

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

LÍVIA MARTINS VEROLA

**ESTUDO DO EFEITO DA TEMPERATURA E DA ORIGEM DO INÓCULO NA
PARTIDA DE REATOR ANAERÓBIO EMPREGADO PARA REMOÇÃO
BIOLÓGICA DE SULFATO**

Poços de Caldas/MG

2019

LÍVIA MARTINS VEROLA

**ESTUDO DO EFEITO DA TEMPERATURA E DA ORIGEM DO INÓCULO NA
PARTIDA DE REATOR ANAERÓBIO EMPREGADO PARA REMOÇÃO
BIOLÓGICA DE SULFATO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia Ambiental pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Alfenas. Área de Concentração: Tratamento de águas residuárias.

Orientadora: Profa. Dra. Giselle Patrícia Sancinetti.

Poços de Caldas/MG

2019

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca campus Poços de Caldas

V546e Verola, Lívia Martins.

Estudo do efeito da temperatura e da origem do inóculo na partida de reator anaeróbio empregado para remoção biológica de sulfato / Lívia Martins Verola. -- Poços de Caldas/MG, 2019.
57 f. --

Orientador(a): Giselle Patrícia Sancinetti.
Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Alfenas, campus Poços de Caldas, 2019.
Bibliografia.

1. Minas – drenagem. 2. Águas residuais. 3. Tratamento biológico.
I. Sancinetti, Giselle Patrícia. II. Título.

CDD – 628.1

LÍVIA MARTINS VEROLA

**ESTUDO DO EFEITO DA TEMPERATURA E DA ORIGEM DO INÓCULO NA
PARTIDA DE REATOR ANAERÓBIO EMPREGADO PARA REMOÇÃO
BIOLÓGICA DE SULFATO**

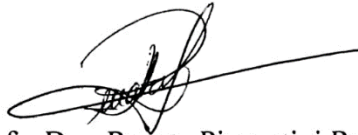
A banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia Ambiental pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Alfenas. Área de Concentração: Tratamento de águas residuárias.

Aprovada em: 27 de fevereiro de 2019.



Profa. Dra. Giselle Patrícia Sancinetti

Instituição: Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG



Profa. Dra. Renata Piacentini Rodriguez

Instituição: Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG



Prof. Dr. Lucas Tadeu Fuess

Instituição: Universidade de São Paulo - USP

Ao meu anjo na Terra, Laís: dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todo Seu amor por mim. Mesmo quando minha esperança foi mínima, Ele agiu e me deu forças para continuar e concluir mais esta etapa.

Aos meus pais, Rafael e Irene, agradeço todo apoio, confiança e amor. Pai, obrigada também pela ajuda com as peças e montagem do reator! Esta contribuição foi essencial para a realização deste trabalho.

À minha irmã Laís, agradeço pelo carinho incondicional. Seu sorriso sincero, sua simplicidade, seu coração imenso e todo seu cuidado com a Zozo faz com que você seja minha inspiração diária. De dez vidas, a “Minha” te daria onze.

À minha irmã Letícia e meu cunhado Guilherme, agradeço pelo companheirismo e amizade. Vocês que escutaram todas minhas lamentações nos momentos difíceis e me deram apoio em todas decisões. Lê, obrigada também por deixar aquele “ciúme” de irmã de lado e ser esse alicerce que me suportou sempre que eu precisei.

Agradeço aos meus avôs Geraldo Borges e Zeca Verola que sempre se preocuparam com meus estudos e se alegraram com as minhas conquistas. Espero que estejam orgulhosos de mim aí do céu!

À minha querida orientadora Giselle pela paciência, confiança, carinho e disposição. Peça-chave nesta conquista, sempre esteve disposta a me escutar, a me ensinar e a me estimular. Hoje, para mim, você se faz exemplo, como pessoa e profissional. Obrigada de coração por todo este período juntas.

À professora Renata por acreditar e apostar no meu potencial e ao professor Gunther pelo apoio nas atividades do laboratório. Obrigada por acompanharem de perto meu trabalho e por dividirem comigo seus conhecimentos.

Aos demais professores, do programa e da UNIFAL, que nunca mediram esforços em me auxiliar nas dúvidas e atividades diárias.

Aos meus amigos de BIOTEC e Microbiologia: Tális, Carla, Frécia, Mauro, Bruna, Elis e Juliana, agradeço os conhecimentos e momentos compartilhados. Vocês fizeram a minha passagem pelo laboratório a mais agradável possível. Desejo a vocês muito sucesso.

Ao Pizzo e ao Chuvisco agradeço a parceria incontestável. Vocês estiveram presentes nos momentos de sufoco e de glória deste trabalho. Acompanharam de perto os “perrengues” com o reator, sempre dispostos a me ajudar e me alegrar. Sem dúvida, vocês fizeram a diferença.

Ao meu amigo Rafa, por ter me auxiliado desde o primeiro momento no laboratório até os últimos dias. Como eu sempre digo: você me ensinou a abotoar o jaleco da pesquisa! Obrigada pela confiança de dividir parte do seu trabalho comigo. Este companheirismo e amizade eu quero levar, no mínimo, pelo resto da vida!

Agradeço também aos familiares e amigos que se fizeram presente nessa jornada, o apoio de vocês foi fundamental para a conclusão desta etapa.

Aos técnicos de laboratório que me auxiliaram e à Fernanda e à Kênia, secretárias do PPGCEA, agradeço pelo carinho e ajuda com os trâmites.

Ainda, agradeço à UNIFAL pela oportunidade de poder me descobrir como amante da ciência.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

*Mesmo que eu tivesse o dom da profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência;
mesmo que tivesse toda a fé, a ponto de transportar montanhas,
se não tiver amor, nada serei.*

1 Coríntios 13:2

RESUMO

A drenagem ácida de mina (DAM) representa, atualmente, um dos maiores riscos e impactos ambientais associados a atividade das indústrias extrativas minerais. O tratamento se faz indispensável pois os danos podem ser irreversíveis. Entretanto, devido a diversidade de rochas e métodos de extração, a DAM pode apresentar características diversas e necessidades de tratamento específicas. Tendo em vista esta problemática, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento da partida de reatores em batelada sequenciais na remoção de sulfato presente em DAM sintética em diferentes regimes. Para tanto, utilizou-se um reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais (ASBR) alterando os parâmetros temperatura de operação e origem do inóculo. As eficiências de redução do sulfato, a remoção de ferro e a diversidade microbiana foram avaliadas sob as temperaturas de 15, 30 e 55°C com a utilização de dois diferentes inóculos, um lodo de origem sulfetogênica e outro de origem metanogênica. Foi mantida a relação afluente DQO/SO_4^{2-} de 1, sendo 1500 mg/L a concentração inicial de sulfato e etanol como fonte de carbono, em ciclos de 48 horas de duração. Para as operações em 30°C, utilizando o lodo adaptado ao efluente tratado (sulfetogênico) e outro não adaptado (metanogênico), obteve-se em média, respectivamente, 80 e 43% de remoção de sulfato durante a partida do reator. Para a temperatura de 15°C, obteve-se 27% para o lodo sulfetogênico e 31% para o lodo metanogênio. Enquanto que a 55°C, obteve-se em média 36 e 45% de eficiência de redução de sulfato para o inóculo adaptado e não adaptado, respectivamente. Com relação ao consumo da matéria orgânica em forma de DQO as partidas à 30°C apresentaram eficiência média de 50%, ao utilizar o lodo sulfetogênico, e de 92% para o lodo metanogênico enquanto que para 15°C obteve-se, em média, 26 e 47% de remoção e para 55°C, 31 e 19%, para os respectivos inóculos. Já quanto à remoção do metal ferro, os inóculos operados em faixa mesofílica apresentaram remoção média maiores que 99%, enquanto que para 15 e 55°C, encontrou-se, respectivamente: 35 e 85% para o inóculo adaptado à DAM e 60 e 93% para o inóculo não adaptado. Tais resultados sugerem influência da temperatura de operação e a origem do inóculo adotado na eficiência de remoção do sulfato, de matéria orgânica e ferro. A utilização de lodo sulfetogênico em geral obteve melhor desempenho ao final das fases, entretanto, a capacidade adaptativa do lodo metanogênico às diferentes temperaturas aplicadas infere uma maior diversidade microbiana presente.

Palavras-chave: Drenagem ácida de mina. Sulfato. Temperatura de operação. Origem do inóculo. ASBR.

ABSTRACT

Acid mine drainage (AMD) currently represents one of the greatest environmental risks and impacts associated with the activity of mineral extractive industries. The treatment is indispensable as the damages may be irreversible. However, due to the diversity of rocks and extraction methods, AMD may present diverse characteristics and specific treatment requirements. Considering this problem, the present work aimed to evaluate the startup period of sequencing batch reactors in the removal of sulfate present in synthetic AMD in different regimes. For that, an anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) was used, altering the parameters of operation temperature and origin of the inoculum. Sulfate reduction efficiencies, metal removal and microbial diversity were evaluated under the temperatures of 15, 30 and 55°C with the use of two different inoculums, one with sulfidogenic and another with methanogenic characteristics influent. The ratio COD/SO₄²⁻ of 1 was maintained, with the initial concentration of sulfate and ethanol as the carbon source being 1500 mg/L, in cycles of 48 hours. For the operations at 30°C, using the adapted to the treated effluent (sulfidogenic) and the unadapted sludge (methanogenic), an average of 80 and 43% sulfate removal was obtained, respectively, during reactor start-up. For the temperature of 15°C, 27% was obtained for the sulfidogenic sludge and 31% for the methanogen sludge. While at 55°C, an average of 36 and 45% of sulfate reduction efficiency was obtained for the adapted and unadapted inoculum, respectively. With respect to the consumption of organic matter in the form of COD, the startup at 30°C presented an average efficiency of 50%, when using the sulfidogenic sludge, and of 92% for the methanogenic sludge, whilst at 15°C, on average, 26 and 47% of removal and at 55°C, 31 and 19%, for the respective inoculum. As for iron metal removal, the inoculums operated in mesophilic range had an average removal of more than 99%, whereas for 15 and 55°C, respectively, 35 and 85% were found for the inoculum adapted to AMD and 60 and 93% for the unadapted inoculum. These results suggest an influence of operating temperature and origin of the inoculum adopted on the removal efficiency of sulfate, organic matter and iron. The use of sulfidogenic sludge obtained better performance at the end of the phases, however, the adaptive capacity of the methanogenic sludge, in different temperatures, infers a greater microbial diversity present.

Keywords: Acid mine drainage. Sulfate. Operating temperature. Inoculum origin. ASBR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Etapas de degradação anaeróbia da matéria orgânica na presença de sulfato.	18
Figura 4.1 - Fluxograma experimental.	23
Figura 4.2 - Esquema do reator utilizado	24
Figura 4.3 - Aparato experimental utilizado.....	25
Figura 4.4 - Estrutura do reator:	25
Figura 5.1 - pH do afluente e efluente e alcalinidade do efluente do reator em função dos ciclos de operação das fases A30, N30, A15, N15, A55 e N55.	33
Figura 5.2 - Concentração de sulfato do afluente e efluente e porcentagem de remoção do reator em função dos ciclos de operação das fases.....	35
Figura 5.3 - Concentração de DQO do afluente e efluente e porcentagem de remoção do reator em função dos ciclos de operação das fases A30, N30, A15, N15, A55 e N55..	37
Figura 5.4 - Contribuição da sulfetogênese na remoção de DQO.....	39
Figura 5.5 - Concentração de sulfeto do efluente do reator em função dos ciclos de operação das fases analisadas.	40
Figura 5.6 - Distribuições das formas de sulfeto em função do pH do meio.	42
Figura 5.7 - Concentração de ferro (Fe^{2+}) do afluente e efluente e porcentagem de remoção do reator em função dos ciclos de operação das fases A30, N30, A15, N15, A55 e N55.....	42
Figura 5.8 - Gráficos dos perfis temporais de pH, concentração de sulfeto e de ferro das fases.	44
Figura 5.9 - Gráficos dos perfis temporais de concentração de sulfato e DQO ao final das fases.	46
Figura 5.10 - Fotos dos frascos de antibióticos utilizados no experimento de NMP para BRS nas condições iniciais e finais das fases realizadas.	50
Figura 5.11 - Resultado das análises de NMP iniciais e finais.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Variação da energia livre para as rotas de degradação anaeróbia de H ₂ e acetato para as BRS e metanogênicas.....	18
Tabela 4.1 - Fases de operação do reator ASBR.	27
Tabela 4.2 – Composição do meio de cultura Postgate C.	28
Tabela 5.1 - Resultados médios obtidos nas condições de partida do ASBR.	32
Tabela 5.2 - Parâmetros obtidos nos perfis temporais para remoção de sulfato.	47
Tabela 5.3 - Parâmetros obtidos nos perfis temporais para consumo de DQO.	48
Tabela 5.4 - Valores obtidos de concentração residual de sulfato e de DQO pelo ajuste realizado e experimentalmente.	49
Tabela 5.5 – Resultados obtidos nas análises de NMP realizadas.....	51

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	OBJETIVOS	13
2.1	HIPÓTESE	13
2.2	OBJETIVO GERAL	13
2.3	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1	DRENAGEM ÁCIDA DE MINA (DAM)	14
3.2	TRATAMENTOS DE DAM.....	15
3.2.1.	Tratamento físico-químico.....	15
3.2.2.	Tratamento biológico.....	15
3.3	Bactérias redutoras de sulfato (BRS).....	17
3.4	CONDIÇÕES OPERACIONAIS E AMBIENTAIS	19
3.4.1.	Temperatura de operação.....	19
3.4.2.	Origem do inóculo	20
3.5	REATOR ANAERÓBIO OPERADO EM BATELADAS SEQUENCIAIS (ASBR).21	
4	METODOLOGIA.....	23
4.1	FLUXOGRAMA EXPERIMENTAL	23
4.2	REATOR ANAERÓBIO OPERADO EM BATELADAS SEQUENCIAIS (ASBR).23	
4.3	ÁGUA RESIDUÁRIA E INÓCULO	26
4.4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	26
4.5	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	27
4.6	QUANTIFICAÇÃO DAS BRS POR NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP)	28
4.7	AJUSTE CINÉTICO	29
5	RESULTADOS	31
5.1	AVALIAÇÃO DO pH E DA ALCALINIDADE.....	33
5.2	AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE SULFATO E DQO	35
5.3	AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE SULFETO E REMOÇÃO DE FERRO	40
5.4	PERFIS TEMPORAIS E AJUSTE CINÉTICO	44
5.5	QUANTIFICAÇÃO DAS BRS POR NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP)	49
6	CONCLUSÕES.....	53
	REFERÊNCIAS.....	54

1 INTRODUÇÃO

Drenagem ácida de mina (DAM) é a solução ácida gerada a partir do contato entre minerais que contêm sulfeto e agentes intempéricos, como água e ar atmosférico. A DAM é caracterizada pelo baixo valor de pH e alta concentração de poluentes como sulfato e metais pesados. Sua geração é um processo natural, porém representa um dos principais impactos ambientais atrelados à atividade mineradora.

As características físicas e químicas da DAM dependem da composição das rochas, dos métodos de extração dos minerais e das características ambientais de onde ela é gerada. No Brasil, as jazidas minerais estão distribuídas em diferentes regiões, o que faz encontrar diversas drenagens distintas com relação à sua temperatura, pH e concentração de íons.

O tratamento convencional da DAM baseia-se em processos físico-químicos de neutralização. Porém, tais processos apresentam desvantagens como o alto custo com reagentes e difícil disposição final dos rejeitos. Em contrapartida, tem-se o tratamento biológico por bactérias redutoras de sulfato (BRS), o qual tem apresentado resultados satisfatórios em relação a custos e eficiência de remoção de sulfato e metais.

A eficiência de remoção de sulfato e metais da DAM durante a partida de reatores biológicos é altamente influenciável pela origem do inóculo adotado. O tempo de duração entre a fase de adaptação ao efluente e a fase de estabilização, ou de eficiência máxima de remoção de sulfato, pode ser reduzido se o inóculo escolhido apresentar espécies adaptadas aos poluentes e às condições ambientais impostas. Entretanto, existem dificuldades em se obter inóculos previamente selecionados para as condições operacionais desejadas.

A temperatura de operação dos reatores biológicos, destinados ao tratamento da DAM, pode afetar a eficiência dos mesmos, uma vez que a temperatura é um fator determinante da velocidade das reações químicas e enzimáticas envolvidas no processo. Ainda, a temperatura aplicada pode causar danos irreversíveis aos componentes celulares, caso esta não seja correlata às temperaturas cardiais dos microrganismos presentes.

Diante desta problemática, e objetivando a reprodução de diferentes ambientes de geração e tratamento de DAM, ou ainda, a aplicação tecnológica no tratamento de águas residuárias industriais ricas em sulfato, operou-se um reator anaeróbio operado em bateladas sequencias (ASBR) em diferentes temperaturas, utilizando duas diferentes fontes de inóculo: uma adaptada à DAM (sulfetogênica) e outra não (metanogênica).

