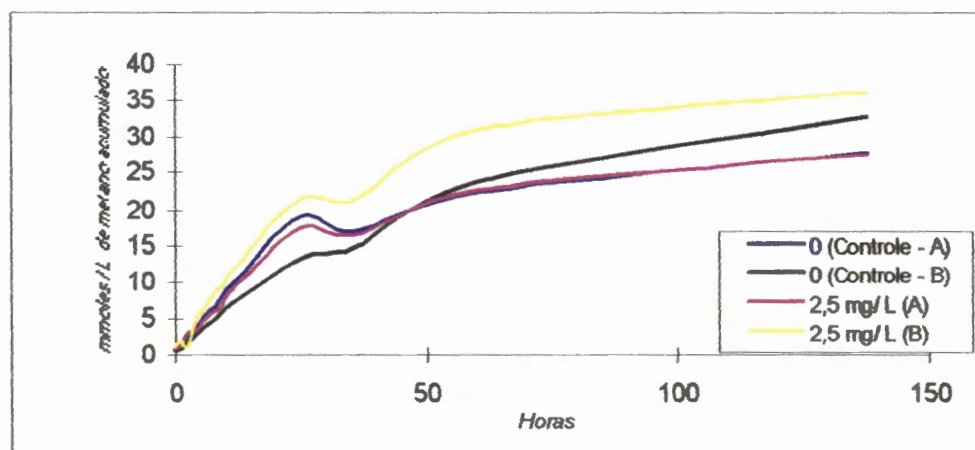


FIGURA 29 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 07. Frascos controle e os com concentração de 2,5 mg Ni/L.

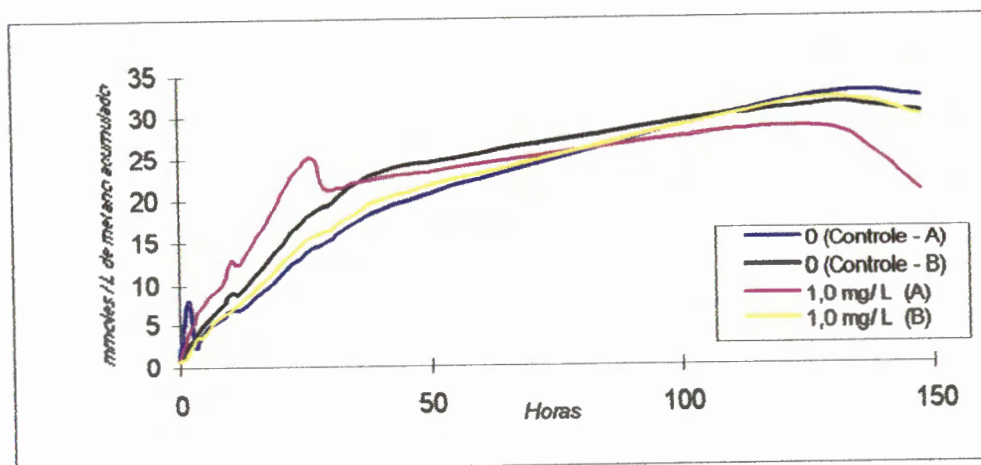


FIGURA 30 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 08. Frascos controle e os com concentração de 1,0 mg Ni/L.

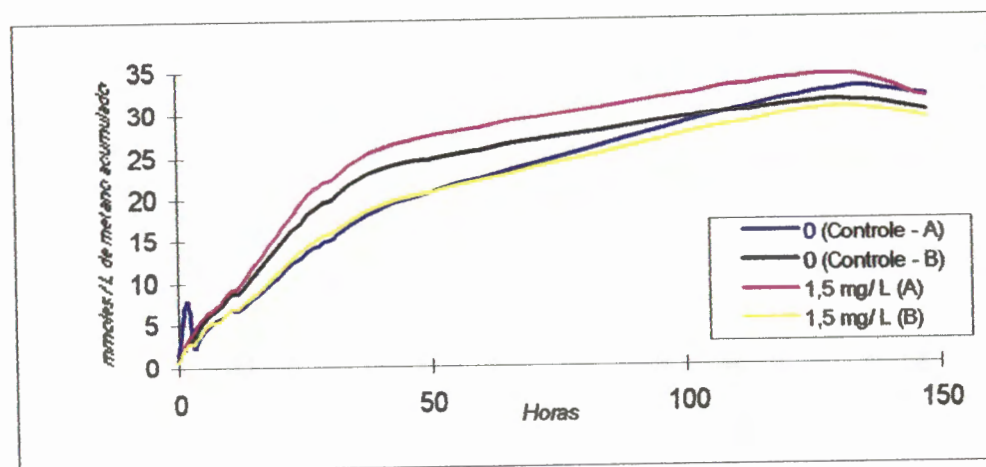


FIGURA 31 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 08. Frascos controle e os com concentração de 1,5 mg Ni/L.

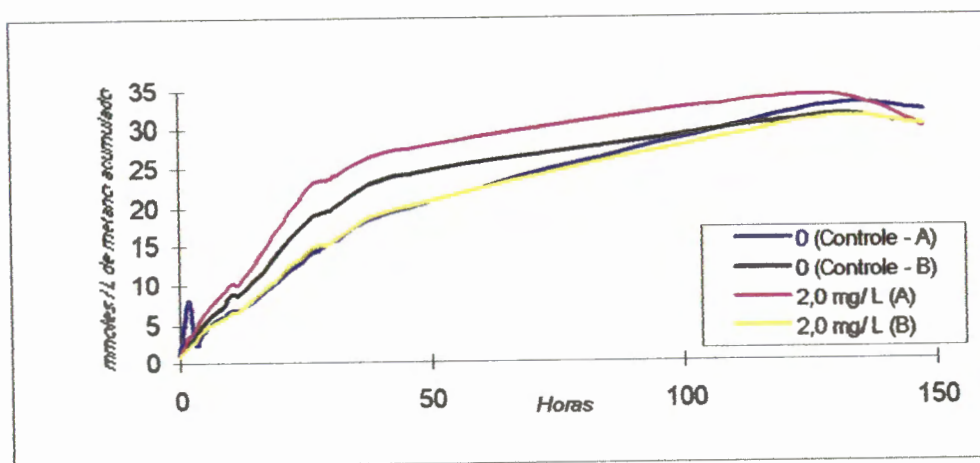


FIGURA 32 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 08. Frascos controle e os com concentração de 2,0 mg Ni/L.

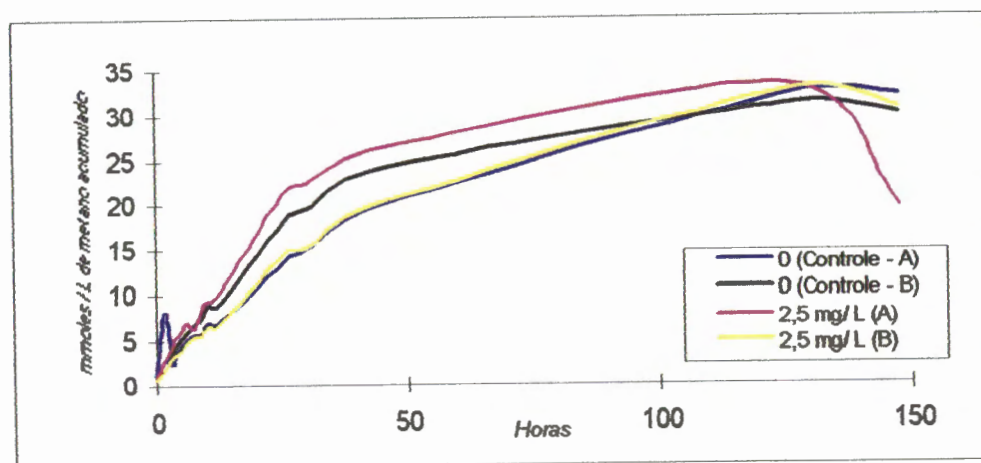


FIGURA 33 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 08. Frascos controle e os com concentração de 2,5 mg Ni/L.