2 OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESE

A temperatura de operação e o inóculo escolhido influenciam a partida de um reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais para emprego no tratamento biológico de drenagem ácida de mina sintética.

2.2 OBJETIVO GERAL

Avaliar a partida de um reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais submetido a diferentes temperaturas de operação empregando-se diferentes inóculos no tratamento biológico de DAM sintética.

2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

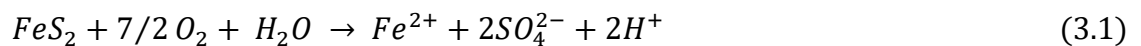
- a) Avaliar a partida de um reator sulfetogênico nas condições psicrófila (15°C), mesófila (30°C) e termófila (55°C), utilizando ainda, para cada condição de temperatura, duas diferentes fontes de inóculo: um lodo proveniente do tratamento de DAM sintética e outro de origem metanogênica;
- b) Avaliar a remoção de ferro durante as diferentes condições de partida do ASBR;
- c) Determinar os parâmetros cinéticos da degradação biológica do sulfato e do consumo de matéria orgânica para três diferentes temperaturas de operação e dois diferentes inóculos;
- d) Quantificar o crescimento de microrganismos do grupo BRS por análise de número mais provável (NMP) ao longo das diferentes condições de operação.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

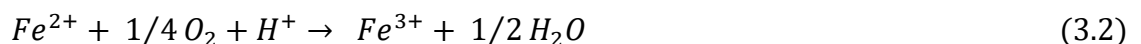
3.1 DRENAGEM ÁCIDA DE MINA (DAM)

O desenvolvimento social e econômico de uma região muitas vezes está atrelado as atividades mineradoras do local. Porém, tais atividades em grande escala, ao longo do tempo, podem se demonstrar prejudiciais ao meio ambiente, caso seus resíduos não sejam tratados e dispostos adequadamente. É o caso da drenagem ácida de mina (DAM), que se tornou um dos problemas ambientais mais graves associado à mineração (FARIAS, 2002).

A DAM é a solução aquosa gerada na reação de minerais sulfetados, geralmente pirita (FeS_2), com a água e o oxigênio atmosférico. Tal reação tem como produto sulfato dissolvido e íons de ferro (Fe^{2+}), conforme descrito pela Equação 3.1. Embora ocorra de forma natural, atividades mineradoras podem intensificar a produção de DAM a partir do aumento da quantidade de sulfetos expostos (AKCIL; KOLDAS, 2006).



O sulfato formado na geração da DAM se associa a água e gera ácido sulfúrico, o que reduz expressivamente o pH da solução, chegando a valores inferiores a 3,5. As condições de temperatura, presença de oxigênio, pH, superfície de contato e presença de microrganismos podem alterar e intensificar a velocidade de geração da DAM. Ainda, se o ambiente de ocorrência da geração da DAM for suficientemente oxidante, uma parcela do íon Fe^{2+} irá oxidar a Fe^{3+} de acordo com Equação 3.2 (AKCIL; KOLDAS, 2006).



Na faixa de pH entre 2,3 e 3,5, o íon férrico precipita na forma de $Fe(OH)_3$ segundo a Equação 3.3 (AKCIL; KOLDAS, 2006).



A DAM formada é capaz de dissolver os sais e metais presentes no meio que agravam os impactos causados no ambiente e ainda persistem por um longo período de tempo. Assim, os corpos receptores desta solução têm a qualidade afetada, comprometendo a vida aquática e possíveis atividades como abastecimento público (ROBINSON-LORA; BRENNAN, 2009). Diante disto, o controle e o tratamento das soluções ácidas geradas pela atividade mineradora fazem-se de extrema importância para garantir a viabilidade e segurança ambiental do processo (RODRIGUEZ *et al.*, 2012).

3.2 TRATAMENTOS DE DAM

3.2.1. Tratamento físico-químico

Os métodos físico-químicos mais comuns para o tratamento da DAM envolvem processos de neutralização da acidez e consequente precipitação de metais trivalentes na forma de hidróxidos. Geralmente os agentes neutralizantes são compostos alcalinos a base de cal ou soda cáustica. Tais métodos se baseiam nos princípios da precipitação química, troca iônica e osmose reversa (HAO, 2000).

As principais desvantagens destes métodos consistem no alto custo com reagentes químicos, baixa eficiência na remoção de poluentes, como sulfato e metais bivalentes, e geração de lama com alto teor metálico, que deve ter disposição final adequada (DINU *et al.*, 2014).

3.2.2. Tratamento biológico

Como alternativa ao tratamento tradicional, tem-se o tratamento biológico. Nesta frente, as bactérias redutoras de sulfato (BRS) reduzem o sulfato contido na DAM a sulfeto de hidrogênio, por meio de metabolismo dissimilatório. Embora a geração de sulfeto pelas BRS possa representar problemas de poluição ou corrosão de alguns materiais, tal processo pode estar vinculado a remoção de metais pesados de efluentes através da precipitação de sulfetos metálicos insolúveis (COSTA *et al.*, 2009; ROBINSON-LORA; BRENNAN, 2009).

A Equação 3.4 representa a produção biológica de sulfeto por meio da redução do sulfato (RODRIGUEZ *et al.*, 2012).



Sendo que CH_2O é a representação da molécula de matéria orgânica doadora de elétrons.

Neste processo de redução do sulfato há, ainda, a neutralização da acidez da DAM a partir da produção de alcalinidade pela molécula de HCO_3^- .

Na Equação 3.5 percebe-se a precipitação de metais, na forma de sulfeto metálico, que ocorre de acordo com a geração de sulfeto de hidrogênio (RODRIGUEZ *et al.*, 2012):



Em que:

M : metal presente no meio, que pode ser zinco (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni), cobalto (Co), ferro (Fe), mercúrio (Hg), chumbo (Pb), cádmio (Cd) ou prata (Ag).

Assim, o método biológico se sobressai ao tratamento físico-químico da DAM, uma vez que, apresenta baixo custo operacional, gera alcalinidade suficiente para neutralização do afluente e ainda permite a recuperação do enxofre elementar e de metais na sua forma precipitada, com menor custo de disposição final do lodo (LAPA, 2003; SARTI; ZAIAT, 2011).

Cunha *et al.* (2018) observaram uma eficiência de remoção biológica de sulfato de $(92,1 \pm 1,8)\%$ de DAM sintética com 80% de remoção de matéria orgânica (DQO), ao aplicar uma carga de $2,25 \text{ g SO}_4^{-2} \text{ L}^{-1}\text{d}^{-1}$ e relação DQO/ SO_4^{-2} de em reator UASB, com TDH de 16 horas. Já Bertolino *et al.* (2014) alcançaram, em reator biológico de leito fluidizado, 97 e 89% de remoção de sulfato ao utilizar lactato e glicerol como fontes de carbono, respectivamente. Para o primeiro caso, foi mantido uma carga de sulfato de $4,8 \text{ g SO}_4^{-2} \text{ L}^{-1}\text{d}^{-1}$, relação DQO/ SO_4^{-2} de 2,6 e tempo de retenção hidráulica de 10 horas. Enquanto que, para glicerol como fonte de carbono, o sulfato foi mantido em $3,6 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$, a relação DQO/ SO_4^{-2} em 2,3 e tempo de retenção hidráulica em 15 horas.

3.3 Bactérias redutoras de sulfato (BRS)

É convencionalmente chamado de “bactérias redutoras de sulfato (BRS)” o grupo de microrganismos, composto por representantes dos Domínios Bacteria e Archea, que conduzem a redução dissimilatória do sulfato. Tal grupo desempenha um papel importante tanto no ciclo do enxofre quanto no do carbono (BARTON; HAMILTON, 2009).

As BRS utilizam o sulfato como acceptor final no sistema de transporte de elétrons, reduzindo este a sulfeto de hidrogênio, por meio da respiração anaeróbia. E, para que a redução ocorra, as BRS utilizam compostos orgânicos de cadeia curta como doadores de elétrons, embora algumas espécies também utilizem H₂ (MUYZER; STAMS, 2008).

De acordo com sequências do RNA ribossomal, definiram-se quatro grupos de BRS: BRS mesofílicas gram-negativas; BRS formadoras de esporo gram-positivas; BRS termofílicas e ARS - arqueias redutoras de sulfato (CASTRO; WILLIAMS; OGRAM, 2000).

Quanto às linhagens filogenéticas, as BRS são divididas em sete grupos. Os grupos bacterianos em que as BRS se encontram são: *Deltaproteobacteria*, *Nitrospirae*, *Clostridia*, *Thermodesulfobiaceae* e *Thermodesulfobacteria*. Já as arqueias se encontram nos grupos: *Euryarchaeota*, e *Crenarchaeota* (CASTRO; WILLIAMS; OGRAM, 2000).

Ainda, as BRS podem ser classificadas de acordo com a capacidade de oxidação da matéria orgânica. São dois grupos: BRS de oxidação incompleta e BRS de oxidação completa. O primeiro grupo é caracterizado por degradarem a matéria orgânica de maneira incompleta de forma a obter acetato como produto da oxidação. Enquanto que, o grupo de oxidação completa, degrada a matéria orgânica a dióxido de carbono (CO₂) (MUYZER; STAMS, 2008).

A Figura 3.1 representa as rotas metabólicas de degradação da matéria orgânica quando o sulfato está presente como receptor de elétrons. Ressalta-se que as macromoléculas, primeiramente, são hidrolisadas tornando-se monômeros, que por sua vez, são fermentados. Este processo inicial se faz fundamental para que as BRS possam utilizar a matéria orgânica como substrato.

A eficiência da redução do sulfato pode ser influenciada pela competição por substratos entre as BRS e as arqueias metanogênicas, pois as mesmas também utilizam acetato e H₂ como substrato para o crescimento. Contudo, as reações de redução de sulfato pelas BRS são termodinamicamente mais favoráveis que as reações de formação de metano, uma vez que as primeiras possuem variações de energia livre de Gibbs (ΔG°) mais eletronegativas, conforme mostrado pela Tabela 3.1 (MUYZER; STAMS, 2008).

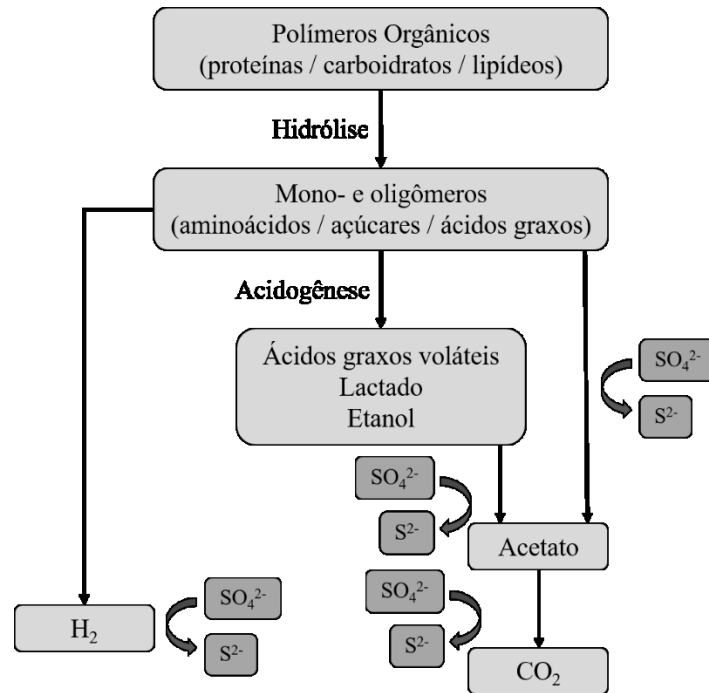


Figura 3.1 - Etapas de degradação anaeróbica da matéria orgânica na presença de sulfato.

Fonte: Adaptado de MUYZER; STAMS, 2008.

Tabela 3.1 - Variação da energia livre para as rotas de degradação anaeróbica de H₂ e acetato para as BRS e metanogênicas.

REAÇÃO	ΔG° (kJ/reação)
Bactérias redutoras de sulfato	
$4H_2 + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow HS^- + 4H_2O$	-151,9
$Acetato + SO_4^{2-} \rightarrow HS^- + 2HCO_3^-$	-47,6
Metanogênicas	
$4H_2 + 2HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_4 + 3H_2O$	-135,6
$Acetato + H_2O \rightarrow CH_4 + 3HCO_3^-$	-31,0

Fonte: Adaptado de MUYZER; STAMS, 2008.

O acúmulo de acetato como intermediário, durante a degradação de compostos orgânicos como butirato e etanol, pode favorecer a colaboração entre as duas populações, já que o acetato é substrato comum entre tais (DAMIANOVIC; FORESTI, 2007). O sintrofismo entre BRS e arqueias metanogênicas, neste caso, é primordial para a manutenção e funcionalidade do processo de degradação da matéria orgânica.

Outros fatores também podem estar associados a competição entre BRS e arqueias metanogênicas como constantes cinéticas de Monod, pH, e concentração de sulfato e de DQO (CHERNICHARO, 2007).

3.4 CONDIÇÕES OPERACIONAIS E AMBIENTAIS

Alguns parâmetros podem interferir na atividade e crescimento das BRS como: pH, temperatura, sulfeto, concentração dos metais do efluente e a relação carbono orgânico total com sulfato (BRATKOVA; KOUMANOVA; BESCHKOV, 2013). Esta ampla variedade de condições ambientais e substratos está atrelada ao desenvolvimento e seleção de diferentes espécies no grupo das BRS em diferentes ambientes (MUYZER; STAMS, 2008).

3.4.1. Temperatura de operação

A temperatura pode afetar os microrganismos de duas formas: favorecendo o aumento da velocidade das reações químicas e enzimáticas ou provocando danos irreversíveis aos componentes celulares. Para cada microrganismo há três temperaturas cardeais: a temperatura mínima (abaixo da qual não é possível o crescimento), a temperatura ótima (quando a taxa de crescimento é máxima) e a temperatura máxima (acima da qual o crescimento não é possível) (MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J., 2002).

Para os processos biológicos, os microrganismos se classificam de acordo com as seguintes faixas de temperatura: psicrofílos com ponto ótimo entre 4 e 15°C, mesófilos com ponto ótimo de 20 a 40°C, termófilos com ponto ótimo entre 45 e 80°C e hipertermófilos com o ponto ótimo em temperaturas mais elevadas (MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J., 2002).

Como a temperatura do sistema exerce grande influência nas taxas das reações enzimáticas e na difusão de substratos para os microrganismos, os parâmetros cinéticos, como coeficiente de saturação e velocidade máxima de consumo podem se alterar de acordo com as variações operacionais (MUYZER; STAMS, 2008).

As BRS apresentam representantes nos grupos psicrófilos, mesófilos, termófilos e hipertermófilos (LOWE *et al.*, 1993). Embora o ambiente favorável ao crescimento das BRS, em geral, seja mesófilo, não se deve subestimar os resultados de tal grupo em ambientes psicrófilos ou termófilos.

Knoblauch e Jergensen (1999a) trabalharam com 19 cepas de espécies psicrófilas de BRS isoladas de sedimentos do Ártico. Os resultados indicaram que as redutoras de sulfato psicrófilas têm taxas metabólicas específicas para o consumo de sulfato consideravelmente mais altas do que as espécies homólogas mesofílicas em baixas temperaturas. Domingues *et al.* (2006) obtiveram, em reator em batelada operado a 55°C e inoculado com 10% de biomassa termófila, aproximadamente de 52,2% redução de sulfato de um meio basal, para concentração inicial de 1125,0 mg/L, utilizando lactado de sódio como fonte de carbono e mantendo a relação DQO/SO₄²⁻ igual a 1,4.

As BRS termofílicas são melhores caracterizadas pelas espécies *Thermodesulfobacterium commune* e *Thermodesulfovibrio yellowstonii*, as quais apresentam temperatura ótima de crescimento de 65 e 70°C respectivamente. Ainda, as espécies *Archaeoglobus fulgidus* e *Archaeoglobus profundus* são pertencentes ao grupo das arqueas termofílicas e apresentam temperatura ótima de crescimento acima de 80°C (CASTRO; WILLIAMS; OGRAM, 2000). Enquanto que as espécies *Desulfofigrus oceanense*, *Desulfofrigus fragile*, *Desulfofaba gelida*, *Desulfotalea psychrophila* e *Desulfotalea arctica* são classificadas no grupo de BRS psicrófilas. Estas últimas apresentam temperatura ótima de crescimento de 10, 18, 7, 10 e 18°C respectivamente, porém são capazes de crescer em temperaturas a baixo de -1,8°C (KNOBLAUCH; JERGENSEN, 1999b).