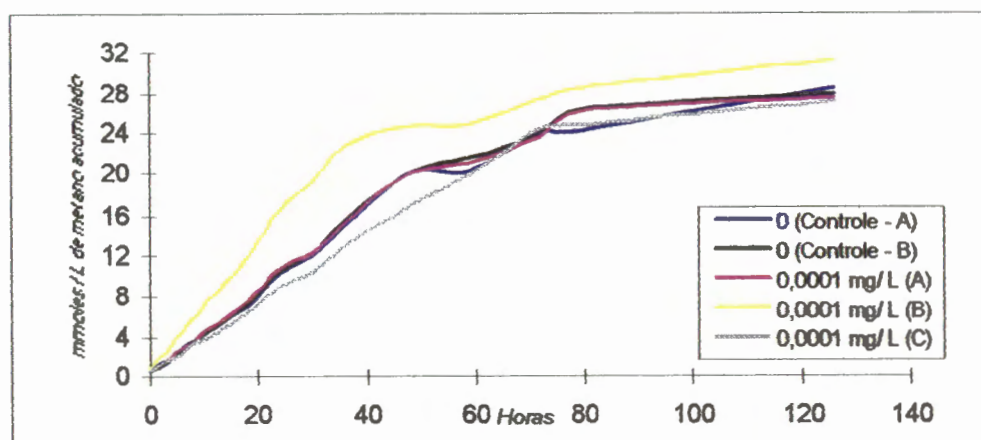


FIGURA 34 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 09. Frascos controle e os com concentração de 0,0001 mgNi/L.

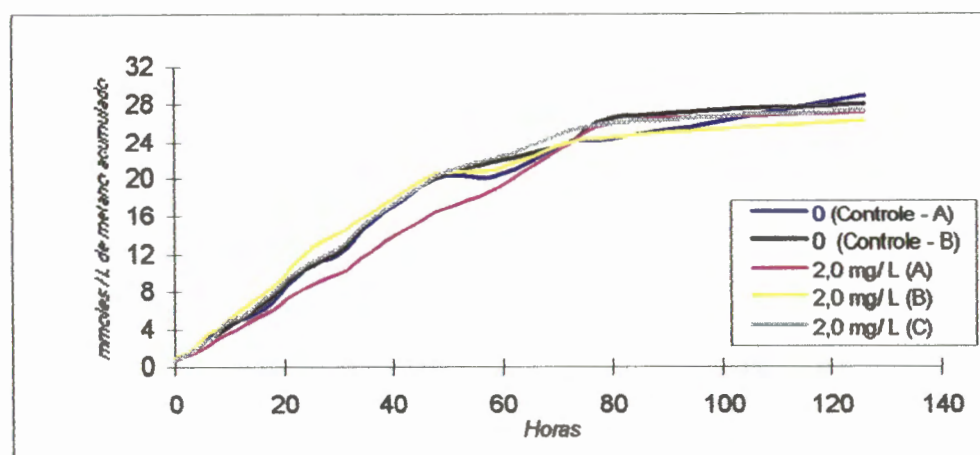


FIGURA 35 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 09. Frascos controle e os com concentração de 2,0 mgNi/L.

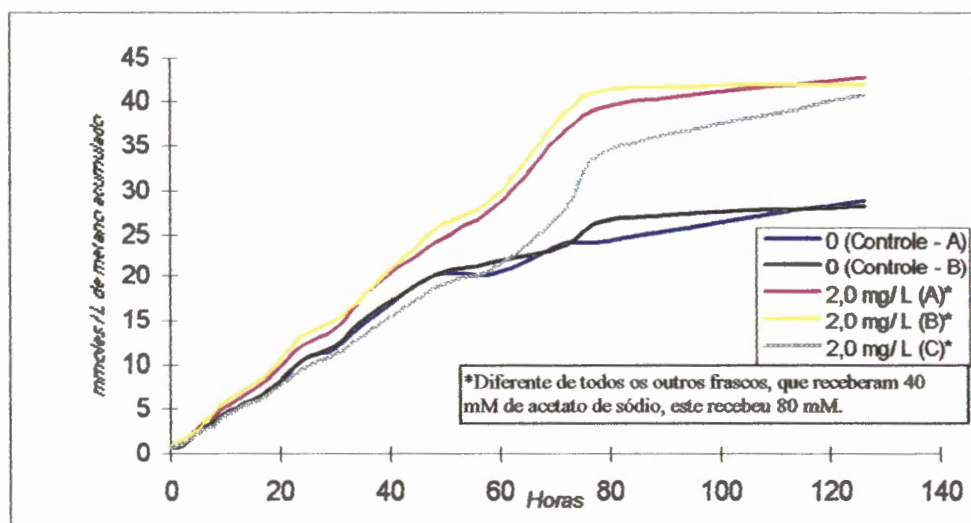
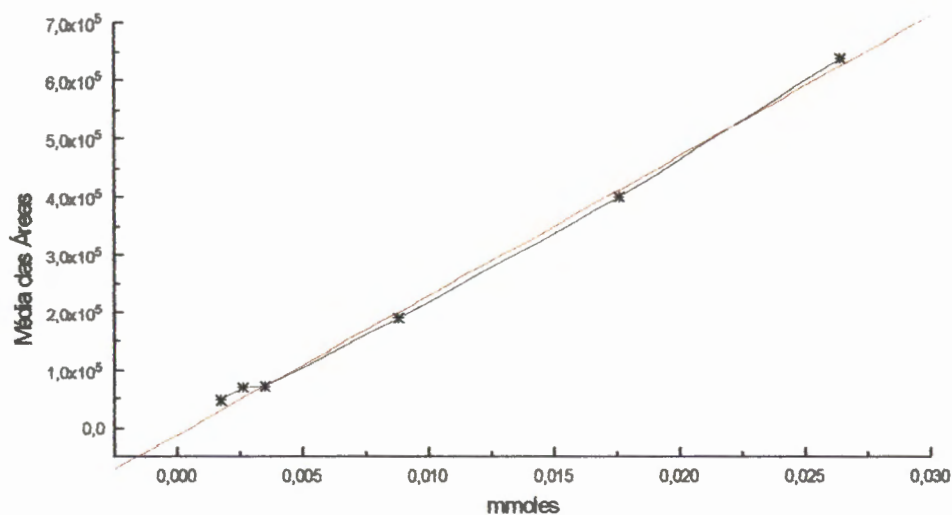


FIGURA 36 - Produção corrigida de metano, em mmoles/L, durante o experimento 09. Frascos controle e os com concentração de 2,0 mgNi/L.

TABELA 36 - Valores obtidos para a realização da curva de calibração de metano.

Vol. Inj.	Vol. Inj.CNTP	Vol. inj.	Vol. CNTP	Y			sd
mL	X	mmoles	X2	Média das Áreas	XY	Y2	Área
0,05	0,04	0,00176	0,001558172	46113,33	1820,263026	2126439204	228,86
0,075	0,06	0,00264	0,003505886	68991,00	4084,993421	4759758081	140,65
0,1	0,08	0,00352	0,006232687	70942,00	5600,684211	5032767364	302,50
0,25	0,20	0,00881	0,038954294	189859,00	37472,17105	3,6046E+10	3204,55
0,5	0,39	0,01762	0,155817175	399270,75	157606,875	1,5942E+11	9697,33
0,75	0,59	0,02643	0,350588643	638094,33	377819,0112	4,0716E+11	6564,23
1,73	1,36	0,0608	0,556656856	1413270,41	584403,9979	6,1455E+11	



Regressão Linear

$$Y = A + B \cdot X$$

Valores dos parâmetros:

A= 6097,98735

B= 23854200,95601

R=0,99838

SD=15104,67291, N = 6

P = 3,9411E-6

desvio padrão

9245,41158

680017,12612

FIGURA 37 - Curva de calibração de metano, juntamente com a regressão linear dos dados obtidos a partir da Tabela 36.

6 - CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

As conclusões obtidas são apresentadas a seguir:

1. Os resultados apresentados mostraram que mesmo sob concentrações elevadas do íon Ni, a metanogênese ocorreu pela atividade dos lodos estudados, considerando-se os resultados dos reatores controle;
2. A concentração do substrato orgânico estudado, acetato de sódio, pode ter sido suficiente para permitir a metanogênese do lodo, sem que a presença do Ni pude-se afetar a atividade de lodos granulados estáveis, como os estudados no experimento de 04 a 09;
3. A ausência de homogeneização dos frasco durante os experimentos realizados afetou a transferência adequada dos nutrientes ao lodo biológico, o que certamente, também prejudicou o estudo da influência do Ni na metanogênese;
4. Os procedimentos experimentais adotados podem ter dificultado a resposta do lodo quanto a influência do Ni, em função principalmente da distribuição inicial dos lodos nos sistemas de reação, volume dos frascos, falta de homogeneização dos mesmos e substrato orgânico em excesso;
5. Os experimentos de 04 a 06, com concentrações de Ni da ordem de 50,00 a 200,00 mg/L mostraram um desempenho superior aos experimentos com concentrações de Ni mais baixas (experimentos de 07 a 09 - concentrações de 0,0001 a 2,50 mg/L), isto para semelhantes períodos de incubação. A maior produção de metano, 34,2 mmoles/L, foi verificada para uma das réplicas das concentrações de 75 mg Ni/L do experimento 04. Este valor foi obtido para um tempo de incubação de 48 horas. Os resultados obtidos na presença de concentrações elevadas de Ni não caracterizaram a existência de um efeito estimulatório do Ni sobre a atividade metanogênica dos lodos. Aparentemente, os