3.4.2. Origem do inóculo

A eficácia da partida de um reator biológico muitas vezes está atrelada à origem do inóculo escolhido. Reatores com inóculos que, de algum modo, já tenham suas espécies selecionadas para as condições de operações aplicadas tendem a apresentar melhores resultados mais rapidamente quando comparados à operação de reatores com inóculos não adaptados a estas condições.

Esta circunstância se dá pelo prévio tratamento dado ao lodo, o que favoreceu o crescimento de microrganismos capazes de tratar os poluentes desejados às condições ambientais impostas (CHERNICHARO, 2007).

Para o tratamento biológico de DAM, ou de águas residuárias ricas em sulfato, normalmente utilizam-se fontes de lodo anaeróbios de reatores que trataram tal tipo de efluente. Entretanto, devido à baixa oferta de fontes biológicas específicas, opta-se muitas vezes por utilizar fontes de lodos anaeróbios, como o excedente do tratamento de efluentes domésticos ou industriais. Estas fontes tornam-se uma boa alternativa, uma vez que, apresentam alta diversidade microbiana por não tratarem efluentes tão específicos.

Outras condições operacionais como temperatura e pH também são fatores que podem determinar a eficácia do tratamento do efluente pelo inóculo durante a partida de um reator, já que algumas espécies de microrganismos podem ser favorecidas ou desativadas a partir destes fatores, contribuindo ou não para os resultados esperados (MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J., 2002). Quando são adotados inóculos não adaptados às condições de operação aplicadas, os reatores podem exigir um período de adaptação para que se atinja a eficiência desejada no tratamento.

3.5 REATOR ANAERÓBIO OPERADO EM BATELADAS SEQUENCIAIS (ASBR)

Um ASBR (*anaerobic sequencing batch reactor* – reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais) é caracterizado por seu fluxo intermitente e seu funcionamento dividido em 4 etapas básicas, sendo estas: alimentação, reação, sedimentação e descarga. Sendo que a primeira fase consiste no preenchimento do reator com o inóculo orgânico e um volume pré-determinado da água residuária a ser tratada. Já a fase de reação trata-se da mistura, a qual garante o contato entre os microrganismos e o substrato, por um período de tempo. Nesta fase ocorre a atividade metabólica dos microrganismos que promove a remoção do poluente. A terceira fase, a de sedimentação, faz-se pelo período em que cessa a agitação e a biomassa decanta no interior do reator para possibilitar que a quarta fase, a de descarga, ocorra, já que a finalidade desta é o descarte do efluente tratado mantendo a biomassa no interior do reator (LAPA, 2003; SARTI; ZAIAT, 2011).

Os reatores anaeróbios em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada otimizam o processo de reação, uma vez que, dispensam o período de sedimentação por manter a biomassa

agregada em dispositivos no interior do reator. Manter a biomassa no interior do reator por imobilização representa um tempo reacional menor para a mesma eficiência. Geralmente utiliza-se material inerte na contenção da biomassa, como por exemplo, carvão mineral e polímeros (LAPA, 2003).

Os ASBRs têm como características a alta flexibilidade de operação, ou seja, têm-se controle do tempo de ciclo, simples operação e baixo custo. Alguns fatores de fácil controle como a configuração geométrica do reator, a agitação e a estratégia de alimentação podem afetar a eficiência do tratamento das águas residuárias de forma intermitente. Assim, visto sua versatilidade, um ASBR se torna uma alternativa ao tratamento biológico de águas residuárias (COSTA; RODRIGUEZ; SANCINETTI, 2017).

Trabalhos recentes desenvolvidos por Castro Neto *et al.* (2018) e Costa, Rodriguez e Sancinetti (2017) apresentaram eficiências de remoção de sulfato, com valores de 65% e 72,8% respectivamente, consideradas satisfatórias, para DAM sintética utilizando-se ASBR. Costa, Rodriguez e Sancinetti (2017) avaliaram a remoção de sulfato de um ASBR ao elevar as concentrações dos metais do meio para 400, 20 e 5 mg/L de Fe, Cu e Zn respectivamente. A concentração inicial de sulfato foi de 1,5 g/L com relação DQO/SO₄²⁻ igual a 1 em ciclos de 48 horas. Castro Neto *et al.* (2018) avaliaram a remoção de sulfato em dois diferentes tempos de ciclo, 24 e 48 horas. Neste caso, os resultados apontaram melhor eficiência de remoção de sulfato ao manter a concentração de sulfato em 1,5 g/L, relação DQO/SO₄²⁻ igual a 1 e ciclos de operação de 48 horas.

Neste contexto, propôs-se a utilização de reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais (ASBR) no tratamento biológico de DAM sintética. Avaliando-se, assim, a partida do ASBR para diferentes temperaturas com diferentes inóculos objetivando a reprodução de seis diferentes condições de operação, ao modo que fosse avaliado a eficiência da redução do sulfato e a interferência na comunidade microbiana.

4 METODOLOGIA

Todos os ensaios foram realizados nos Laboratório de Biotecnologia Anaeróbia e de Microbiologia Ambiental da Universidade Federal de Alfenas, campus Poços de Caldas.

4.1 FLUXOGRAMA EXPERIMENTAL

A Figura 4.1 apresenta as etapas operacionais deste trabalho.

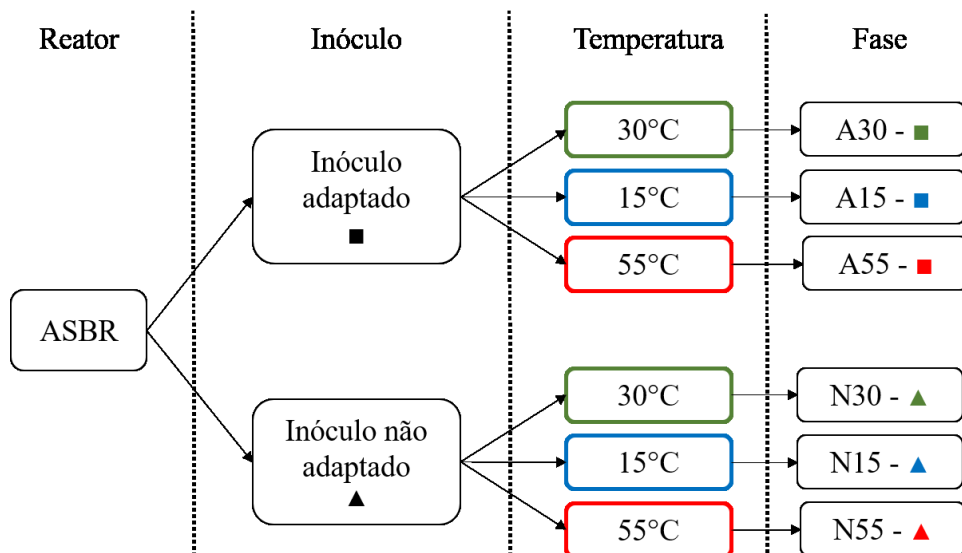


Figura 4.1 - Fluxograma experimental.

Fonte: Da autora.

4.2 REATOR ANAERÓBIO OPERADO EM BATELADAS SEQUENCIAIS (ASBR)

O reator utilizado possuía capacidade total de 7 litros, sendo 6,5 litros úteis. O reator tinha forma cilíndrica, sendo construído em material acrílico e com um sistema de agitação por hélice de 3 pás inclinadas, contidas em um sistema Draft-tube, que proporcionou a homogeneização do meio reacional diante da sua rotação de 50 rpm. Tal valor de rotação é resultado do estudo anterior conduzido por Castro Neto (2015), o qual avaliou a

homogeneização do sistema a partir de testes de condutividade elétrica por uma solução concentrada de NaCl. As dimensões do ASBR utilizado estão representadas na Figura 4.2.

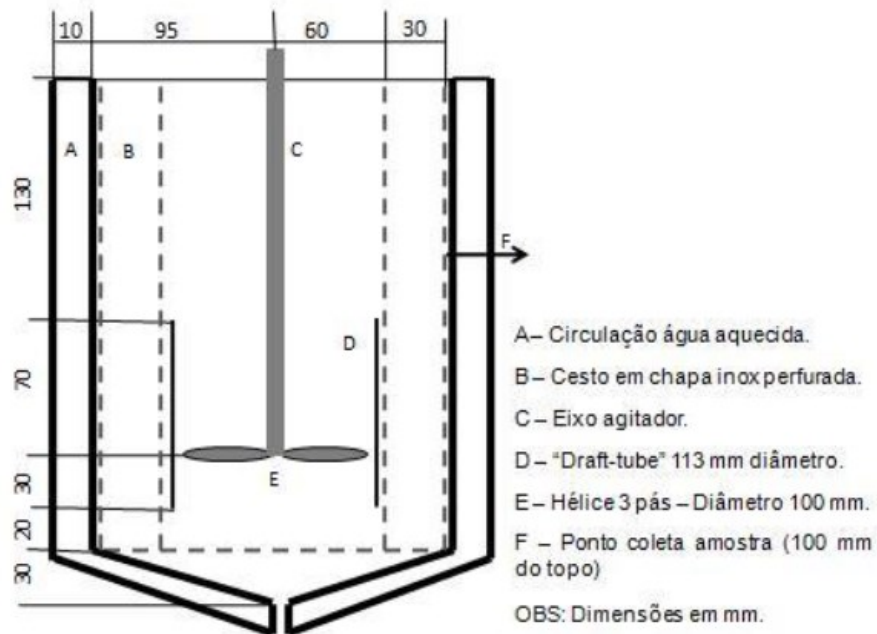


Figura 4.2 - Esquema do reator utilizado

Fonte: Castro Neto (2015, p. 33).

O reator foi interligado a uma bomba de alimentação e uma de descarga, a um temporizador e ao agitador mecânico de acordo com a Figura 4.3. Manteve-se a camisa do ASBR conectada a um sistema de banho-maria de água circulante com o intuito de manter as temperaturas experimentais. O reator foi envolto por um material opaco a fim de evitar o crescimento de organismos fototróficos que poderiam interferir no consórcio microbiano.

Ainda, a biomassa foi confinada em um cesto de aço inox com furos de 2,0 mm para manter a integridade dos grânulos. Tal cesto, bem como a estrutura do reator, pode ser observado na Figura 4.4.

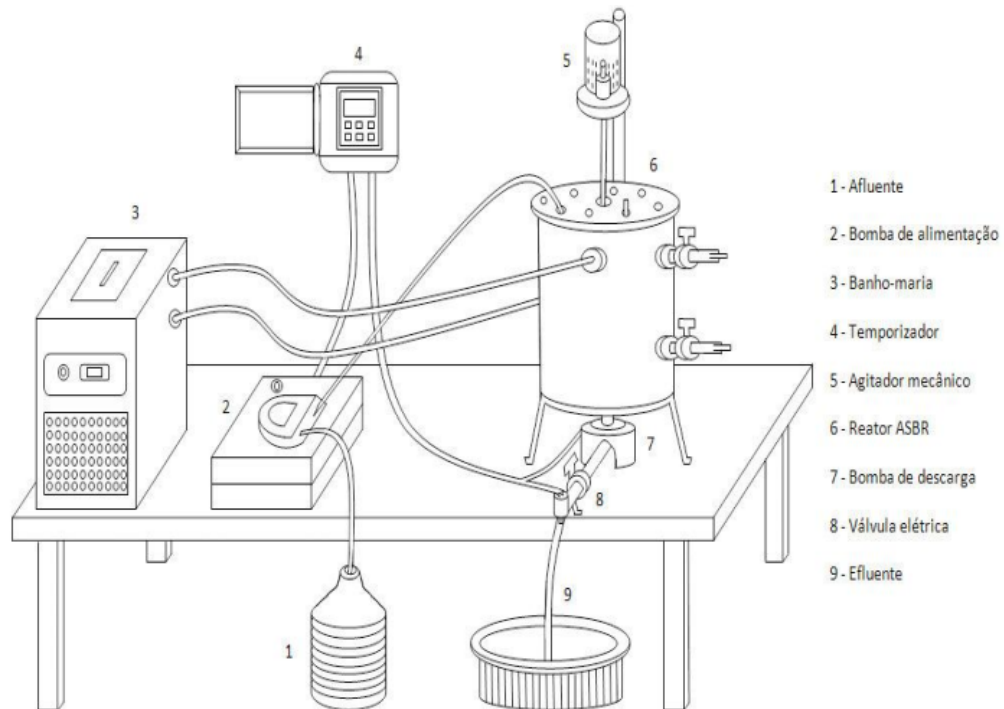


Figura 4.3 - Aparato experimental utilizado

Fonte: Costa (2017, p. 24).

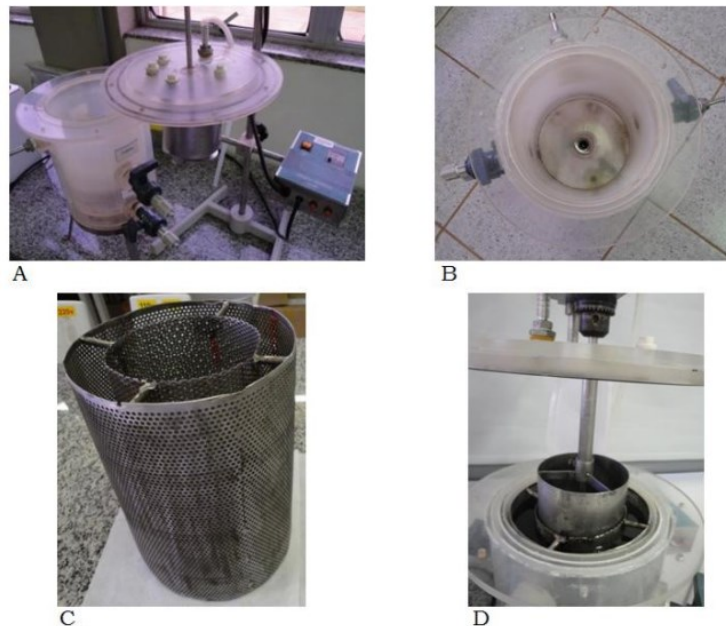


Figura 4.4 - Estrutura do reator:

- A) Tampa e corpo do reator
- B) Vista interna do corpo do reator
- C) Cesto metálico
- D) Montagem do draft tube do agitador

Fonte: Castro Neto (2015, p. 34).

4.3 ÁGUA RESIDUÁRIA E INÓCULO

A cada início de fase (descritas no item 4.4), o reator foi inoculado com aproximadamente 1 litro de biomassa sendo que, a origem do lodo utilizado foi dependente da etapa operacional. Foi utilizada biomassa adaptada ao tratamento da DAM proveniente do reator UASB operado por Ribeiro (2017) à 30°C utilizando soro de leite a fonte de carbono para o tratamento. E, a segunda origem do inóculo foi proveniente de um reator UASB metanogênico mesofílico aplicado no tratamento de efluentes da avícola Dacar, sediada no município de Tietê - SP. O primeiro inóculo apresentou concentração de sólidos voláteis de 93 g/L, e o segundo, 105 g/L.

A água residuária sintética simulando a DAM foi baseada nos procedimentos descritos por Vieira *et al.* (2016) e continha a seguinte composição de sais (mg/L): Na₂SO₄ (1832), FeSO₄.7H₂O (496), MgSO₄.7H₂O (213), NH₄Cl (58), ZnCl₂ (42), NH₂PO₄.H₂O (34) e CuSO₄.5H₂O (20). Para esta composição a concentração de SO₄²⁻ foi de aproximadamente 1500 mg/L, 100 mg/L de Fe²⁺, 20 mg/L de Zn²⁺ e 5 mg/L de Cu²⁺.

A concentração de DQO, obtida a partir da adição de 0,91 mL de etanol para cada litro de DAM preparada, foi de aproximadamente 1500 mg/L, o que manteve a relação DQO/ SO₄²⁻ próxima a 1. A DAM sintética preparada foi homogeneizada fora do reator, corrigindo-se o pH para 4,0 com a adição de HCl 4M.

A escolha do etanol como doador de elétrons se deu pela sua fácil obtenção, seu custo relativamente baixo e por ser um substrato facilmente oxidado pelas BRS (KAKSONEN; PUHAKKA, 2007).

4.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O trabalho foi dividido em 6 fases em função das diferentes temperaturas e origem do inóculo aplicado. O reator foi submetido às seguintes temperaturas: 15°C, 30°C e 55°C. Utilizou-se dois inóculos diferentes para cada temperatura operada, sendo um adaptado ao tratamento da DAM e outro de origem metanogênica.

A cada troca de fase o reator foi limpo e inoculado com a biomassa referente à fase iniciada (adaptada ou não adaptada).

Os ciclos de operação do reator em batelada apresentaram duração de 48 horas, sendo que o tempo de alimentação do reator foi de aproximadamente de 14 minutos e de descarga de 2 minutos.

A Tabela 4.1 apresenta as fases de operação do reator ASBR realizadas durante o trabalho experimental.

Tabela 4.1 - Fases de operação do reator ASBR.