lodos nos reatores controles, como aqueles submetidos a adição de níquel responderam semelhantemente na degradação de 40 mmoles de acetato de sódio, e a presença do Ni não alterou as atividades metanogênicas. Através das análises dos valores de atividade metanogênica e do valor máximo de produção de metano, pode-se afirmar que nenhuma das concentrações de Ni estudadas pareceu afetar as bactérias metanogênicas;

6. As análises realizadas pelo E.A.A. mostraram que o lodo apresentava uma certa concentração inicial de Ni, em média de 0,53 mg Ni/g da amostra para os experimentos 05, 07 e 08, enquanto que para o experimento 09 foi superior e igual a 3,61 mg Ni/g da amostra. A presença inicial do Ni no lodo estudado tenham sido suficientes para a ocorrência da metanogênese, e o excesso de Ni adicionado não teve nenhum efeito estimulatório ou inibitório.
7. Os valores de atividade metanogênica dos lodos dos experimentos de 04 a 06 (faixas de Ni estudadas 50 a 200 mg/L), para concentrações de 40 mmoles/L de acetato de sódio, tanto para os frascos controle como para os acrescidos de Ni, estiveram em sua maioria na faixa de 0,4 a 1,0 mmolesCH₄/L.h;
8. Os valores de atividade metanogênica dos lodos dos experimentos 07 e 08 (faixas de Ni estudadas 1,0 a 2,5 mg/L), para concentrações de 40 mmoles/L de acetato de sódio, tanto para os frascos controle como para os acrescidos de Ni, estiveram em sua maioria na faixa de 0,5 a 1,0 mmolesCH₄/L.h;
9. O valor de atividade metanogênica dos lodos do experimento 09 (concentração de Ni estudada 0,0001 mg/L), para concentrações de 40 mmoles/L de acetato de sódio, tanto para os frascos controle como para os acrescidos de Ni, foi próximo a 0,37 mmolesCH₄/L.h quando a concentração de Ni estudada foi de 2,0 mg/L, tanto na presença de 40 como de 80 mmoles/L de acetato de sódio.

As recomendações para auxiliar em futuros trabalhos a serem desenvolvidos sobre os assuntos abordados são:

1. Sugere-se que nos estudos sobre a influência do Ni, considere-se a existência de antagonismo no lodo, ou seja, deve-se verificar a variação de íon Ni em função da presença de algum outro metal no meio de reação, como proposto por HOTCHKISS apud HAYES & THEIS (1976);

2. Sugere-se que nos estudos sobre a influência do Ni, considere-se a presença de sulfetos e carbonatos no meio, uma vez que podem ocasionar a precipitação do íon Ni, como indicado por GHOSH apud HAYES & THEIS (1976);
3. Sugere-se que os experimentos sobre a influência do íon Ni, tenham cuidadosamente controladas as concentrações iniciais de sólidos em suspensão voláteis, principalmente nos estudos realizados em frascos de pequeno volume;
4. Sugere-se estudar procedimentos para o estudo da influência do Ni em lodos anaeróbios, em que o conteúdo inicial do metal seja bem estabelecido, assim como, uma metodologia de "lavagem" dos lodos anaeróbios a fim de reduzir o conteúdo inicial do metal;
5. Sugere-se estabelecer a concentração ideal do substrato orgânico, no caso acetato de sódio, a fim de estabelecer faixas de resposta em relação a variação da concentração de Ni;
6. Sugere-se estabelecer uma forma de determinar com maior precisão a concentração celular metanogênica no lodo, uma vez que o conteúdo de sólidos em suspensão voláteis é uma medida celular menos precisa e
7. Sugere-se o aprimoramento da agitação dos frascos, maiores volumes de lodos a serem utilizados, portanto, dos frascos de reação, e indicar procedimentos mais sensíveis a determinação da atividade metanogênica dos lodos.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFIAS

ARAÚJO, J.C. Caracterização e evolução do biofilme em reator anaeróbio de leito fluidificado alimentado com esgoto sanitário sintético - Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo. 1995 - 158 p.

ASHLEY, N.V.; DAVIES, M.; HURST, T. - The effect of increased nickel ion concentrations on microbial populations in the anaerobic digestion of sewage sludge. - Water Research, Vol. 16, p. 963-971, 1982.

BALCH, W.E.; FOX, G.E.; MAGRUM, J.L.; WOESE, C.R.; WOLFE, R.S. Methanogens: reevaluation of a unique biological group. Microbiological Reviews, 43: p. 260-296, 1979.

BROCK, T.D.; MADIGAN, M.T. Biology of Microorganisms. 5a.ed., New Jersey, Prentice Hall, EUA, 1988.

BRYANT, M.P. Commentary on the Hungate technique for culture of anaerobic bacteria. The American Journal of Clinical Nutrition, 25: p. 1324-1328, 1972.

DIEKERT, G., KONHEISER, U., PIECHULLA, K.; THAUER, R. K. - Nickel requirement and factor F₄₃₀ content of methanogenic bacteria - Journal of Bacteriology - Nov. 1981, p. 459-464. Vol. 148, N° 02.

DIEKERT, G., WEBER, B.; THAUER, R.K. - Nickel dependence of factor F430 content in Methanobacterium thermoautotrophicum. - Archives Microbiology, 127,p. 273-278 (1980).

DIEKERT, G.; KLEE, B.; THAUER, R.K. - Nickel, a component of factor F430 from Methanobacterium thermoautotrophicum. - Archives Microbiology, 124, p. 103-106 (1980).

DIEKERT, G.; RITTER, M. - Nickel requirement of Acetobacterium woodii - Journal of Bacteriology, Vol. 151, N°02, Aug. 1982, p. 1043-1045.

ELLEFSON, W.L. & WHITMAN, W.B. The role of nickel in methanogenic bacteria. In: GENETIC engineering of microorganisms for chemicals. Eds. A. Hollaender, R. Moss, S. Kaplan, J. Konisky, D. Savage, R.S. Wolfe, Washington, Plenum Press, 1983. p.403-413.

FLETCHER, P.; BECKETT, P.H.T. - The chemistry of heavy metals in digested sewage sludge - I - Heavy metal complexation with soluble organic matter. - Water Research, Vol. 21, N° 10, p. 1163-1172, 1987.

FORESTI, E. - Fundamentos do processo da digestão anaeróbia - III Taller y Seminario Latinoamericano - "Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales"- Montevideo - Uruguay, 25-28 de octubre 1994. Universidade de La Republica.

FORESTI, E.; OLIVEIRA, R.A., VAZOLLER, R.F., LUCAS Jr, J., SILVA, M.A.P.

Microbiological and mineral characteristics of anaerobic granules from bench-scale UASB reactor - Acta Microscópica - 3rd International Conference on Electron Microscopy - XV Meeting of the Brazilian Society for Electron Microscopy. Vol. 4, supplement A, Sept. 1995. p. 287.

GEETA, G.S.; JAGADEESH, K.S.; REDDY, T.K.R. - Nickel as an accelerator of

biogas production in water hyacinth (Eichornia crassipes Solms) - Biomass, 21(1990). 157-161

GOTTSCHALK, G. Bacterial fermentations. In: BACTERIAL metabolism. 2^a ed.

Springer Verlag New York Inc., New York, EUA, 1988. p.210-280.

GRAF, E.; THAUER, R.K. - Hydrogenase from Methanobacterium

thermoautotrophicum, a nickel-containing enzyme - Febs Letters, Vol. 136, N°1, December, 1981, p. 165-169.

HAYES, T.D.; THEIS, T.L. - Effects and fate of selected heavy metals in anaerobic

digestion - Proceedings of the 31th Industrial Waste Conference - May 4,5 and 6, 1976 - Purdue University.