Fase	Condição operacional		Representado por Afluente / Efluente	Quantidade de ciclos analisados
	Temperatura (°C)	Inóculo		
A30	30	Adaptado	■ / □	29
N30	30	Não adaptado	▲ / △	33
A15	15	Adaptado	■ / □	32
N15	15	Não adaptado	▲ / △	21
A55	55	Adaptado	■ / □	15
N55	55	Não adaptado	▲ / △	24

Fonte: Da autora.

O monitoramento do sistema ocorreu por meio de análises de sulfato, sulfeto, pH, DQO, ferro e alcalinidade ao início e término de cada ciclo. No início e fim de cada fase foram realizadas as análises de número mais provável (NMP).

Ao término de cada fase fez-se as análises físico-químicas ao longo ciclo de 48 horas, caracterizando um perfil temporal de consumo/produção dos compostos. O critério para encerramento das fases foram quando os últimos cinco resultados obtidos estivessem estabilizados (baixa variação entre eles) e/ou quando a fase atingisse a marca de 35 ciclos.

4.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas realizadas seguiram as técnicas descritas por APHA *et al.* (2012). Foram realizadas análises de remoção de matéria orgânica, em forma de DQO pelo método colorimétrico de refluxo fechado -5220 D, já as quantificações de sulfato seguiram o

método 4500-SO₄²⁻E (turbidimétrico) e as quantificações de sólidos, o método 2540 (gravimétrico).

Ainda, as análises de pH realizadas foram de acordo com o método eletrométrico 4500-H⁺ B e, para a determinação da concentração de ferro, utilizou-se o método 3500-Fe B.

Para a determinação do sulfeto total dissolvido (S²⁻) empregou-se o método colorimétrico em espectrofotômetro por meio do kit *Hach*® específico para este tipo de análise. Para a quantificação de alcalinidade a bicarbonado do efluente obtido utilizou-se o método titulométrico descrito por Ripley *et al.* (1986) e para as análises de ácidos voláteis, o método de Dilallo e Albertson (1961).

4.6 QUANTIFICAÇÃO DAS BRS POR NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP)

A fim de se quantificar o grupo de bactérias redutoras de sulfato (BRS) dos lodos empregados utilizou-se o método de estimação de densidade bacteriana - 9221 C (APHA *et al.*, 2012) ao início e fim de cada fase. Este método, denominado Número Mais Provável (NMP), consistiu em realizar diluições decimais seriadas de uma amostra da biomassa e inocular 1 mL destas diluições em quintuplicatas de um meio de cultivo específico. Este meio foi constituído por 8,8 mL de Postgate C (Tabela 4.2), 0,1 mL de sulfeto de sódio (0,4%) e 0,1 mL de sulfato ferroso (1%). Realizadas as inoculações, os fracos antibióticos foram submetidos ao gás Nitrogênio e mantidos a 30°C durante 30 dias em uma estufa.

Tabela 4.2 – Composição do meio de cultura Postgate C.

Sais e reagentes	Quantidades – q.s.p. 1000 ml de água ultrapurificada
<i>NH₄Cl</i>	1,0 g
<i>KH₂PO₄</i>	0,5 g
<i>MgCl₂. 6H₂O</i>	0,1 g
<i>CaCl₂. 6H₂O</i>	0,06 g
<i>Na₂SO₄</i>	4,5 g
<i>MgSO₄</i>	0,06 g
<i>Lactato de sódio</i>	6,0 g
<i>Extrato de levedura</i>	1,0 g
<i>C₆H₅O₇Na₃ (citrato de sódio)</i>	0,3 g
<i>Solução de Resazurina</i>	1,0 ml

Fonte: Postgate, 1984.

O sulfeto, produzido pelas BRS durante este período, reage com o sal ferroso contido no meio. Esta reação gera um precipitado negro (FeS) que incide na diminuição da turbidez do meio de cultivo. Quando identificada tal ocorrência, considera-se positivo o crescimento do grupo de microrganismos analisado (Postgate, 1984).

Ao se realizar a contagem dos frascos positivos e negativos das três últimas diluições consecutivas contendo resultados positivos, identificou-se a combinação correspondente e obteve-se o valor NMP por meio da Tabela de Índice de NMP disponível em APHA *et al.* (2012). Tendo este valor, aplicou-se a Equação 4.1 para se conhecer o valor NMP do experimento em questão.

$$\frac{NMP}{100 \text{ mL}} = Valor \ NMP \cdot \frac{10}{V} \quad (4.1)$$

Em que V corresponde a menor diluição da série de combinação dos frascos positivos.

4.7 AJUSTE CINÉTICO

Ao final de cada condição experimental foi realizada a análise temporal dos dados físico-químicos de entrada e saída do reator, a qual forneceu os parâmetros cinéticos aparentes da redução de sulfato e consumo de DQO. O modelo para obtenção de tais parâmetros consiste em um modelo de primeira ordem, o qual é descrito pela Equação 4.2. Adotou-se tal modelo pois considerou-se que a transferência de massa entre o grânulo da biomassa e efluente sintético foi o fator limitante do processo de redução do sulfato e consumo de DQO (CAMARGO *et al.*, 2002).

$$\frac{dS}{dt} = -K^{ap}S \quad (4.2)$$

Em que:

dS/dt : velocidade de consumo do substrato (mg/L.h)

S: concentração de substrato (mg/L)

K^{ap} : constante cinética aparente (1/h)

A constante K^{ap} denominou-se constante cinética aparente pois incorpora a constante cinética intrínseca e a resistência de transferência de massa já mencionada.

Ao considerar a formação de substrato residual, o qual representa a concentração de substrato quando a velocidade de reação de consumo for zero, e ao aplicar o método integral com substituição de resolução obteve-se a Equação 4.3 (CAMARGO *et al.*, 2002).

$$\int_{S_0}^S \frac{dS}{(S - S_R)} = -K^{ap} \int_{t_0}^t dt$$

Ao considerar:

$$\begin{cases} S^* = S - S_R \\ dS^* = dS \end{cases}$$

Tem-se:

$$\int_{S_0^*}^{S^*} \frac{dS}{S^*} = -K^{ap} (t - t_0)$$

$$\ln \frac{S^*}{S_0^*} = -K^{ap} (t - t_0)$$

$$S^* = S_0^* e^{-K^{ap} (t - t_0)}$$

$$S = S_R + (S - S_R) e^{-K^{ap} (t - t_0)}$$

O que resulta em:

$$S(t) = S_R + (S_0 - S_R) \cdot e^{-K^{ap} \cdot t} \quad (4.3)$$

Em que:

$S(t)$: concentração de substrato no instante t (mg/L)

t : tempo de detenção hidráulica (h)

S_0 : concentração de substrato inicial (mg/L)

S_R : concentração de substrato residual (mg/L)

5 RESULTADOS

A Tabela 5.1 apresenta os resultados obtidos para a operação do ASBR nas diferentes condições de partida. Nesta tabela é possível verificar as concentrações médias de SO_4^{2-} e DQO afluente e efluente do reator ao longo das fases. Ainda, encontram-se os valores médios de pH, concentração de sulfeto e remoção de Fe^{2+} .

A partir dos resultados, verifica-se a produção de alcalinidade bem como o aumento dos valores de pH nas fases analisadas. E observa-se que em todas as fases os valores afluentes das concentrações SO_4^{2-} e DQO permaneceram em torno do valor proposto de 1500 mg/L, com relação DQO/ SO_4^{2-} próximo a 1.

Tabela 5.1 - Resultados médios obtidos nas condições de partida do ASBR.

	A30	N30	A15	N15	A55	N55
pH afluente	3,99 ± 0,02	3,97 ± 0,13	4,00 ± 0,01	3,99 ± 0,01	4,00 ± 0,02	4,00 ± 0,01
pH efluente	7,12 ± 0,19	6,97 ± 0,59	5,50 ± 0,50	5,38 ± 0,51	5,32 ± 0,28	5,61 ± 0,41
Alcalinidade efluente (mg/L de CaCO ₃)	115 ± 25	83 ± 16	12,0 ± 4,8	22,2 ± 7,2	22,0 ± 5,5	40 ± 29
Remoção SO ₄ ²⁻ (%)	79,9 ± 7,9	43 ± 24	27 ± 15	31 ± 12	36 ± 13	45 ± 10
Remoção DQO (%)	49,6 ± 8,1	91,6 ± 6,2	26 ± 13	47 ± 11	31 ± 13	19 ± 24
SO ₄ ²⁻ afluente (mg/L)	1355 ± 164	1663 ± 300	1374 ± 170	1329 ± 250	1478 ± 73	1459 ± 130
SO ₄ ²⁻ efluente (mg/L)	264 ± 86	1004 ± 453	988 ± 152	898 ± 142	951 ± 187	794 ± 159
DQO afluente (mg/L)	1492 ± 68	1501 ± 129	1473 ± 84	1324 ± 37	1394 ± 84	1477 ± 78
DQO efluente (mg/L)	749 ± 112	120 ± 88	1089 ± 216	705 ± 157	957 ± 144	1191 ± 337
DQO/SO ₄ ²⁻	1,12 ± 0,15	0,92 ± 0,15	1,09 ± 0,16	1,08 ± 0,24	0,94 ± 0,06	1,02 ± 0,07
Sulfeto efluente (mg/L)	165 ± 44	68 ± 47	31 ± 24	63 ± 26	62 ± 20	120 ± 38
Remoção Fe ²⁺ (%)	99,59 ± 0,23	99,55 ± 0,38	35 ± 28	60 ± 29	85 ± 10	92,8 ± 7,4
Quantidade de ciclos analisados	29	33	32	21	15	24
Temperatura de operação (°C)	30	30	15	15	55	55
Inóculo	Adaptado	Não adaptado	Adaptado	Não adaptado	Adaptado	Não adaptado

Fonte: Da autora.

5.1 AVALIAÇÃO DO pH E DA ALCALINIDADE

A Figura 5.1 apresenta os valores obtidos de pH afluente e efluente dos ciclos trabalhados, bem como os valores de alcalinidade a bicarbonato produzido no sistema ao decorrer das fases.

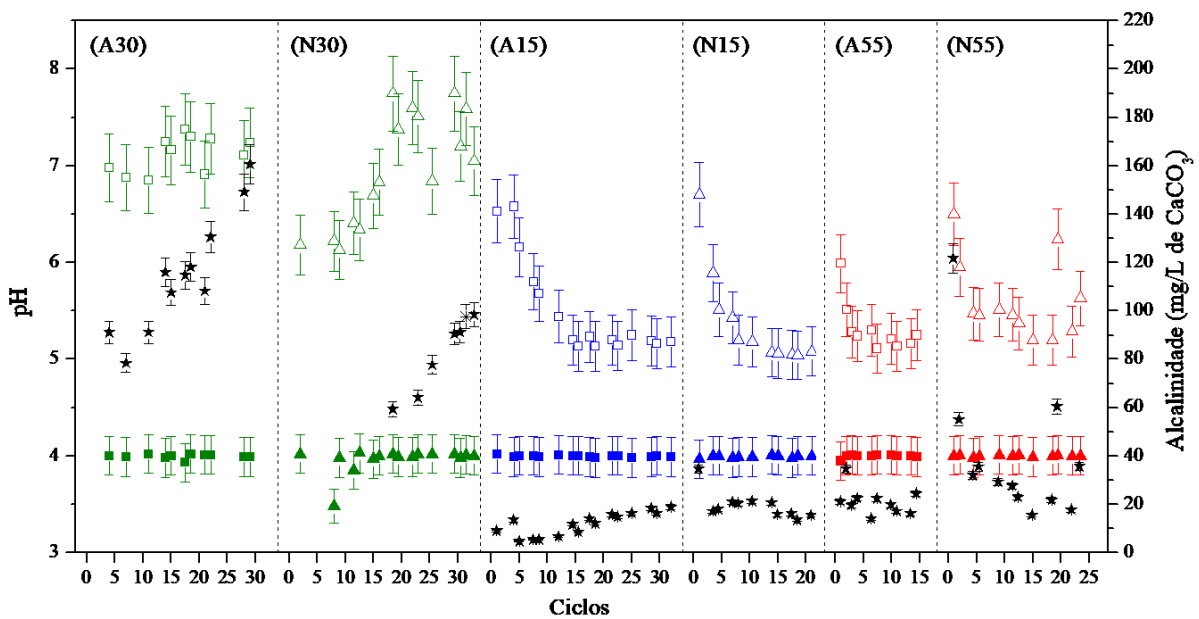


Figura 5.1 - pH do afluente e efluente e alcalinidade do efluente do reator em função dos ciclos de operação das fases A30, N30, A15, N15, A55 e N55.

Onde: (★) Alcalinidade efluente

(■) Inóculo adaptado (▲) Inóculo não adaptado

(■ / ▲) Afluente (□ / △) Efluente

(■ / ▲ / □ / △) 30°C (■ / ▲ / □ / △) 15°C (■ / ▲ / □ / △) 55°C

*Erro da metodologia de análise: 5%

Fonte: Da autora.

Verifica-se, a partir da análise do gráfico, que houve a elevação do pH efluente ao longo das duas primeiras fases e que a produção de alcalinidade também foi aumentada neste período. Tal observação indica que a elevação do pH não se deu apenas por transferência de massa na superfície granular com os reagentes da DAM sintética, mas também pelo consumo de acidez e geração de alcalinidade a bicarbonato prevista pela redução dissimilatória de sulfato, com oxidação completa da matéria orgânica, por BRS (conforme descrito na Equação 3.4)

Apesar das fases A30 e N30 atingirem valores de pH efluente próximos a neutralidade, a fase I, com a utilização do lodo adaptado à DAM, alcançou o valor de pH efluente 7 mais rapidamente que a fase N30. Enquanto na fase N30 observou-se tal valor após 15 ciclos, na fase A30 observou-se logo nos 5 primeiros ciclos de operação da etapa. Mockaitis *et al.* (2010) expõem que o valor de pH efluente é um indicador da atividade e adaptação microbiana de um sistema anaeróbio e que os valores próximos a neutralidade são os requeridos no equilíbrio do processo anaeróbio.

Para as fases operadas em 15 e 55°C, observa-se uma queda dos valores efluentes de pH ao longo dos primeiros ciclos e baixos valores de alcalinidade quando comparado as fases mesófilas. Apesar dos valores de pH sofrerem esta queda, os valores se mantiveram estáveis ao longo da operação das fases, certificando a adaptação dos inóculos ao ambiente. Entretanto, as baixas taxas de consumo de acidez e de produção de alcalinidade observadas, nestas fases, podem ser justificadas por um baixo metabolismo microbiano no reator, uma vez que, segundo Hao (1996) a temperatura ótima de operação para a maioria das culturas puras de BRS está no intervalo entre 28 e 32°C.

Tsukamoto, Killion e Miller (2004) ao operar um reator psicrófilo no tratamento de DAM com pH de 4,2 observaram o pH efluente dentro da faixa entre 5,0 e 7,3, semelhante ao observado nas fases A15 e N15.

Quando as atividades dos diferentes grupos metabólicos de um reator anaeróbio estão em equilíbrio e não há o acúmulo de intermediários, e este reator é submetido a uma mudança de temperatura, os processos de digestão anaeróbia podem entrar em desequilíbrio devido às diferentes respostas dos microrganismos à perturbação (CHA; NOIKE, 1997). Desta forma, Borja e Banks (1995) justificam uma queda imediata de pH após um choque frio de temperatura no reator devido ao aumento da concentração de ácidos graxos voláteis efluente.

Embora este trabalho trata de condições de partidas em temperaturas constantes, os inóculos utilizados são provenientes de tratamentos mesofílicos, não sendo adaptados às temperaturas de 15 e 55°C. À vista disso, resultados de reações em desequilíbrio, como queda no pH, podem ser observados no período de adaptação à condição ambiental imposta.

5.2 AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE SULFATO E DQO

A Figura 5.2 apresenta o comportamento dos dados de entrada e saída de concentração de sulfato ao longo do período de operação das fases A30, N30, A15, N15, A55 e N55 do ASBR.

Para as fases de operação a 30°C, nota-se a crescente taxa de remoção de sulfato na fase N30, o que indica a adaptação dos microrganismos do lodo ao longo da fase à DAM tratada. Ao final da fase N30, o reator atingiu taxa de remoção próxima a 75%. Esta mesma taxa de 75% foi alcançada logo no início de operação da fase A30, tendo esta fase atingido 93% de remoção ao final. Desta forma, infere-se que a alta eficiência de remoção em um curto período de tempo foi devida a utilização do lodo adaptado ao efluente.