HICKEY, R.F.; VANDERWIELEN, J.; SWITZENBAUM, M.S. - The effect of heavy

metal on methane production and hydrogen and carbon monoxide levels during batch anaerobic sludge digestion. - Water Research, Vol. 23, N° 2, p. 207-218, 1989.

HUNGATE, R.E. A roll-tube method for cultivation of strict anaerobes. In:

METHODS in microbiology. Eds. J.R. Norris, D.W. Ribbons. New York: Academic, New York, EUA, 1969.v.38, p. 117-132.

- JAIN, S.K.; GUJRAL, G.S.; JHA, N.K. ; VASUDEVAN, P.** - Production of biogas from Azolla pinnata R. Br. and Lemna minor L.: effect of heavy metal contamination - Bioresource technology, 41(1992), p. 273-277.
- JONES, W.J.** Diversity and physiology of methanogens. In: MICROBIAL production and consumption of greenhouse gases: methane, nitrogen oxides and halomethanes. 1a. ed. Eds. J.E. Rogers; W.B. Whitman. American Society of Microbiology, Washington, D.C.. EUA, 1991, p.39-56.
- KIDA, K.; IKBAL; SONODA, Y.; KAWASE, M.; NOMURA, T.** - Influence of mineral nutrients on high performance during anaerobic treatment of wastewater from a beer brewery. - Journal of Fermentation and Bioengineering. Vol. 72, N°1, p. 54-57, 1991.
- LIN, C.** - Effect of heavy metal on acidogeneses in anaerobic digestion - Water Research, Vol. 27, N° 01, p. 147-152, 1993.
- LIN, C.** - Effect of heavy metal on volatile fatty acid degradation in anaerobic digestion - Water Research, Vol. 26, N° 02, p. 177-183, 1992.
- OLIVEIRA, R.A., SANTOS, J.M., NOUR, E.A.A., LUCAS Jr, J., FORESTI, E., POVINELLI, J.** - Predominant bacterial populations in the granules from pilot-scale anaerobic baffled and UASB reactors - Acta Microscópica - 3rd International Conference on Electron Microscopy - XV Meeting of the Brazilian Society for Electron Microscopy. Vol. 4, supplement A, Sept. 1995. p. 287.

MacLEOD, F.A.; GUIOT, S.R.; COSTERTON, J.W. - Layered structure of bacterial aggregates produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor. Applied and Environmental Microbiology, June, 1990, p. 1598-1607, Vol. 56; N° 06.

MacNICOL, R.D.; BECKETT, P.H.T. - The distribution of heavy metal between the principal components of digested sewage sludge - Water Research, Vol. 23, N° 02, p. 199-206. 1989

MADIGAN, J.M.; MARTINKO E PARKER, J. *Brock* - BIOLOGY of microorganisms. Editora Prentice Hall, EUA. 8ª Edição. 1997. 986 p.

MILLER, T.L.; WOLIN, M.J. A serum bottle modification of the Hungate technique for cultivating obligate anaerobes. Applied Microbiology, 27: 985-987, 1974.

MUELLER, R. F.; STEINER A. - Inhibition of a anaerobic digestion caused by heavy metals. - Water Science and Technology. Vol. 26, N° 3-4, p. 835-846, 1992.

MURRAY, W.D.; VAN DER BERG, L. - Effects of nickel, cobalt and molibedenium on performance of methanogenic fixed-film reactors - Applied and Environmental Microbiology - sept. 1981, p. 502-505. Vol. 42, N°03.

NOVAES, R.F.V.; RECH, C.M.; FIGUEIREDO, M.G.; GIAJ-LEVRA, L.A. - Bacterial identification of granular sludge from domestic sewage UASB - reactor. - Fifth International Symposium on Anaerobic Digestion - Bologna, Italy, May 22-26, 1988.

OLESZKIEWICZ, J.A.; ROMANEK, A. - Granulation in anaerobic sludge bed reactors treating food industry wastes - Biological Wastes, 27(1989). 217-235.

PARKIN, G.F.; SPEECE, R.E.; YANG, C.H.F.; KOCHER, W.M. - Response of methane fermentation systems to industrial toxicantes - Journal WPCF, Vol. 55, Nº1, p. 44-53, 1983.

PENNA, J.A. Estudo da Metodologia do Teste da Atividade Metanogênica Específica. São Carlos (1994) 2 v. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo, 1995.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER - 18ª ed. A. D. Eaton, L. S. Clesceri, Apha-Amer. Public.Health. 1992. p.3-4 a 3-5

SCHERER, P. ; SAHM, H. - Effect of trace elements and vitamins of the growth of Methanosarcina barkeri. - Acta Biotechnologica, 1(1981) 1, p. 57-65.

SOUSA, J.T. Pós-tratamento de efluente de reator anaeróbio de batelada e coluna de lodo anaeróbio para desnitrificação - Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Carlos. 1996. 258 p.

SPEECE, R.E. - Trace metals: key role in anaerobic treatment processes - III Taller y Seminario Latinoamericano - "Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales"- Montevideo - Uruguay, 25-28 de octubre 1994. Universidade de La Republica.

SPEECE, R.E. - Trace Metals. In: ANAEROBIC biotechnology for industrial waste waters. Archae Press, 1996. p.221 - 245.

STEINER, A.; MULLER, R. - Influence of nickel and copper on anaerobic sludge digestion. - Fifth International Symposium on Anaerobic Digestion - Bologna, Italy, May 22-26, 1988.

TAKASHIMA, M.; SPEECE, R.E. - Mineral nutrient requirements for high-rate methane fermentation of acetate at low SRT. - Research Journal WPCF, Vol. 61, Nº11/12, p. 1645-1650 (1989)

TIJERO, J., GUARDIOLA, E., CORTIJO M.; DIAZ-BARRIONUEVO, A. - Heavy metal distribution in anaerobic sludges - Separation Science and Technology, 25(5), p. 653-658, 1990.

TOUZEL, J.P. & ALBAGNAC, G. - Isolation and characterization of *Methanococcus mazei* strain MC₃. FEMS Microbiology Letters, 19. 1983, p. 241-245.

VAZOLLER, R.F. Estudos sobre isolamento, caracterização e crescimento de culturas puras de bactérias metanogênicas provenientes de biodigestores de lodo de esgoto. São Paulo, 1989. 145 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo.

VAZOLLER, R.F. Avaliação do ecossistema microbiano de um biodigestor anaeróbico de fluxo ascendente e manta de lodo, operado com vinhaça sob condições termofílicas. São Paulo, Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Carlos, 1995. 259 p.

WASTEWATER ENGINEERING TREATMENT DISPOSAL, AND REUSE - 3^a ed.

Eds Metcalf and Eddy Inc., McGraw-hill, 1991. p.1334.

WHITMAN, W.B.; WOLFE, R.S. - Presence of nickel in factor F430 from Methanobacterium bryantii - Biochemical and Biophysical Research Communications. Vol. 92, N^o4, 1980, p. 1196-1201, February, 27.

ANEXO

EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NO TRABALHO

- Cromatógrafo a gás GOW-MAC, modelo 69-150 com detector de condutividade térmica (series 150).
 - Colunas Poropack T e Q.
 - comprimento: 2 m
 - \varnothing interno: 1/4"
 - Gás de arraste: hidrogênio super seco
 - Seringa: "gas-tight" - Hamilton 1,0 mL com trava.
- Integrador Processador 4P3396 series II
- Autoclave *Phoenix* - A autoclavação ocorria durante 20 minutos a uma temperatura de 121 °C e uma pressão de 1 atm.
- Balança Analítica - *Denver Instruments*, de precisão $\pm 0,0001$ g
- Balança Semi-Analítica - *Helmax*, de precisão $\pm 0,01$ g
- Cilindros de Gases: Nitrogênio (100%), Nitrogênio / Gás Carbônico (70%/30%), Gás GLP - *White Martins*
- Deionizador - *Prodicil* - Mo. U-50 (50 L/h)
- Destilador - *Biomatic*
- Estufa incubadora para D.B.O.; FANEM 347-F (35 \pm 1°C)
- Placa aquecedora - *Corning*
- Potenciômetro - *Digimed* - DMPH2, de precisão $\pm 0,01$
- Removedor de Oxigênio - *Instrumentos Científicos* - CG - 01
- Seringa de vidro "gas-tight" *Hamilton*, 1,0 mL
- Sistema de Distribuição de Gases (adaptado de BALCH et al., 1991)