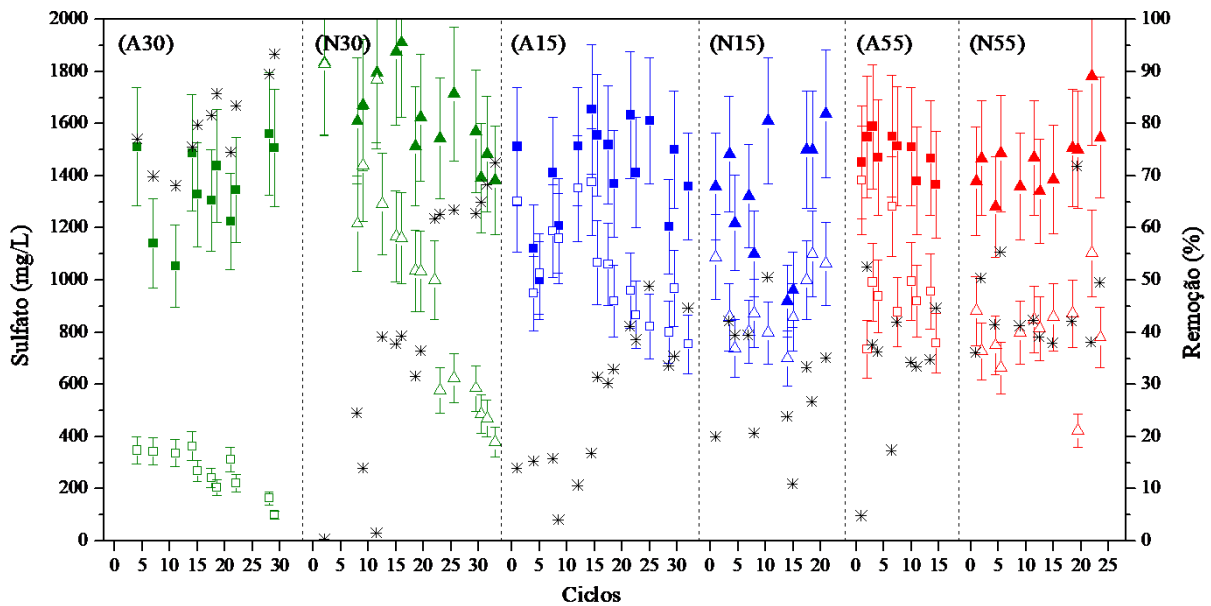


Figura 5.2 - Concentração de sulfato do afluente e efluente e porcentagem de remoção do reator em função dos ciclos de operação das fases.

Onde: (*) Remoção

(■) Inóculo adaptado (▲) Inóculo não adaptado

(■ / ▲) Afluente (□ / △) Efluente

(■ / ▲ / □ / △) 30°C (■ / ▲ / □ / △) 15°C (■ / ▲ / □ / △) 55°C

*Erro da metodologia de análise: 15%

Fonte: Da autora.

Quanto às demais fases, verifica-se, a influência da temperatura na redução de sulfato, uma vez que se observa valores efluentes de sulfato mais altos, quando comparados aos valores das fases mesofílicas. Nota-se uma queda na remoção final de sulfato da fase A30 para a fase A15, de 93% para 45%. Esta queda também é observada da fase A30 para a fase A55. Com relação ao lodo não adaptado, a queda se faz de aproximadamente 41 pontos entre a fase N30 e fase N15 (de 76 para 35%) e de 26 pontos, de 76 para 50%, entre a fase N30 e fase N55.

Entretanto, quando se observa apenas as fases psicofílica e termofílica, atenta-se para a adaptação mais rápida dos microrganismos nas fases de temperatura mais elevada, já que os melhores resultados de sulfato efluente foram obtidos logo nos primeiros ciclos, enquanto que, os resultados melhoraram gradativamente nas fases operadas a 15°C.

No período de adaptação de 64 dias, Castro Neto *et al.* (2018), observaram eficiência de remoção de sulfato próxima a 43%, para uma carga inicial de 1000 mg/L, utilizando um ASBR, lodo não adaptado, temperatura de 30°C e ciclos de 24 horas. Neste trabalho, identificou-se tal eficiência no 22º ciclo de operação da fase N30, ou seja, 44 dias de operação. As diferentes respostas se devem exclusivamente ao tempo de ciclo adotado e carga inicial aplicada, aferindo que a adaptação ocorre mais rapidamente ao utilizar 48 horas de operação por ciclo e carga inicial de 1500 mg/L de sulfato.

Tsukamoto, Killion e Miller (2004) observaram, a 15°C, 44% de remoção de sulfato (concentração inicial de 900 mg/L) no tratamento de DAM, utilizando etanol (138 mg/L) como matéria orgânica, após o período de aclimação do reator. Este resultado se demonstrou semelhante aos obtidos ao final das fases psicofílicas deste trabalho, independente do inóculo adotado.

Domingues *et al.* (2006) alcançaram a eficiência de remoção de sulfato de aproximadamente 52,2%, para uma concentração inicial de 1125 mg/L de sulfato do meio basal tratado, em reator biológico anaeróbio batelada mantido a 55°C com ciclos de 55 horas, enquanto que neste trabalho observou-se, para esta mesma temperatura, eficiência média de remoção de sulfato de 34 e 45% para os inóculo adaptado e não adaptado, respectivamente, em condição de partida. Embora a percentagem de remoção neste trabalho seja menor, quando comparado a carga de sulfato removida por unidade de tempo, verifica-se que a fase A55 apresenta resultados semelhantes a Domingues *et al.* (2006), pois estes últimos apresentaram carga removida de 10,7 mg de $\text{SO}_4^{2-}/\text{h}$ enquanto que na fase A55 obteve-se um consumo aproximado de 10,6 mg de $\text{SO}_4^{2-}/\text{h}$. A fase N55, a carga removida foi ainda mais elevada: 14,1 mg de $\text{SO}_4^{2-}/\text{h}$.

A Figura 5.3 apresenta o comportamento da concentração de DQO ao longo do período analisado.

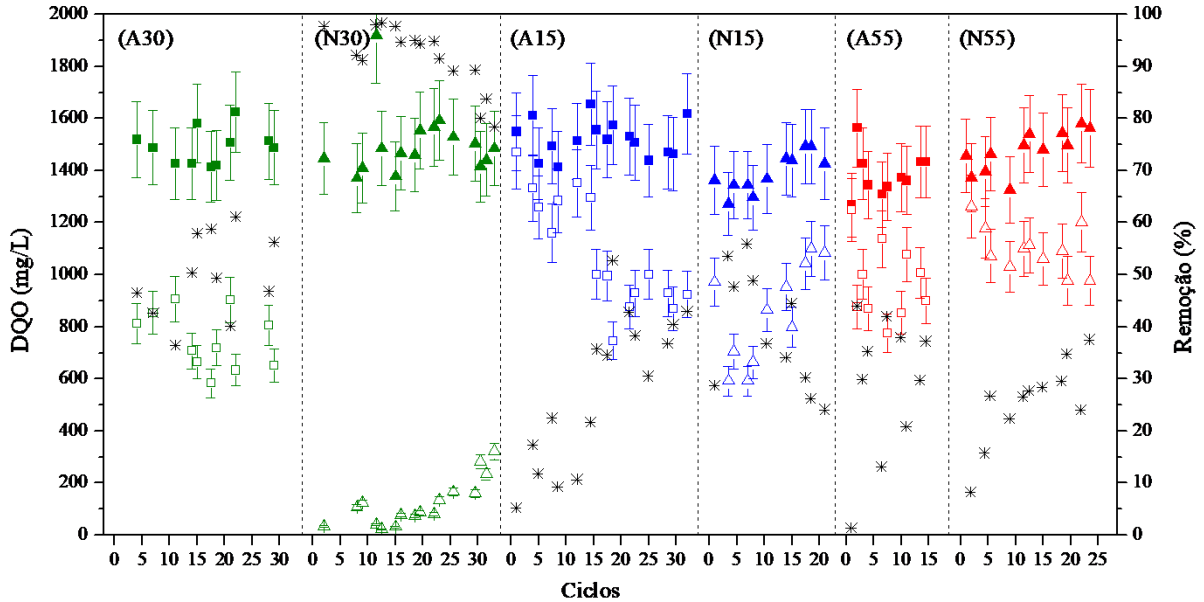


Figura 5.3 - Concentração de DQO do afluente e efluente e porcentagem de remoção do reator em função dos ciclos de operação das fases A30, N30, A15, N15, A55 e N55.

Onde: (*) Remoção

(■) Inóculo adaptado (▲) Inóculo não adaptado

(■ / ▲) Afluente (□ / △) Efluente

(■ / ▲ / □ / △) 30°C (■ / ▲ / □ / △) 15°C (■ / ▲ / □ / △) 55°C

*Erro da metodologia de análise: 9,6%

Fonte: Da autora.

Devido sua origem metanogênica mesofílica, o lodo utilizado na fase N30 consumiu mais matéria orgânica em forma de DQO no início da operação em relação as outras fases. Entretanto, este consumo de DQO nesta fase foi reduzindo conforme houve adaptação do lodo à condição imposta de um efluente rico em sulfato.

Quanto à fase A30, embora tenha tido resultados mais eficientes em relação ao consumo de sulfato, observou-se uma menor taxa de remoção de DQO em comparação à fase N30. Assim, infere-se que testes com a diminuição da relação DQO/SO_4^{2-} para esta fase poderiam ser realizados, uma vez que houve uma parcela de DQO no sistema que não foi consumida e, a redução desse substrato pode significar redução nos custos envolvidos no processo. Esta baixa relação DQO/SO_4^{2-} requerida caracteriza a predominância da sulfetogênese no sistema (LENS

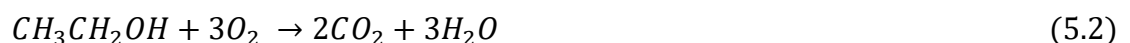
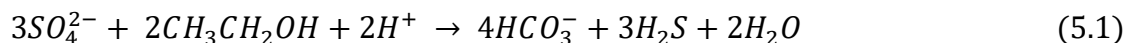
et al. 1998), o que certifica que o inóculo utilizado já estava em condições apropriadas para a atividade proposta em A30.

Costa, Rodriguez e Sancinetti (2017) observaram consumo de 68,4% de DQO (concentração inicial de 1500 mg/L) em 65 dias de operação em ciclos de 48 horas, trabalhando também com a relação DQO/SO₄²⁻ próximo a 1. Neste mesmo período notou-se uma redução de 68% de sulfato e consumo de 83% de DQO para a condição proposta pela fase N30.

Já o consumo reduzido de sulfato e de DQO pela demais fases indica que os microrganismos presentes no sistema ainda não estavam adaptados ao ambiente de 15 e 55°C submetidos, mesmo após 30 ciclos. Pois foram obtidas remoções finais de sulfato de 45, 35, 45 e 38% para as fases A15, N15, A55 e N55, respectivamente. E para as remoções finais de DQO, os valores 39, 24, 37 e 24% foram alcançados. Tais resultados, sugerem um período maior de adaptação à condição ambiental imposta para a obtenção de resultados mais promissores quanto aos obtidos na fase mesofílica.

Omil *et al.* (1997) observaram pequena queda (de 99% para 96%) no consumo de DQO ao realizar choques de temperatura de 15°C e 12°C, por 3 dias, em um reator UASB mesofílico no tratamento de água rica em sulfato. Quando à redução de sulfato, o autor também quantificou uma pequena queda de 3 pontos percentuais (de 43% para 40%).

A partir das equações de redução do sulfato, utilizando etanol como doador de elétrons, e de conversão de etanol em DQO, representadas, respectivamente, pelas equações 5.1 e 5.2, pode-se aferir que para cada mol de sulfato reduzido (ou 1 grama) utiliza-se 0,67 mol de etanol (ou 0,67 gramas de DQO).



Sabendo desta relação, a partir dos dados de remoção de sulfato ocorridas nas seis fases trabalhadas, calculou-se a contribuição da sulfetogênese na remoção total de DQO do sistema. Estes resultados estão apresentados na Figura 5.4.

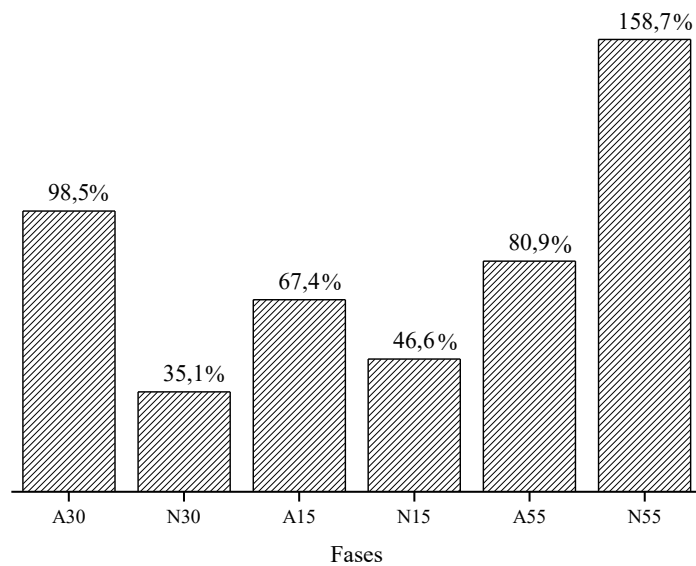


Figura 5.4 - Contribuição da sulfetogênese na remoção de DQO.

Fonte: Da autora.

A princípio, desconsidera-se o resultado obtido pela fase N55, uma vez que não se fez possível identificar a parcela da DQO adicionada que foi direcionada à sulfetogênese. Tal valor obtido indica que houve a contribuição de outra fonte de carbono, além do etanol, para a geração de sulfeto da fase. Esta contribuição adicional pode ser explicada pela parcela de DQO absorvida e/ou adsorvida no lodo utilizado, que ao decorrer dos ciclos se tornou disponível para o uso. Cassidy *et al.* (2017) verificaram esta capacidade microbiana de armazenamento de substratos após cessarem a alimentação de sulfato e DQO de reatores biológicos. Após 15 dias de operação, ainda era observado a continuidade da sulfetogênese nestes reatores devido ao acúmulo de DQO e sulfato adsorvido e/ou absorvido do sistema nesta etapa.

Ainda, considerando as fases A30, N30, A15, N15 e A55 observa-se que as fases sulfetogênicas (A30, A15 e A55) obtiveram as maiores contribuições de DQO para sulfetogênese. No caso da operação em 30°C, 98,5% de todos os elétrons doados pelas moléculas de etanol foram utilizados na geração de sulfeto, caracterizando a sulfetogênese como rota predominante dos elétrons.

Para a operação psicrófila (A15) e na termófila (A55), com a utilização do lodo adaptado, a contribuição de elétrons para a geração do sulfeto foi diminuída, com relação à operação mesófila (A30), em 31,1 e 17,6 pontos percentuais, respectivamente. Diferente do que ocorreu com as fases de utilização de lodo não adaptado: a fase mesófila (N30) apresentou menor contribuição de elétrons (35,1%) com relação a fase psicrófila N15 (46,6%). Isto se deve ao fato de que a remoção de sulfato fora da faixa mesófila se beneficia pela aplicação de

inóculos não adaptados com menor especificidade e maior diversidade, pois permitem seleção no grupo de microrganismos por condição de operação.

Embora, as fases N30 e N15 identifiquem o maior fluxo de elétrons para outros processos além da sulfetogênese, destaca-se a capacidade seletiva do lodo não adaptado à temperatura de 15°C, pois neste caso o direcionamento de elétrons para a formação de sulfeto se sobressaiu em relação ao obtido em 30°C.

5.3 AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE SULFETO E REMOÇÃO DE FERRO

A Figura 5.5 representa a produção de sulfeto do ASBR ao longo das fases de operação.

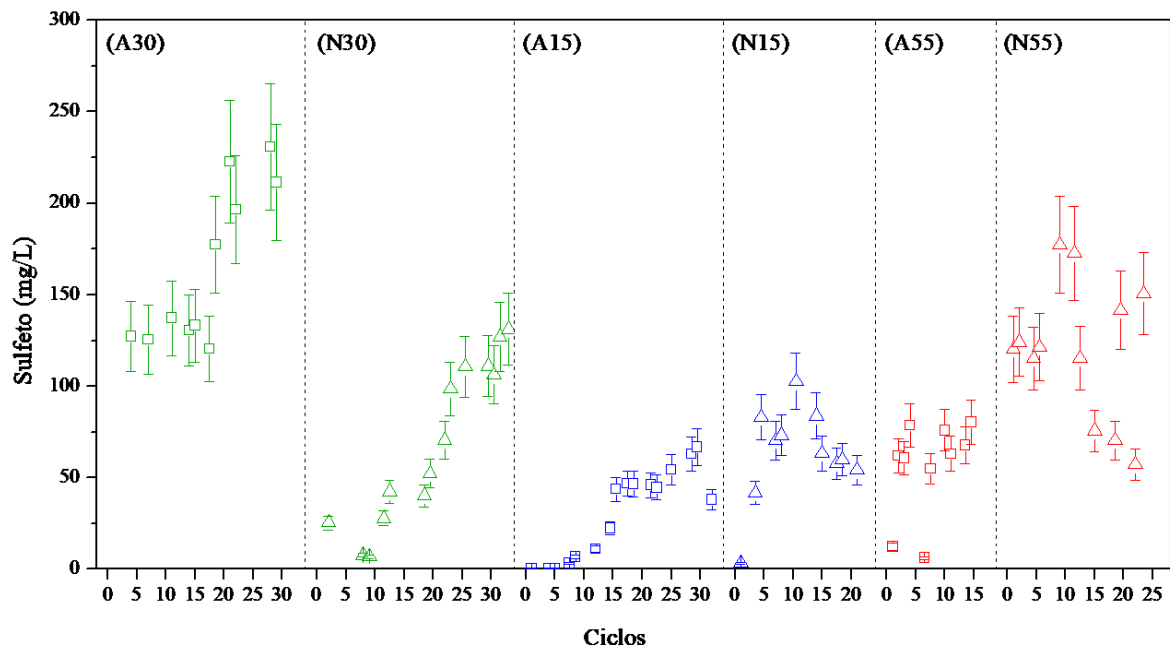


Figura 5.5 - Concentração de sulfeto do efluente do reator em função dos ciclos de operação das fases analisadas.

Onde: (□) Inóculo adaptado (Δ) Inóculo não adaptado

(□ / Δ) 30°C (□ / Δ) 15°C (□ / Δ) 55°C

*Erro da metodologia de análise: 15%

Fonte: Da autora.

A partir da análise dos dados, constata-se a elevação da concentração de sulfeto efluente final das fases A30 e N30 do ASBR com relação aos valores iniciais. Tal fato fica coerente com

o aumento da remoção de sulfato do sistema, ao longo da adaptação do lodo ao efluente tratado ou ainda da condição ambiental submetida e do favorecimento termodinâmico das reações.

Na fase A30 observa-se produção inicial de sulfeto equivalente aos valores obtidos ao final de 30 ciclos na fase N30, o que sugere que o lodo da fase N30 se adaptou à DAM ao longo da operação. Ainda a fase A30 demonstrou a maior produção de sulfeto que as demais, atingindo o valor máximo de 230 mg/L ao final de seu 29º ciclo.

A adaptação do inóculo ao ambiente submetido ao longo da fase também pode ser observada na fase A15, onde a produção inicial da fase era próxima de zero, e com o decorrer dos ciclos foi aumentada, atingindo o valor máximo de 67 mg/L. Nota-se este acréscimo também na eficiência de remoção de sulfato neste período (14 – 45%).

Para a fase N15, apesar de um aumento inicial da concentração de sulfeto no meio líquido, as concentrações decaíram a partir do 14º ciclo se mantendo constante na faixa de 57 mg/L a partir do 18º ciclo.

Quando observada as operações a 55°C, a fase A55 obteve baixa variação entre os dados apresentando média de (62 ± 20) mg/L de sulfeto dissolvido. Já a fase N55 observa-se, nos primeiros ciclos, um aumento na concentração seguido por uma queda, mantendo a média 120 mg/L. Este aumento seguido de queda também é observado na fase N15 em menor intensidade.

As fases mesófilicas apresentaram maior produção de sulfeto em relação a demais, enquanto que quando comparadas as fases psicrófilicas a escolha do inóculo não interferiu na concentração final de sulfeto da fase. Para as duas últimas fases, verifica-se a maior produção de sulfeto na fase a qual utilizou-se o lodo não adaptado. Porém, esta maior produção não está correlacionada ao maior consumo de sulfato nesta fase.

O pH do meio tem grande influência nas espécies de sulfeto produzidas durante a redução do sulfato. A partir da Figura 5.6 pode-se observar tal influência.

Diante dos valores médios de pH efluentes encontrados nas fases estudadas e da Figura 5.6, observa-se que as fases A30 e N30 apresentaram menores concentrações de H₂S com relação às demais fases, uma vez que estas fases apresentaram valores de pH próximo a 7 e as fases A15, N15, A55 e N55 apresentaram pH efluente médios inferiores a 6.

Sabendo que a molécula de sulfeto de hidrogênio (H₂S) pode permear a membrana celular e desnaturar proteínas dos microrganismos, a predominância de H₂S nas fases psicrófilicas e termofílicas podem justificar o baixo desempenho destas com relação as fases mesofílicas, já que o H₂S pode ser tóxico para os microrganismos. (STEFANIE *et al.*, 1994).

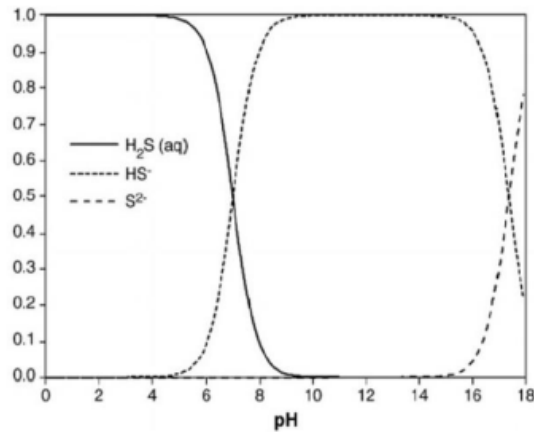


Figura 5.6 - Distribuições das formas de sulfeto em função do pH do meio.

Fonte: Lewis, 2010.

A Figura 5.7 indica a concentração de ferro, na forma Fe^{2+} , afluente e efluente do reator ASBR ao longo das fases de operação A30, N30, A15, N15, A55 e N55.

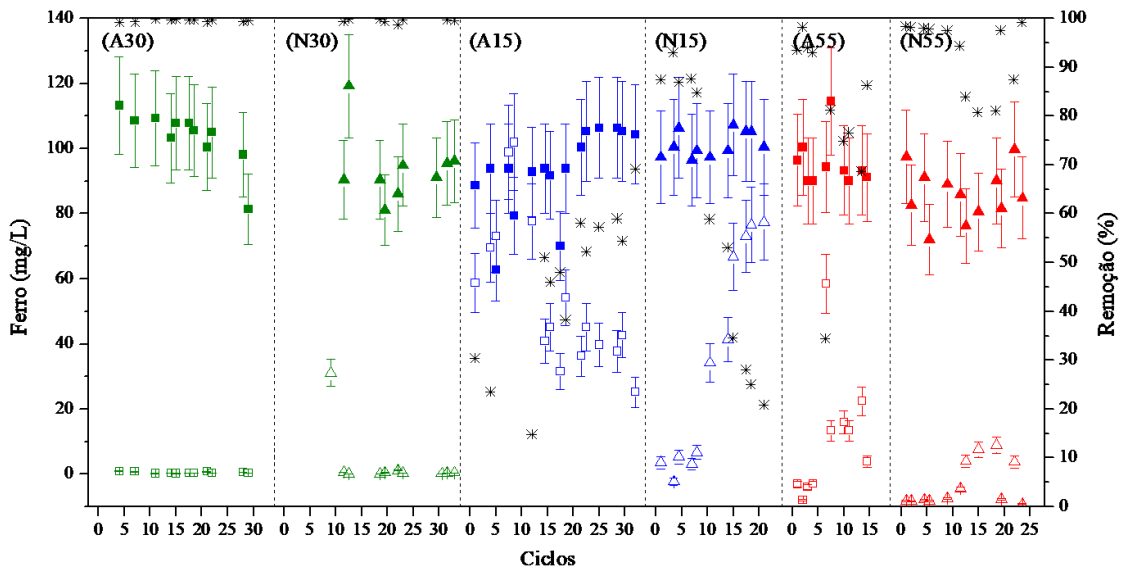


Figura 5.7 - Concentração de ferro (Fe^{2+}) do afluente e efluente e porcentagem de remoção do reator em função dos ciclos de operação das fases A30, N30, A15, N15, A55 e N55.

Onde: (*) Remoção

(■) Inóculo adaptado (▲) Inóculo não adaptado

(■ / ▲) Afluente (□ / △) Efluente

(■ / ▲ / □ / △) 30°C (■ / ▲ / □ / △) 15°C (■ / ▲ / □ / △) 55°C

*Erro da metodologia de análise: 13,3%

Fonte: Da autora.

Verificou-se que a eficiência de remoção do metal em questão acompanhou a taxa de produção de sulfeto, ou seja, à medida que a produção do sulfeto foi aumentada, a formação de sulfeto de ferro, forma como qual o ferro é extraído da DAM, foi proporcionada. Nota-se tal comportamento na fase A15: quando houve o acréscimo na concentração de sulfeto no 15º ciclo de operação, a concentração de Fe^{2+} foi diminuída, atingindo a eficiência final de remoção de 69%.

Ao analisar os resultados obtidos durante as fases A30 e N30 estima-se que o reator ASBR teria capacidade de remover uma maior quantidade de ferro do que à empregada, uma vez que a eficiência de remoção se manteve maior que 95% nos ciclos analisados.

As fases N15, A55 e N55 se iniciaram com altas taxas de remoção do metal, entretanto, estes valores não foram mantidos ao longo dos ciclos sugerindo que a seleção dos microrganismos ao ambiente se deu de forma gradativa, ou seja, ao longo dos ciclos os microrganismos capazes de remover o ferro foram sendo inativos ou dizimados devido a não compatibilidade com a temperatura ambiente.

Durante o período de adaptação de um reator sulfetogênico mesofílico, Costa, Rodriguez e Sancinetti (2017) obtiveram produção média de 40 mg/L de sulfeto, entretanto ao adicionar a concentração de 100 mg de Fe/L, a produção média de sulfeto se fez em torno de 72,5 mg/L. Ambas as concentrações foram superadas pelas fases mesofílicas desde trabalho: já no primeiro ciclo da fase A30, a concentração obtida foi de 127 mg/L de sulfeto dissolvido, e no 23º ciclo de operação da fase N30, onde a concentração se deu por volta de 98 mg/L.

Castro Neto *et al.* (2018) ao adicionarem aproximadamente 100 mg/L de ferro ao afluente do ASBR obtiveram remoção de 97,4 a 99,9% do mesmo, sendo valores compatíveis aos encontrados nas fases mesofílicas deste trabalho.

Tsukamoto, Killion e Miller (2004) observaram remoção de 91% de ferro em reator biológico anaeróbio psicrófilico, utilizando-se também uma concentração inicial de 100 mg/L. Auvinen *et al.* (2009) obtiveram 99% de remoção de ferro, para uma concentração inicial de 30 mg/L, no tratamento de DAM em um biorreator sulfetogênico a 9°C. Tais eficiências não foram obtidas ao fim do período de partida das fases operadas a 15°C analisadas deste trabalho: para as fase A15 e N15 obteve-se, ao fim do período de operação, 69 e 21% de remoção de ferro, respectivamente. As baixas taxas de remoção do metal nas fases executadas neste trabalho, podem ser justificadas pela utilização de lodos não adaptados à temperatura aplicada, faltando nestes, comunidades específicas para redução do ferro à baixas temperaturas.

5.4 PERFIS TEMPORAIS E AJUSTE CINÉTICO

Ao final de cada fase realizou-se a avaliação, ao longo do ciclo de operação, das variáveis pH, sulfato, DQO, sulfeto e ferro. Os resultados obtidos para as avaliações de pH, sulfeto e ferro encontram-se na Figura 5.8.

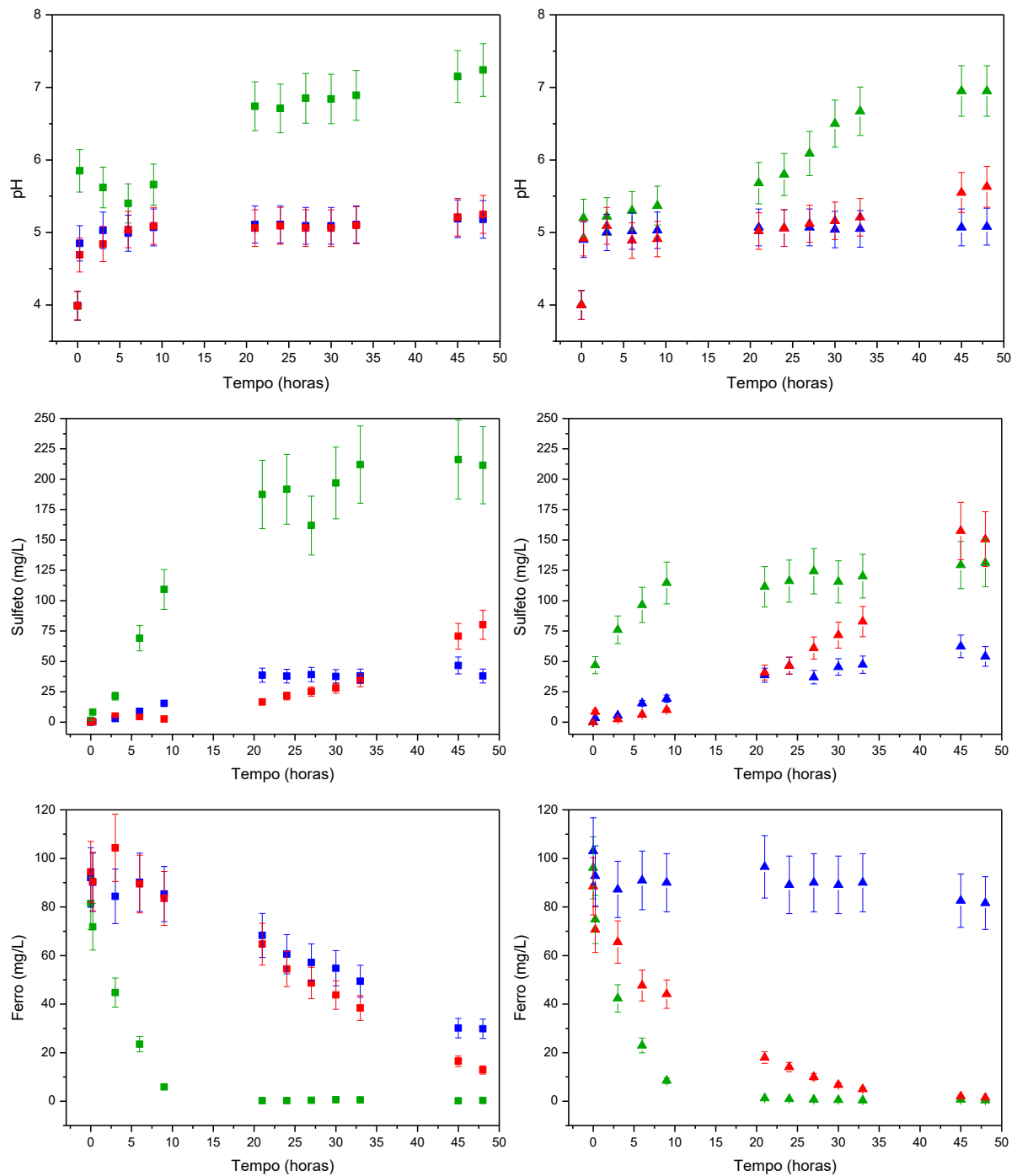


Figura 5.8 - Gráficos dos perfis temporais de pH, concentração de sulfeto e de ferro das fases.

Onde: (■) Inóculo adaptado (▲) Inóculo não adaptado

(■ / ▲) 30°C (■ / ▲) 15°C (■ / ▲) 55°C

*Erro da metodologia de análise: 5% para os valores de pH, 15% para a concentração de sulfeto e 13,3% para a concentração de ferro.

Fonte: Da autora.

Observa-se a partir dos gráficos obtidos que o comportamento de pH, ao longo dos ciclos analisados, se fez semelhantes nas condições termofílica e psicofílica para ambos inóculos. Nestas fases, os valores finais obtidos se fizeram próximo de 5 com estabilidade nas primeiras horas do ciclo. A neutralidade (valores próximos a 7) da solução tratada somente foi encontrada nas condições mesofílicas com acréscimo considerável no valor (5,7 – 6,7) entre as 9 e 21 horas de operação para o inóculo adaptado (A30) e entre as 21 e 33 horas de operação para o inóculo não adaptado ao aflente (N30).

Quanto à produção de sulfeto dissolvido, a maior concentração efluente (211 mg/L) foi observada na condição mesofílica do lodo adaptado (A30). Nesta fase, observou-se uma baixa variação dos valores de concentração a partir da 20^a hora de operação. Com relação ao inóculo não adaptado, a maior concentração final se deu para a operação termofílica (N55), com concentração final de 142 mg/L, entretanto, os valores de produção desta fase apenas superaram os valores de produção da fase mesófila (N30) nas últimas 3 horas de ciclo conforme os pontos analisados. A estabilidade dos valores vistos na fase N30 (valores próximos a 120 mg/L) foi atingida por volta da 10^a hora de operação. Com relação à geração de sulfeto dissolvido pelas fases psicofílicas (A15 e N15), os resultados apresentados sugerem o comportamento semelhante para ambos os inóculos, porém, para a fase não adaptada (N15) os valores de concentração encontrados ao longo do ciclo são ligeiramente maiores que a fase adaptada (A15).

Para a análise de remoção de ferro, tanto o comportamento quanto os valores efluentes foram similares nas fases mesofílicas (A30 e N30). Nestas fases, nota-se valores próximo a 90% de eficiência de remoção a partir da 9^a hora de operação. Quanto aos resultados obtidos para o inóculo adaptado ao aflente, os comportamentos de decaimento da concentração de ferro das fases termofílica (A55) e psicofílica (A15) ao longo do ciclo foram semelhantes, porém, as eficiências de remoção final entre as fases foram distintas por 18 pontos percentuais (86 e 68%). Já para análise dos resultados de remoção por meio do inóculo não adaptado, a curva obtida pelos dados termofílicos (N55) se assemelhou à curva mesofílica pelo maior

decaimento da concentração logo nas primeiras horas de operação e pela remoção final acima de 95%, enquanto que, a fase psicofílica (N15) se obteve remoção máxima de 21%.

Para as análises de remoção de sulfato e consumo de DQO realizou-se o ajuste cinético conforme Figura 5.9. O modelo utilizado seguiu, conforme descrito no item 4.7, a cinética de consumo de primeira ordem. Sendo assim, fez-se possível a obtenção dos parâmetros cinéticos aparentes (K^{ap}) bem como as concentrações de sulfato e DQO residuais (S_R). A Tabela 5.2 apresenta os resultados do ajuste cinético para a redução de sulfato.

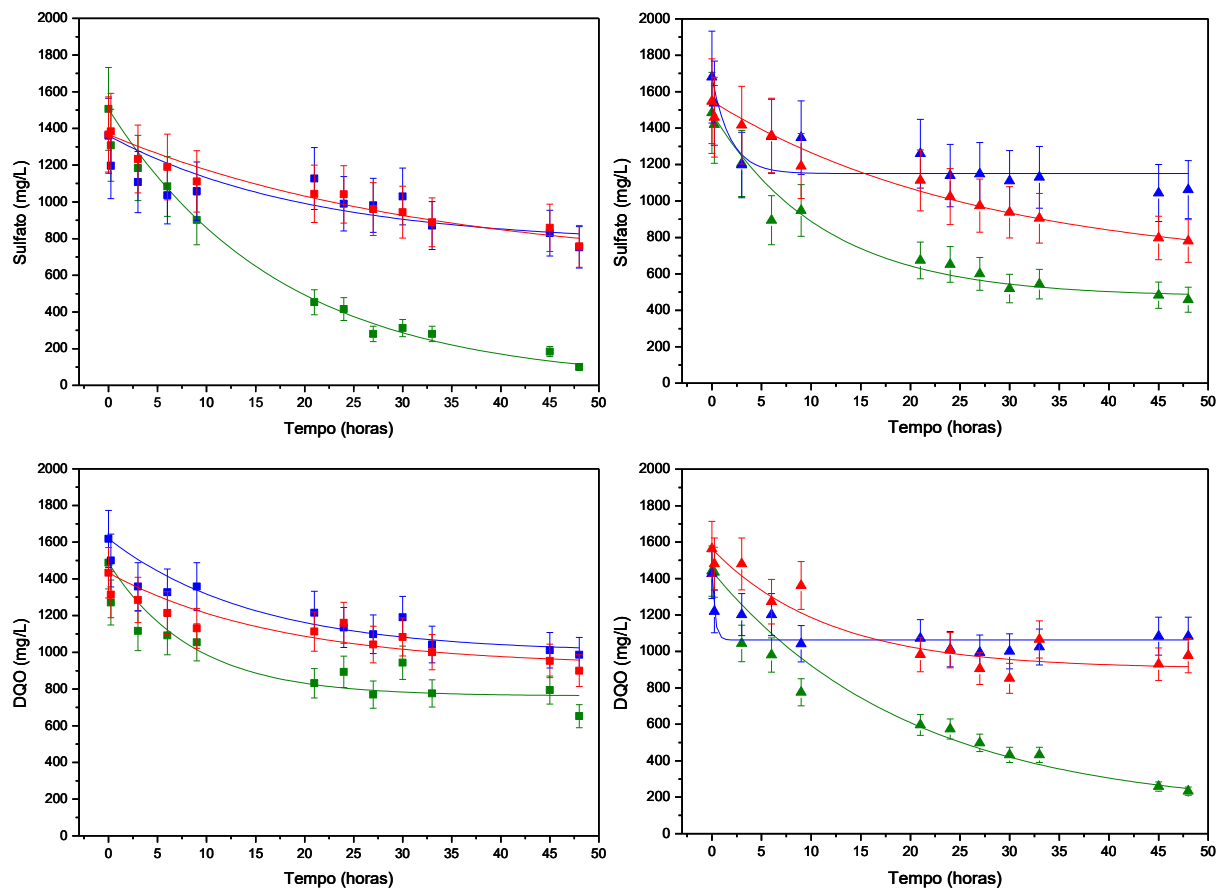


Figura 5.9 - Gráficos dos perfis temporais de concentração de sulfato e DQO ao final das fases.

Onde: (■) Inóculo adaptado (▲) Inóculo não adaptado

(■ / ▲) 30°C (■ / ▲) 15°C (■ / ▲) 55°C

*Erro da metodologia de análise: 15% para sulfato e 9,6% para DQO.

Fonte: Da autora.

Tabela 5.2 - Parâmetros obtidos nos perfis temporais para remoção de sulfato.

Fase	Representação	S ₀ (mg/L)	S _R ± σ (mg/L)	K ^{ap} ± σ (h ⁻¹)	R ² _{aj}
A30	■	1506	20 ± 33	0,057 ± 0,005	0,960
N30	▲	1484	474 ± 29	0,089 ± 0,012	0,950
A15	■	1361	769 ± 137	0,049 ± 0,028	0,539
N15	▲	1680	1151 ± 34	0,541 ± 0,311	0,634
A55	■	1367	629 ± 125	0,030 ± 0,009	0,941
N55	▲	1548	630 ± 75	0,037 ± 0,006	0,974

Fonte: Da autora.

Embora as fases utilizando os lodos adaptado e não adaptado fossem operadas a uma mesma temperatura (30, 15 ou 55°C), constatou-se diferentes valores de K^{ap} e S_R.

Quanto aos resultados apresentados para sulfato, nota-se que as fases com inóculo de origem sulfetogênica (A30, A15 e A55) apresentaram as menores concentrações residuais em relação às operações com inóculo metanogênico (N30, N15 e N55), quando comparadas pela mesma temperatura de operação. As fases sulfetogênicas apresentaram menores constantes cinéticas aparentes, quando comparadas, na mesma temperatura de operação, com as fases metanogênicas, inferindo que a escolha do inóculo interfere na velocidade de consumo do substrato e na concentração residual da mesma.

Ainda sobre o perfil cinético do sulfato, nota-se que para o inóculo adaptado as constantes cinéticas sofreram alterações de acordo com a temperatura aplicada. Ambas fases A15 e A55 apresentaram constantes cinéticas (0,049 e 0,030 h⁻¹) inferiores ao valor encontrado na fase A30 (0,057 h⁻¹). Já para o inóculo não adaptado, a fase N15 obteve maior constante (0,541 h⁻¹), entretanto, e também a maior concentração residual. Porém, esta mesma fase (N15) apresentou o menor coeficiente de determinação ajustado (R²_{aj}) em relação aos ajustes realizados para o lodo não adaptado. Sabendo que quanto mais próximo o R²_{aj} for de 1 melhor será correlação entre os dados e o modelo estabelecido, estabelece-se o ajuste encontrado nesta fase se faz insatisfatório (R²_{aj} <0,8) e os resultados encontrados podem não representar a realidade.

A Tabela 5.3 apresenta os dados do ajuste cinético do consumo de DQO realizado para cada fase.

Tabela 5.3 - Parâmetros obtidos nos perfis temporais para consumo de DQO.

Fase	Representação	S ₀ (mg/L)	S _R ± σ (mg/L)	K ^{ap} ± σ (h ⁻¹)	R ² _{aj}
A30	■	1488	762 ± 43	0,117 ± 0,036	0,769
N30	▲	1441	130 ± 60	0,050 ± 0,007	0,947
A15	■	1618	999 ± 59	0,067 ± 0,020	0,851
N15	▲	1427	1063 ± 21	3,363 ± 2,003	0,610
A55	■	1433	924 ± 71	0,057 ± 0,021	0,788
N55	▲	1563	905 ± 53	0,085 ± 0,026	0,870

Fonte: Da autora.

Exceto para a fase N15 que teve um ajuste considerado insatisfatório ($R^2_{aj} = 0,610$) também para o parâmetro DQO, as fases de utilização do lodo metanogênico obtiveram as menores concentrações residuais de DQO, quando comparadas as fases sulfetogênicas equivalentes. Porém tais diferenças se fazem insignificativas se considerados as fases psicrófilas e termofílicas e os desvios padrões envolvidos. Nota-se então, que as concentrações residuais de DQO para as fases A15, N15, A55 e N55 são próximas, sugerindo que o consumo de DQO, em temperatura psicrófila ou termofílica, não se faz diferencial apenas pela origem do inóculo.

De modo geral, as constantes cinéticas de consumo de DQO nas fases com utilização de inóculo não adaptado, foram aumentadas com a alteração da temperatura entre a operação mesofílica ($K^{ap} = 0,117$) e as operações psicrófila ($K^{ap} = 0,067$) e termófila ($K^{ap} = 0,057$). Já para os resultados da condição de inóculo adaptado, vê-se um aumento das constantes quando comprada a fase mesofílica ($K^{ap} = 0,050$) com as demais ($K^{ap} = 3,363$ e $K^{ap} = 0,085$). Ademais, nota-se que apenas na condição mesofílica, a constante se deu maior para a condição de inóculo adaptado com relação à condição de inóculo não adaptado na mesma temperatura.

Quanto as concentrações de sulfato e DQO residuais obtidos pelo ajuste e experimentalmente, tem-se a Tabela 5.4.

Tabela 5.4 - Valores obtidos de concentração residual de sulfato e de DQO pelo ajuste realizado e experimentalmente.

Fase	Representação	SO ₄ ²⁻		DQO	
		S _R ± σ (mg/L)		S _R ± σ (mg/L)	
		Ajuste	Experimental	Ajuste	Experimental
A30	■	20 ± 33	100 ± 15	762 ± 43	652 ± 63
N30	▲	474 ± 29	459 ± 69	130 ± 60	233 ± 22
A15	■	769 ± 137	753 ± 113	999 ± 59	986 ± 95
N15	▲	1151 ± 34	1062 ± 159	1063 ± 21	1084 ± 104
A55	■	629 ± 125	757 ± 114	924 ± 71	900 ± 86
N55	▲	630 ± 75	781 ± 117	905 ± 53	977 ± 94

Fonte: Da autora.

Ao comparar os valores de concentrações residuais obtidos pelo ajuste cinético realizado e os valores residuais obtidos experimentalmente, verifica-se que os resultados obtidos experimentalmente assemelham-se aos valores encontrados pelo ajuste, se considerados os desvios padrões envolvidos. Entretanto, a fase A30 não segue tal observação, uma vez que o valor de concentração residual encontrado pelo ajuste cinético da redução do sulfato se deu cinco vezes menor (20 mg/L) com relação ao encontrado experimentalmente (100 mg/L). Neste caso, o tempo de ciclo poderia ser aumentado para que se possa obter o menor valor de concentração de sulfato efluente possível. De mesmo modo, o tempo de ciclo das fases A55 e N55 poderiam ser alterados para obter maior eficiência de remoção de sulfato, e da fase N30, para se obter menor concentração de DQO residual efluente.

5.5 QUANTIFICAÇÃO DAS BRS POR NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP)

Conforme descrito no item 4.6 deste trabalho, ao início e fim de cada fase, realizou-se a quantificação das BRS utilizando a técnica de NMP a partir de uma amostra de 10 mL de lodo.

A Figura 5.10 apresenta os frascos ao término de cada análise para as condições iniciais e finais das fases A30, N30, A15, N15, A55 e N55.

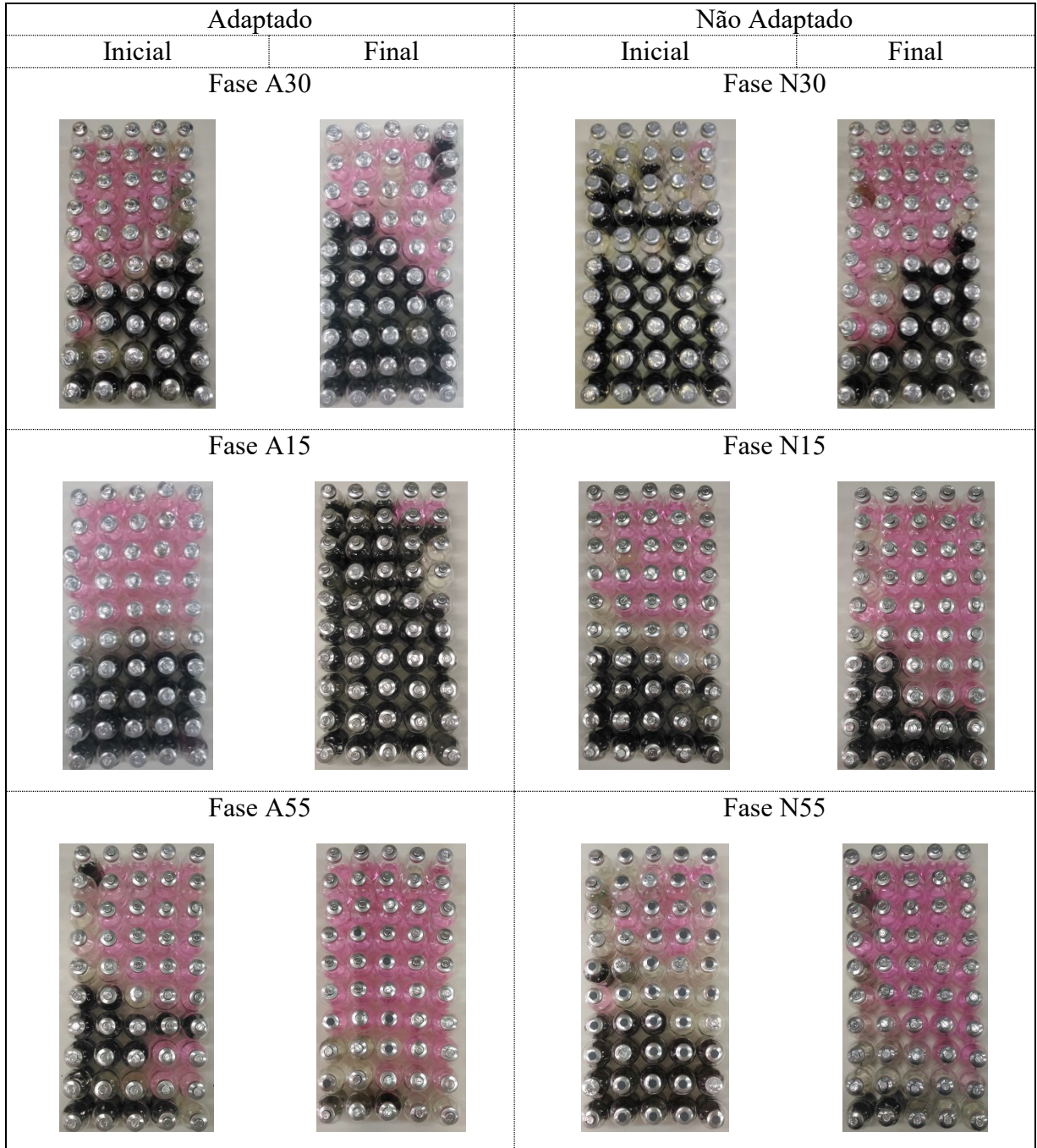


Figura 5.10 - Fotos dos frascos de antibióticos utilizados no experimento de NMP para BRS nas condições iniciais e finais das fases realizadas.

Fonte: Da autora.

A Tabela 5.5 expressa as combinações identificadas e os resultados numéricos obtidos. E, para melhor visualização dos resultados, tem-se a Figura 5.11.

Tabela 5.5 – Resultados obtidos nas análises de NMP realizadas.

Fase	Condição	Intervalo de diluições dos frascos incubados	Combinação	Menor diluição positiva da combinação	Valor NMP	NMP/mL
A30	Inicial	$10^{-4} - 10^{-13}$	5 – 2 – 1	10^{-7}	70	$7,0 \cdot 10^7$
	Final	$10^{-4} - 10^{-13}$	4 – 3 – 2	10^{-8}	39	$3,9 \cdot 10^8$
N30	Inicial	$10^{-3} - 10^{-12}$	5 – 2 – 2	10^{-9}	94	$9,4 \cdot 10^9$
	Final	$10^{-5} - 10^{-14}$	3 – 3 – 1	10^{-8}	21	$2,1 \cdot 10^8$
A15	Inicial	$10^{-4} - 10^{-13}$	5 – 1 – 0	10^{-7}	33	$3,3 \cdot 10^7$
	Final	$10^{-4} - 10^{-13}$	5 – 3 – 0	10^{-12}	79	$\geq 7,9 \cdot 10^{12}$
N15	Inicial	$10^{-4} - 10^{-13}$	5 – 5 – 3	10^{-5}	920	$9,2 \cdot 10^6$
	Final	$10^{-6} - 10^{-15}$	5 – 2 – 2	10^{-7}	94	$9,4 \cdot 10^7$
A55	Inicial	$10^{-4} - 10^{-13}$	5 – 2 – 0	10^{-7}	49	$4,9 \cdot 10^7$
	Final	$10^{-4} - 10^{-13}$	3 – 0 – 0	10^{-4}	7,8	$7,8 \cdot 10^3$
N55	Inicial	$10^{-4} - 10^{-13}$	5 – 5 – 3	10^{-5}	920	$9,2 \cdot 10^6$
	Final	$10^{-4} - 10^{-13}$	2 – 0 – 0	10^{-4}	4,5	$4,5 \cdot 10^3$

Fonte: Da autora.

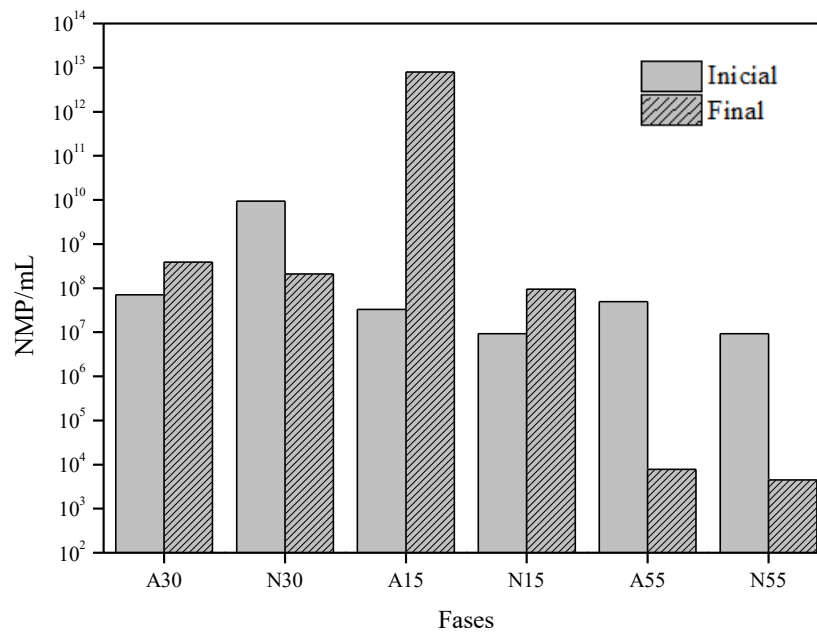


Figura 5.11 - Resultado das análises de NMP iniciais e finais.

Fonte: Da autora.

Para as fases A30, A15 e N15 constatou-se um crescimento da população de BRS devido ao aumento da concentração de BRS por mL de lodo. Nas fases A30 e N15 a ordem de microrganismos foi aumentada em 10 vezes e em A15 verifica-se o crescimento igual, ou maior, em 10^5 vezes. Este aumento, em geral, é justificado pelo favorecimento do crescimento de comunidades presentes no inóculo pelas condições ambientais impostas, como a concentração de sulfato, DQO ou temperatura.

Quanto as fases N30, A55 e N55 notou-se uma queda, na ordem de 10 vezes na fase N30, 10^4 vezes na A55 e 10^3 para N55, na quantidade de microrganismos da população analisada. Entretanto, esta redução não se fez prejudicial à remoção de sulfato do reator, uma vez que em N30 com o passar dos ciclos teve sua eficiência aumentada e em A55 e N55 não se observaram alterações nas médias de remoção deste poluente.

Esta redução de células viáveis nas fases N30 e A55 pode ser explicada pelo arraste das novas células, durante as trocas de meio ocorridas ao longo da fase, ou ainda pela seleção das espécies viáveis ao ambiente submetido.

Quanto ao resultado apresentado para o início da fase N55, afere-se que o este tem ordem compatível ao resultado inicial da fase N15. As análises iniciais das fases A30, A15 e A55 também obtiveram os resultados em ordens compatíveis, podendo-se inferir que a biomassa reservada não sofreu grandes alterações na população de BRS durante o período de reserva e não utilização da mesma.

6 CONCLUSÕES

Após avaliar seis diferentes regimes de partida, com relação a temperatura e a origem do inóculo, de um reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais no tratamento de DAM sintética, foram obtidas as seguintes conclusões:

- Os resultados mais satisfatórios com relação a remoção de sulfato foram encontrados na fase mesofílica com utilização de lodo previamente adaptado ao efluente tratado. Tais resultados apontam para a operação de reatores biológicos, nestas condições, como tratamento mais eficaz de DAM.
- A remoção do metal ferro do meio tratado se faz afetada pela da temperatura de operação: para ambos tipos de inóculos à 30°C atingiu-se as taxas de remoção médias maior que 99%, enquanto que nas fases psicrófilicas e termofílicas as remoções médias não superaram a marca de 60 e 92%, respectivamente.
- Embora a fase termofílica com utilização de lodo não adaptado, obtivesse a menor taxa de consumo médio de DQO entre as fases estudadas, esta obteve os melhores resultados para os parâmetros analisados quando comparadas apenas as faixas de temperatura psicrófilia e termofílica. Tais resultados indicam que o lodo de origem metanogênica apresenta alta adaptabilidade ao ambiente proposto com eficiências consideráveis a 55°C.
- Quanto às constantes cinéticas obtidas, os resultados apontaram diferentes valores para os diferentes inóculos e diferentes temperaturas, sugerindo influência na velocidade e capacidade de redução de sulfato e degradação de DQO em reatores biológicos submetidos em diferentes condições operacionais.
- Pela análise de NMP, nota-se que ao longo das fases propostas, houve tanto o favorecimento do crescimento de novas células do grupo BRS nas fases A30, A15 e N15, como a seleção das espécies do grupo e decaimento da quantidade populacional nas fases N30, A55 e N55.

Como sugestão a trabalhos futuros tem se o estudo da alteração da relação DQO/SO_4^{2-} para as fases as quais obtiveram substratos residuais mais elevados, o estudo dos substratos absorvidos/adsorvidos nos inóculos aplicados em diferentes temperaturas e análises microbiológicas mais aprofundadas como o sequenciamento do gene 16S dos lodos iniciais e finais.

REFERÊNCIAS

- AKCIL, A.; KOLDAS, S. Acid mine drainage (AMD): causes, treatment and case studies. **Journal of Cleaner Production**, v. 14, p. 1139–1145, 2006.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 22. ed. Washington, D.C., 2012.
- AUVINEN, H.; NEVATALO, L.M.; KAKSONEN, A.H.; PUHAKKA, J.A. Low-temperature (9°C) AMD treatment in a sulfidogenic bioreactor dominated by a mesophilic *Desulfomicrobium* species. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 104, n. 4, p. 740–751, 2009.
- BARTON, L.L.; HAMILTON, W.A. **Sulphate-reducing bacteria, environmental and engineered systems**. Cambridge: University Press, 2007.
- BERTOLINO, S. M.; MELGAÇO, L. A.; SÁ, R. G.; LEÃO, V. A. Comparing lactate and glycerol as a single-electron donor for sulfate reduction on fluidized bed reactors. **Springer Science+Business**, p. 65. 2014.
- BORJA, R.; BANKS, C. J. Response of an anaerobic fluidized bed reactor treating ice-cream wastewater to organic, hydraulic, temperature and pH shocks. **Journal of Biotechnology**, v. 39, n. 3, p. 251–259, 1995.
- BRATKOVA, S.; KOUMANOVA, B.; BESCHKOV, V. Biological treatment of mining wastewaters by fixed-bed bioreactors at high organic loading. **Bioresource Technology**, v. 137, p. 409-413, 2013.
- CAMARGO, E. F. M.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; ZAIAT, M.; BORZANI, W. Treatment of low-strength wastewater using immobilized biomass in a sequencing batch external loop reactor: influence of the medium superficial velocity on the stability and performance. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 19, p. 267-275, 2002.
- CASSIDY, J.; FRUNZO, L.; LUBBERDING, H. J.; VILLA-GOMEZ, D. K.; ESPOSITO, G.; KEESMAN, K. J.; LENS, P. N. L. Role of microbial accumulation in biological sulphate reduction using lactate as electron donor in an inverted fluidized bed bioreactor: operation and dynamic mathematical modelling. **Internacional Biodeterioration & Biodegradation**. v. 121, p. 1-10, 2017.
- CASTRO, H.F.; WILLIAMS, N. H.; OGRAM, A. Phylogeny of sulfate-reducing bacteria. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 31, p. 3-23, 2000.
- CASTRO NETO, E. S. **Redução do sulfato e remoção de metais provenientes de drenagem ácida de mina**. 2015. 67 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2015.

CASTRO NETO, E. S.; AGUIAR, A. B. S.; RODRIGUEZ, R. P.; SANCINETTI, G. P. Acid mine drainage treatment and metal removal based on a biological sulfate-reducing process. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 35, p. 543-552, 2018.

CHA, G. C.; NOIKE, T. Effect of rapid temperature change and HRT on anaerobic acidogenesis. **Water Science and Technology**, v. 36, n. 6-7, p. 247-253, 1997.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. Belo Horizonte-MG: DESA, 5 ed., 2007.

CORTINA, J. L.; LAGRECA, I.; PABLO, J.; CAMA, J.; AYORA, C. Passive in situ remediation of metalpolluted water with caustic magnesia: evidence from column experiments. **Environmental Science & Technology**, v. 37 p. 1971-7, 2003.

COSTA, J. M. **Remoção de sulfato e metais presentes na drenagem ácida de mina utilizando reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais**. 2017. 58 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2017.

COSTA, J. M.; RODRIGUEZ, R. P.; SANCINETTI, G. P. Removal sulfate and metals Fe^{+2} , Cu^{+2} , and Zn^{+2} from acid mine drainage in an anaerobic sequential batch reactor. **Journal of Environmental**, v. 5, n. 2, p. 1985-1989, 2017.

COSTA, M. C.; SANTOS, E. S.; BARROS, R. J.; PIRES, C.; MARTINS, M. Wine wastes as carbon source for biological treatment of acid mine drainage. **Chemosphere**, v. 75, n. 6, p. 831-836, 2009.

CUNHA, M. P.; FERRAZ, R. M.; SANCINETTI, G. P.; RODRIGUEZ, R. P. Long-Term performance of a UASB reactor treating acid mine drainage: effects os sulfate loading rate, hydraulic retention time, and COD/SO_4^{2-} ratio. **Springer Nature**, 2018.

DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Anaerobic degradation of synthetic wastewaters at different levels of sulfate and COD/sulfate ratios in horizontal-flow. **Environmental Engineering Science**, p. 383-393, 2007.

DILLALO, R.; ALBERTSON, O.E. Volatile acids by direct titration. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 33, n.4, p. 350-364, 1961.

DINU L.; STEFANESCU M.; BALAIU I.; COSMA C.; CRISTE I.; BADESCU V. Acid mine water treatment using the high density sludge technology. **Journal of Environmental Protection and Ecology**, v. 15, n. 4, p. 1700-1717, 2014.

DOLL, M. M. R.; FORESTI, E. Effect of the sodium bicarbonate in the treatment of vinasse in AnSBBR operated at 55 and 35 degrees C. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 15, n. 3, p. 275-282, 2010.

DOMINGUES, M. R.; MORAES, E. M.; VAZOLLER, R. F.; VARESCHE, M. B. Analysis of microbial community in biofilms and planktonic cells of anaerobic thermophilic reactors. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, p. 1-9, 2006.

ELLIOTT, P.; RAGUSA, S.; CATCHESIDE, D. Growth of sulfate-reducing bacteria under acidic conditions in an upflow anaerobic bioreactor as a treatment system for acid mine drainage. **Water Research**, v. 32, n. 12, p. 3724–3730, 1998.

FARIAS, C. E. G. **Mineração e meio ambiente no Brasil**. Relatório preparado para o CGEE, 2002.

HAO, O. J.; CHEN, J. M.; HUANG, L.; BUGLASS, R. L. Sulfate-reducing bacteria. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 155–187, 1996.

HAO, O.J. Metal effects on sulfur cycle bacteria and metal removal by sulfate reducing bacteria. **Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution: Principles and Engineering**, p. 393-414, 2000.

KAKSONEN, A. H.; PUHAKKA, J. A. Sulfate reduction based bioprocesses for the treatment of acid mine drainage and the recovery of metals. **Engineering in Life Sciences**, v.7, n. 6, p. 541-564, 2007

KNOBLAUCH, C.; JERGENSEN, B. B. Community size and metabolic rates of psychrophilic sulfate-reducing bacteria in Arctic marine sediments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 9, p. 4230-4233, 1999a.

KNOBLAUCH, C.; JERGENSEN, B. B. Effect of temperature on sulphate reduction, growth rate and growth yield in five psychrophilic sulphate-reducing bacteria from Arctic sediments. **Environmental Microbiology**, v. 1, n. 5, p. 457-467, 1999b.

LAPA, K. R. **Avaliação de desempenho do reator anaeróbio em batelada seqüencial (ASBR), contendo biomassa imobilizada em pedra pome, para tratamento de esgoto sanitário**. 2003. 106 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2003.

LENS, P. N. L.; VISSER, A.; JANSSEN, A. J. H.; HULSHOFF POL, L. W.; LETTINGA, G. Treatment of Sulfate-Rich Wastewaters Biotechnological Treatment of Sulfate-Rich Wastewaters. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 41–88, 1998.

LEWIS, A. E. Review of metal sulphide precipitation. **Hydrometallurgy**, v. 104, p. 222-234, 2010.

LOWE, S. E.; MAHENDRA, K. J.; ZEIKUS, J. G. Biology, ecology and biotechnological applications of anaerobic bacteria adapted to environmental stresses in temperature, pH, salinity, or substrates. **Microbiology Review**, v. 57, p. 451 - 496, 1993.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. **Brock biology of microorganisms**. 10.ed. Prentice Hall, 2002.

MOCKAITIS, G.; FRIEDL, G. F.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Influence of feed time and sulfate load on the organic and sulfate removal in an ASBR. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 17, p. 6642–6650, 2010.

MUYZER, G.; STAMS, A. J. M. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. **Nature Reviews - Microbiology**, v. 6, n. 6, p. 441–454, 2008.

OMIL, F.; BAKKER, C. D.; HULSHOFF POL, L. W.; LETTINGA, G. Effect of pH and low temperature shocks on the competition between sulphate reducing bacteria and methane producing bacteria in uasb reactors. **Environmental Technology**, v. 18, p. 255–264, 1997.

POSTGATE, J. R. **The Sulfate-Reducing Bacteria**. 2. ed. Cambridge: University Press, 1984.

RIBEIRO, M. I. V. O. **Estudo do efeito do TDH, relação DQO/SO₄²⁻ e concentração inicial de ferro no tratamento de drenagem ácida de minas em reator UASB utilizando soro de leite como fonte de carbono**. 2017. 51 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2017.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 58, n. 5, p. 406–411, 1986.

ROBINSON-LORA, M. A.; BRENNAN, R. A. Efficient metal removal and neutralization of acid mine drainage by crab-shell chitin under batch and continuous-flow conditions. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 21, p. 5063–5071, 2009.

RODRIGUEZ, R. P.; OLIVEIRA, G. H. D.; RAIMUNDI, I. M.; ZAIAT, M. Assessment of a UASB reactor for the removal of sulfate from acid mine water. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 74, p. 48–53, 2012.

SARTI, A.; ZAIAT, M. Anaerobic treatment of sulfate-rich wastewater in an anaerobic sequential batch reactor (AnSBR) using butanol as the carbon source. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 6, p. 1537–1541, 2011.

STEFANIE, J.W.H.; ELFERINK, O.; VISSER, A.; POL, L. W. H.; STARES, A. J. M. Sulfate reduction in methanogenic bioreactors. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 15, p. 119–136, 1994.

TSUKAMOTO, T. K.; KILLION, H. A.; MILLER, G.C. Column experiments for microbiological treatment of acid mine drainage: low-temperature, low-pH and matrix investigations. **Water Research**, v. 38, p. 1405 - 1418, 2004.

VIEIRA, B. F.; COUTO P.T.; SANCINETTI G.P.; KLEIN B.; VAN ZYL D.; RODRIGUEZ R.P. The effect acidic pH and presence of metals as parameters in establishing a sulfidogenic process in anaerobis reactor. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 0, n. 0, p. 1–5, 2016.